

Ekstraksi Serat Pangan (Dietary Fiber) secara Hidrolisis Enzimatik Bertahap pada Tepung Sorgum (*Sorghum bicolor* L Moench) Menggunakan *Rhizopus C₁* untuk Pangan Fungsional

Agustine Susilowati, Yetti M. Iskandar, Aspiyantodan Yaty Maryati

Pusat Penelitian Kimia LIPI, Kawasan Puspiptek, Serpong

Naskah diterima : 13 Oktober 2011

Revisi Pertama : 01 Desember 2011

Revisi Terakhir : 09 Januari 2012

ABSTRAK

Rhizopus C₁ adalah kultur dari *Rhizopus oligosporus* yang diisolasi dari usar tempe Malang dan biasa digunakan sebagai inokulum tempe. Potensinya sebagai sumber enzim protease dapat dimanfaatkan dalam menghidrolisis protein sorgum (*Sorghum bicolor* L Moench) untuk memperoleh serat pangan (Dietary Fiber) yang berperan sebagai anti kolesterol dan anti konstipasi. Perlu diketahui bahwa serat pangan tidak termasuk protein, sehingga hidrolisis protein diharapkan dapat membentuk asam-asam amino dengan berat molekul rendah dan tidak berpengaruh terhadap Total Serat (TDF/Total Dietary Fiber). Hidrolisis dilakukan pada suhu 60°C, pH 5,5 dengan variasi waktu hidrolisis yaitu 30 menit (W 30') dan 60 menit (W 60') dan variasi konsentrasi *Rhizopus C₁* dalam substrat sorgum mulai dari nol (kontrol) sampai 0,8 persen (b/b protein) pada *liquisat* yaitu hasil hidrolisis sorgum dengan α -Amylase. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa hidrolisis dengan konsentrasi *Rhizopus C₁* dan waktu proses hidrolisis yang berbeda berpengaruh terhadap aktifitas proteolitik dan amyolitik *Rhizopus C₁*, total padatan, N-Amino, TDF, protein terlarut dan gula pereduksi hidrolisat. Kondisi optimum hidrolisis berdasarkan TDF tertinggi diperoleh pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,6 persen (b/b) selama 30 menit (W 30') dengan peningkatan TDF sebesar 63,021 persen dibandingkan kontrol tanpa penambahan *Rhizopus C₁* (0 persen).

kata kunci : *Rhizopus C₁*, Dietary Fiber (DF), sorgum, aktifitas proteolitik.

ABSTRACT

Rhizopus C₁ is a culture of the *Rhizopus oligosporus* isolated from Malang tempe usar and used in fermentation of tempe. Its potential as the source of protease enzyme can be used to hydrolyze sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) protein in order to get Dietary Fiber (DF) as the functional food for anti cholesterol and anti constipation. DF does not include protein, so that hydrolysis of protein can be expected to degrade and convert amina groups into amino acids with low molecular weight (MW). Therefore it does not affect the Total Dietary Fiber (TDF). Hydrolysis process was carried out at the concentration of *Rhizopus C₁* in sorghum substrate varied from zero (control) to 0.8 percent (w/w) onto the *liquisate* (sorghum hydrolysate with α -Amylase), with pH of 4.5 and 5.5 and temperature of 60°C for the duration of 30 and 60 minutes. The result demonstrated that the variation of process conditions (*Rhizopus C₁* concentration and time) affected the proteolytic and amyolytic activities of *Rhizopus C₁*, total solids and

reduction of dissolved protein, and the increase of TDF of liquifisate. Based on the highest TDF yield, the optimal condition of protease hydrolysis was reached at Rhizopus C₁ concentration 0.6 percent (w/w) for 30 minutes.

keywords: Rhizopus C₁, dietary fiber (DF), sorghum, proteolytic activity, functional food

I. PENDAHULUAN

Rhizopus C₁ adalah kultur tunggal kapang *Rhizopus oligosporus* yang diisolasi dari usar tempe Malang (Yetty M. Iskandar, Puji R. dan Thelma A. B, 2002) Kultur kapang ini biasa digunakan dalam pembuatan tempe dan berperanan sebagai sumber enzim protease. Telah diketahui bahwa jenis enzim protease yang dihasilkan pada kapang *Rhizopus sp* adalah protease netral, protease asam dan protease alkali yang masing-masing dapat bekerja pada pH asam, pH netral dan pH alkalis (Frazier dan Westhosff, 1978) Selain memiliki kemampuan dalam menghidrolis protein kedelai dalam pembuatan tempe, *Rhizopus C₁* memiliki kemampuan menghidrolisis protein kacang-kacangan (kacang hijau, kacang merah, kacang tunggak) dalam fermentasi garam pada pembuatan kaldu nabati (Susilowati, dkk., 2006) Aktifitas proteolitik *Rhizopus C₁* dalam substrat beras atau sebagai inokulum tempe dan sebagai inokulum kaldu nabati dengan substrat beras ada pada kisaran 1,2-1,78 (U/g) yang mampu meningkatkan konsentrasi asam-asam amino sebagai N-Amino berkisar antara 50-70 persen dari kacang-kacangan dalam fermentasi garam untuk memperoleh fraksi gurih sebagai kaldu nabati dan dapat dimungkinkan sebagai HVP (*Hidrolized Vegetative Protein*) dalam pembuatan *meatlikeflavor* melalui *reaksi flavoring* (Susilowati, Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati, 2006 dan 2009). Pada keseluruhannya, hal ini merupakan keunggulan *Rhizopus C₁* selain sebagai inokulum tempe dan inokulum kaldu nabati.

Peranan *Rhizopus C₁* sebagai sumber enzim protease dalam ekstraksi serat pangan

secara enzimatik pada sorgum memungkinkan untuk diperoleh asam-asam amino atau protein terlarut dengan berat molekul rendah, sehingga tidak berkontribusi sebagai serat pangan. Serat pangan (*Dietary Fiber*) dari sorgum (*Sorghum bicolor* L Moench) merupakan komponen yang tak tercerna atau tak terhidrolis oleh enzim-enzim pencernaan. Sedangkan komponen yang terhidrolisis/tercerna oleh enzim-enzim pencernaan (protease, amylase, lipase) adalah karbohidrat terlarut atau gula, asam-asam amino dan asam-asam lemak. Serat pangan dari sorgum dimungkinkan berupa *selulosa* dan *hemiselulosa* yang terdapat lebih banyak pada bagian luar selaput aleluron dari pada pati sorgum (Awika dan Rooney, 2004). Serat pangan larut air (SDF/*Solouble Dietary Fiber*) berperanan dalam mengikat asam empedu sehingga mampu menurunkan kolesterol, sedangkan serat pangan tak larut air (IDF/*Insolouble Dietary Fiber*) berperanan sebagai anti konstipasi oleh kemampuan mengikat faeces (Muchtadi, 1989). Untuk memperoleh serat pangan sorgum, dilakukan hidrolisis bertahap melalui hidrolisis amyolitik dan proteolitik dengan tujuan menghidrolisis pati dan protein sehingga diperoleh serat pangan setelah hidrolisat diendapkan dengan etanol/aseton dan dipisahkan, sedangkan filtrat adalah suspensi karbohidrat terlarut dan protein terlarut (asam-asam amino dan peptida) sorgum. Hidrolisis amyolitik dilakukan dengan enzim α -Amylase (Thermamyl 60 L) dari *Bacillus licheniformis* pada suhu 90-95°C selama \pm 2 jam sehingga dihasilkan hidrolisat yang terdiri dari komponen amylosa/amylopektin hasil pemotongan gugus 1,4-glukosida oleh enzim α -Amylase dan sedikit gula (Kulp, 1975). Hidrolisat selanjutnya dihidrolisis oleh enzim

protease dari *Rhizopus C₁* untuk menghidrolisis protein sorgum menjadi asam-asam amino sehingga pada proses keseluruhannya akan diperoleh hidrolisat bebas gula dan protein setelah melalui proses pengendapan dengan etanol/aseton untuk memperoleh serat pangan.

Variasi konsentrasi *Rhizopus C₁* memungkinkan perolehan serat pangan optimal. Hidrolisis ini terkait dengan aktifitas proteolitik *Rhizopus C₁*, kondisi lingkungan dan faktor-faktor instrinsik hidrolisis diantaranya adalah suhu, pH dan waktu hidrolisis selain dari kemurnian dan aktifitas enzim protease. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi proses hidrolisis optimal untuk memperoleh serat pangan sorgum dengan bahan liquisat yaitu hidrolisat sorgum hasil hidrolisis amylolitik menggunakan enzim α -Amylase dengan kondisi operasi perbedaan waktu proses dan konsentrasi *Rhizopus C₁* dengan substrat tepung sorgum.

II. METODOLOGI

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah tepung (*whole grain*) tanpa sosoh dari biji sorgum (*Sorgum bicolor* L) B -100 yang diperoleh dari PATIR-BATAN, enzim α -Amylase dari NOVO, *Rhizopus C₁* dalam substrat sorgum dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI dan bahan kimia untuk proses dan analisis. Peralatan proses yang digunakan adalah peralatan penepungan (*grinder*), peralatan hidrolisis skala laboratorium yaitu water bath dilengkapi dengan *shaker*, *autoclave*, sistem *laminar flow*, *homogenizer* dan instrument analisis utama adalah spektrofotometer dan pH-meter.

2.2. Rancangan Penelitian dan Analisis

Penelitian dilakukan dengan bahan baku berupa liquisat hasil hidrolisis amylolitik sorgum menggunakan enzim α -Amylase (Thermamyl 60 L). Hidrolisat dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 (W 30') dan 60 menit (W 60') dengan pH 5,5 dalam shacker berpengaduk. Pembubuhan *Rhizopus C₁* dilakukan pada konsentrasi berturut-turut 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan

0,8 persen (b/b protein liquisat sorgum). Analisis dilakukan terhadap total serat/ TDF (metode Gravimetri), total protein (metode Kjeldahl), protein terlarut (metode Lowry), Gula pereduksi (metode Somogyi-Nelsen), Total Padatan (metode Gravimetri) (Anonymous, 1995), N-Amino (Metode CU) (Pope dan Stevens, 1989) dan Tanin (metode Folin-Denise) (Liu, 2006)

2.3. Tahapan Proses

2.3.1. Pembuatan crude enzim protease dari kapang *Rhizopus C₁*

Kapang *Rhizopus C₁* diperoleh dengan menumbuhkannya pada substrat tepung sorgum (*whole grain*) yang telah disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam sampai terbentuk miselia pada permukaan sorgum. Sorgum bermiselia *Rhizopus C₁* selanjutnya dikeringkan pada suhu 50°C selama 24-48 jam, dihaluskan dengan food procesor dan diayak lolos 60 mesh.

2.3.2. Hidrolisis Amyolitik

Sejumlah tepung sorgum dilakukan pelarutan dalam air dalam erlemeyer volume 10.000 mL dan pengaturan pH (5,5), dipanaskan pada suhu 90-95°C sambil dilakukan pembubuhan enzim α -Amylase (Thermamyl 60 L) sebanyak 0,45 persen (v/b pati kering tepung sorgum). Proses hidrolisis dilakukan dengan homogenisasi dengan kecepatan putar 4000 rpm selama 2 jam diikuti pemanasan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dan inaktivasi enzim 70°C selama 15 menit pada pH 4,0. Hidrolisat yang terbentuk adalah liquisat dan merupakan bahan baku dalam ekstraksi serat pangan melalui hidrolisis proteolitik.

2.3.3. Hidrolisis Proteolitik

Sejumlah *liquisat* sorgum hasil perolehan hidrolisis amylolitik ditempatkan dalam erlemeyer 300 mL, dibubuhi dengan *Rhizopus C₁* dalam substrat tepung sorgum masing-masing pada konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein *liquisat*) dan dilakukan pengaturan pH pada 5,5. Hidrolisis dilakukan

dalam *sachker* berpengaduk pada kecepatan putar 140 rpm, selama 60 menit pada suhu 60°C. Hidrolisis selanjutnya dilakukan ekstraksi melalui pengendapan dengan etanol, untuk memperoleh serat pangan.

2.3.4. Proses ekstraksi serat pangan sebagai TDF (*Total Dietary Fiber*).

Proses ekstraksi serat pangan dilakukan melalui pengendapan hidrolisis dengan etanol 95 persen pada rasio 1 : 4 (v/v). Larutan selanjutnya disaring dengan kertas Whatman 41 dan residu dicuci dengan etanol 95 persen (1 bagian) dan cuci kembali dengan aseton (1 bagian). Pencucian dilakukan 2 kali dan serat selanjutnya dikeringkan pada suhu >105 °C selama 3 jam. Serat dari sorgum yang diperoleh berupa serbuk kering dan merupakan total serat terlarut (*Total Dietary Fiber*/TDF).

III. HASIL PENELITIAN

3.1. Karakteristik Tepung (whole grain), *Liquisat* Sorgum (*Sorgum bicolor* L Moench) dan *Rhizopus C₁* dalam Substrat Sorgum.

Sorgum merupakan serelia yang memiliki multifungsi dan berpotensi sebagai pangan fungsional oleh kandungan seratnya. Diyakini, bahwa serat sorgum (selulosa maupun hemiselulosa) dihasilkan lebih banyak dari kulit luar biji sorgum dari pada pati sorgum (Anonim, 2003). Tepung sorgum utuh (*Whole grain sorgum flour*) yang dihasilkan dari proses penepungan biji sorgum tanpa sosoh, sehingga sebagian kulit luar/dedak sorgum masih terkandung didalamnya. Kandungan proksimat tepung sorgum dari varietas B-100 adalah sebagai berikut : pati 65,24 persen; protein 12,55 persen (berat kering); lemak 2,56 persen; serat kasar 2,2 persen; total padatan 89,65 persen; abu 1,39 persen; gula pereduksi 12,33 mg/ml dan tanin sebagai total polifenol 0,303 persen (Susilowati, dkk., 2010). Komposisi ini berbeda dengan *liquisatnya*.

Perbedaan terutama pada total padatan dan total protein *liquisat*, yang masing-masing hanya 16,25 persen dan 8,48 persen. Hal ini diduga disebabkan oleh proses hidrolisis yang memungkinkan terdegradasinya pati sorgum

sehingga dihasilkan karbohidrat terlarut (*soluble carbohydrate*) berupa gula-gula monosakarida dan karbohidrat tak terlarut (*insoluble carbohydrate*) berupa selulosa dan hemiselulosa yang pada keseluruhannya adalah sebagai total padatan. Penurunan total protein dimungkinkan oleh terjadinya denaturasi selama hidrolisis. *Liquisat* lebih merupakan karbohidrat terlarut oleh karena hidrolisis menggunakan enzim α -Amylase (α -1,4-glucan-4-*lucohydrolase*, EC 3.2.1.1) ini hanya akan memotong ikatan 1,4 glikosida pati sorgum namun tidak dapat memecah ikatan α -1,6-glikosidik sehingga hasil dari pemecahan pati oleh enzim ini berupa dekstrin yang masih banyak mengandung ikatan α -1,6-glikosidik (percabangan pada amilopektin) (Fogarty, 1983). Proses hidrolisis amylolitik ini dilakukan untuk mendegradasi pati sorgum sehingga tidak berkontribusi terhadap ekstraksi serat pangan.

Penggunaan *Rhizopus C₁* tersebut lebih disebabkan kemudahan perolehannya, selain potensi *Rhizopus C₁* sebagai sumber enzim protease. *Rhizopus C₁* merupakan kultur tunggal *Rhizopus oligosporus* yang biasa digunakan dalam hidrolisis protein kedelai pada pembuatan tempe dan diisolasi dari usar tempe Malang. Aktifitas proteolitiknya disebabkan oleh kandungan enzim protease (protease asam, netral/logam, alkali) yang dipengaruhi oleh jenis substrat, pH & suhu inkubasi dan jenis substrat. Dalam hidrolisis ini, *Rhizopus C₁* kering menghasilkan crude enzim protease berbentuk sebagai bubuk halus (lolos saringan 60 mesh) berwarna kecoklatan. Aktifitas proteolitik dan amylolitiknya masing-masing adalah 0,03 (U/g protein kering) dan 0,1155 (U/mL) dengan kadar air 8,46 persen dan total protein 10,74 persen (b.k). Aktifitas proteolitik ini lebih rendah bila dibandingkan dengan *Rhizopus* yang ditumbuhkan pada substrat beras dalam pembuatan inokulum tempe maupun inokulum kaldu (Agustine Sosilowati, dkk., 2006). Gambar 1 memperlihatkan tepung sorgum, *liquisat* dan *Rhizopus C₁* dalam substrat sorgum.

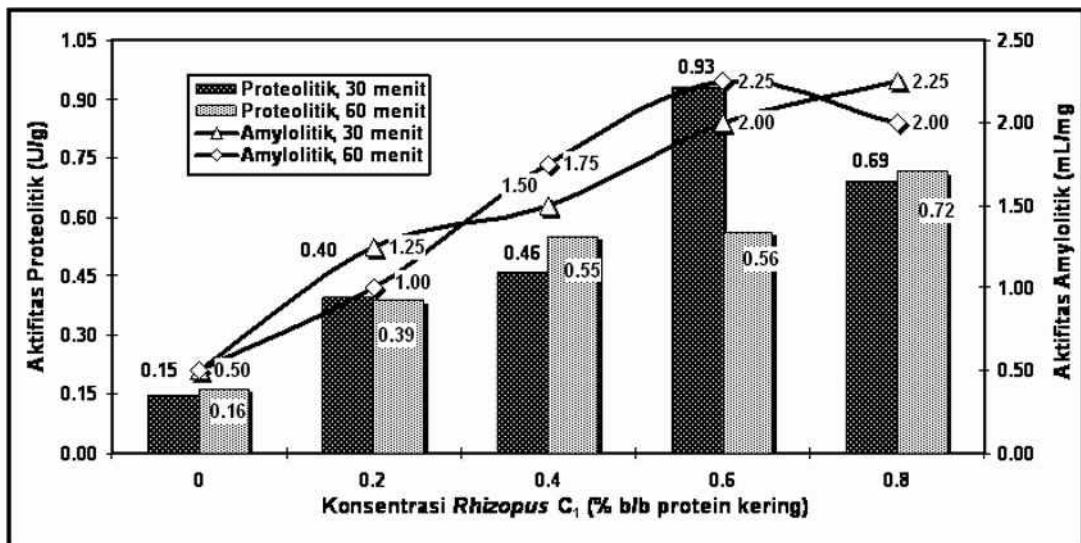


Gambar 1. Tepung/Whole Grain Sorgum (i) , Lixisat Hasil Hidrolisis Amylolitik Tepung Sorgum dan (ii) *Rhizopus C₁* Bersubstrat Sorgum.

3.2. Pengaruh Kondisi Proses Hidrolisis Terhadap Komposisi dan Aktifitas Proteolitik dan Amylolitik *Rhizopus C₁*

Hidrolisis pada lixivat dengan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang semakin meningkat pada suhu 60°C, pH 5,5 selama 30 menit (W 30') dan 60 menit (W 60') menghasilkan aktifitas proteolitik dan amylolitik *Rhizopus C₁* yang semakin tinggi seperti ditunjukkan pada Gambar 2.

Terhadap aktifitas proteolitik , pembubuhan *Rhizopus C₁* pada konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) pada perlakuan W 30' menghasilkan aktifitas proteolitik berturut-turut sebesar 0,15; 0,4; 0,46; 0,93 dan 0,69 U/g sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan aktifitas proteolitik berturut-turut sebesar 0;16, 0,39; 0,55; 0,56 dan 0,71 U/g. Aktifitas proteolitik berperan dalam laju reaksi hidrolisis protein dan berpengaruh



Gambar 2. Hubungan Antara Konsentrasi *Rhizopus C₁* dengan Waktu Hidrolisis terhadap Aktifitas Proteolitik dan Amilolitik Hidrolisat dalam Perolehan Serat Pangan dari Sorgum secara Enzimatis.

terhadap komponen yang tak tercerna/terhidrolisis sebagai serat pangan. Laju hidrolisis berlangsung fluktuatif dimana secara keseluruhan perlakuan W 60' menunjukkan aktifitas proteolitik yang lebih tinggi (0,55 U/g) dari pada perlakuan W 30' (0,46 U/g) sampai konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,4 persen (b/b protein kering), selanjutnya perlakuan W 30' menghasilkan aktifitas proteolitik optimum (0,93 U/g) pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,6 persen (b/b protein kering) dan menurun pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen (b/b protein kering) dengan menghasilkan aktifitas proteolitik sebesar 0,69 U/g. Sementara itu perlakuan W 60' menghasilkan peningkatan aktifitas proteolitik tertinggi (0,71 U/g) sampai konsentrasi *Rhizopus C₁* maksimal (0,8 persen b/b protein kering). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi *Rhizopus C₁* dan waktu hidrolisis cenderung berpengaruh terhadap aktifitas proteolitik. Semakin tinggi konsentrasi *Rhizopus C₁* pada konsentrasi substrat (liquisat) yang sama/tetap dan semakin lama waktu hidrolisis akan menghasilkan aktifitas proteolitik yang semakin tinggi sampai pada batas dimana enzim tidak mampu lagi bereaksi sehingga aktifitasnya menurun yang ditunjukkan pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,6 persen. Penurunan aktifitas diduga disebabkan oleh ketidak seimbangan antara konsentrasi substrat dan *Rhizopus C₁*, dimana dengan konsentrasi substrat yang tetap seluruh substrat sudah terhidrolisis sehingga tidak seluruh enzim digunakan.

Kecenderungan yang berbeda tampak pada aktifitas amyolitik, dimana pada perlakuan W 30' dengan konsentrasi *Rhizopus C₁* 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) menghasilkan aktifitas amyolitik berturut-turut sebesar 0,5; 1,25; 1,5; 2,0 dan 2,25 U/mL, sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan aktifitas amyolitik berturut-turut sebesar 0,5, 1,0, 1,75, 2,25 dan 2 U/mL. Dari laju hidrolisis diketahui bahwa perlakuan W 30' membutuhkan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang lebih tinggi (0,8 persen) untuk menghasilkan

aktifitas amyolitik yang optimal (2,25 U/mL), dibandingkan dengan perlakuan W 60' yang membutuhkan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang lebih rendah (0,6 persen) untuk menghasilkan aktifitas amyolitik yang optimal (2,25 U/mL). Dengan demikian diketahui bahwa semakin lama waktu hidrolisis akan memerlukan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang semakin rendah atau semakin tinggi konsentrasi *Rhizopus C₁* akan memerlukan waktu proses yang semakin pendek untuk memperoleh aktifitas amyolitik optimum. Hal ini akan berkaitan dengan peranan enzim amylase dari *Rhizopus C₁* dalam menghasilkan komponen serat pangan.

3.3. Pengaruh Kondisi Proses Hidrolisis terhadap Komposisi Likwisat Sorgum. Total Padatan dan TDF

Hidrolisis pada likwisat dengan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang semakin meningkat pada suhu 60°C, pH 5,5 selama 30 menit (W 30') dan 60 menit (W 60') menghasilkan total padatan dan total serat/TDF yang semakin tinggi seperti ditunjukkan pada Gambar 3.

Terhadap total padatan, pembubuhan *Rhizopus C₁* pada konsentrasi 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan total padatan berturut-turut sebesar 6,6; 7,93; 8,7; 11,9 dan 13,21 persen sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan total padatan berturut-turut sebesar 6,52; 8,9; 9,6; 11,28 dan 12,85 persen. Secara keseluruhan, perlakuan W 60' menghasilkan total padatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan W 30' pada batas konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,4 persen namun pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,6 dan 0,8 persen perlakuan W 30' menghasilkan total padatan yang lebih tinggi dimana optimisasi dicapai pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen (13,21 persen). Hal ini diduga berkaitan dengan aktifitas amyolitik *Rhizopus C₁* yang optimum pada konsentrasi 0,8 (2,25 U/mL) yang menghidrolisis karbohidrat sebagai komponen dominan dalam likwisat, hal ini akan meningkatkan total padatan likwisat. Total padatan merupakan akumulasi seluruh



Gambar 3. Hubungan antara Konsentrasi *Rhizopus C*₁ dengan Waktu Hidrolisis terhadap Total Padatan dan TDF Hidrolisat dalam Perolehan Serat Pangan dari Sorgum secara Enzimatik .

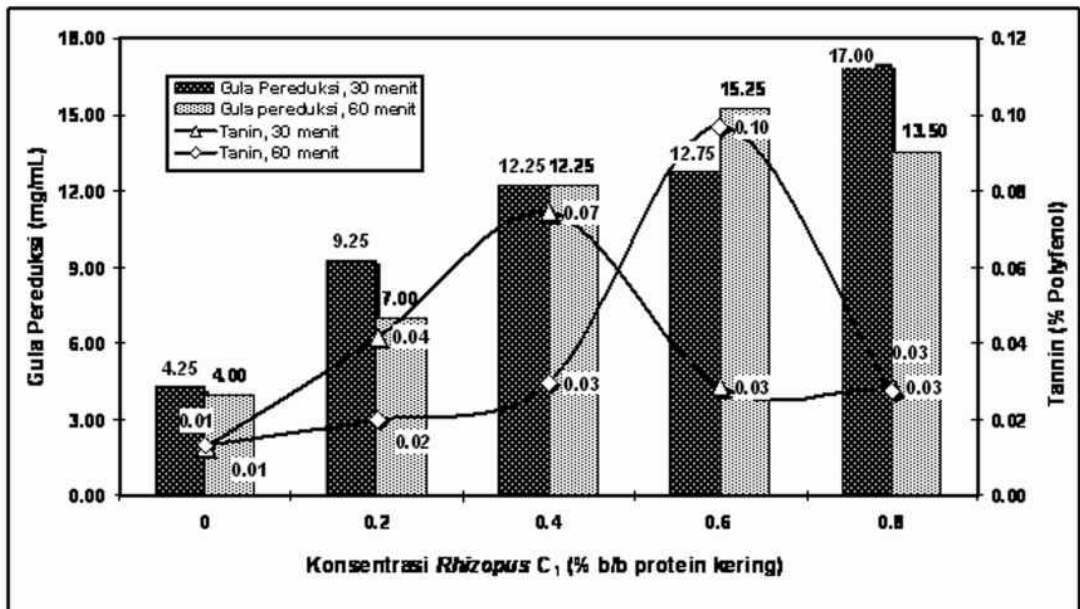
komponen lisis sorgum baik terlarut maupun tak terlarut. Keadaan ini diduga berpengaruh terhadap perolehan total serat pangan (TDF) dimana pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan TDF berturut-turut sebesar 3,06; 4,35; 5,69; 8,28 dan 8,16 persen atau optimal di konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6 persen dengan hasil TDF sebesar 8,28 persen. sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan total padatan berturut-turut sebesar 3,58; 4,93; 5,12; 6,72 dan 7,04 (b.k) dan optimal di konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,8 persen dengan hasil TDF sebesar 7,04 persen. Pada saat dicapai total padatan optimum, dimungkinkan total serat juga pada kondisi optimum karena total serat merupakan jumlah serat terlarut (SDF) dan serat tak larut (IDF). Lisis mengandung sejumlah karbohidrat dan protein terlarut dimana komponen yang tak terhidrolisis adalah sebagai selulosa atau hemiselulosa. Dengan demikian, semakin lama waktu hidrolisis akan memerlukan konsentrasi *Rhizopus C*₁ yang

semakin rendah atau semakin tinggi konsentrasi *Rhizopus C*₁ akan memerlukan waktu proses yang semakin pendek untuk memperoleh TDF optimum.

3.4. Gula Pereduksi dan Tannin

Hidrolisis pada lisis dengan konsentrasi *Rhizopus C*₁ yang semakin meningkat selama 30 menit (W 30') dan 60 menit (W 60') menghasilkan Gula pereduksi yang semakin meningkat, sedangkan tannin fluktuatif, namun cenderung menurun seperti ditunjukkan pada Gambar 4.

Dari segi kandungan gula pereduksi, konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan gula pereduksi berturut-turut sebesar 4,5; 9,25; 12,25; 12,75 dan 17,0 mg/mL atau optimal pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,8 persen dengan hasil gula pereduksi sebesar 17,0 mg/mL, sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan gula pereduksi berturut-turut sebesar 4,0; 7,0; 12,25; 15,25 dan 13,5 mg/mL dan optimal di



Gambar 4. Hubungan antara Konsentrasi *Rhizopus C*₁ dengan Waktu Hidrolisis terhadap Gula Pereduksi dan Tannin Hidrolisat dalam Perolehan Serat Pangan dari Sorgum secara Enzimatik.

konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6 persen dengan hasil sebesar 15,25 mg/mL.

Hal ini diduga berkaitan dengan aktifitas amyolitik dimana aktifitas optimumnya pada perlakuan W 30' dicapai pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,8 persen sebesar 2,25 U/mL, sedangkan perlakuan W 60' dicapai pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6 persen sebesar 2,25 U/mL. Dengan demikian hasil hidrolisisnya berupa gula-gula monosakarida sebagai gula pereduksi juga sesuai dengan kondisi hidrolisis optimum. Gula-gula monosakarida merupakan hasil samping ekstraksi ini dan akan terpisahkan melalui proses pemisahan setelah komponen serat pangan terendapkan dengan etanol.

Adapun untuk kandungan tannin, dengan meningkatnya konsentrasi *Rhizopus C*₁ dapat meningkatkan konsentrasi tannin dengan waktu proses 30' (W 30') sampai pada batas dimana *Rhizopus C*₁ tidak mampu lagi bereaksi dan konsentrasi tannin akan menurun yang ditunjukkan pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6

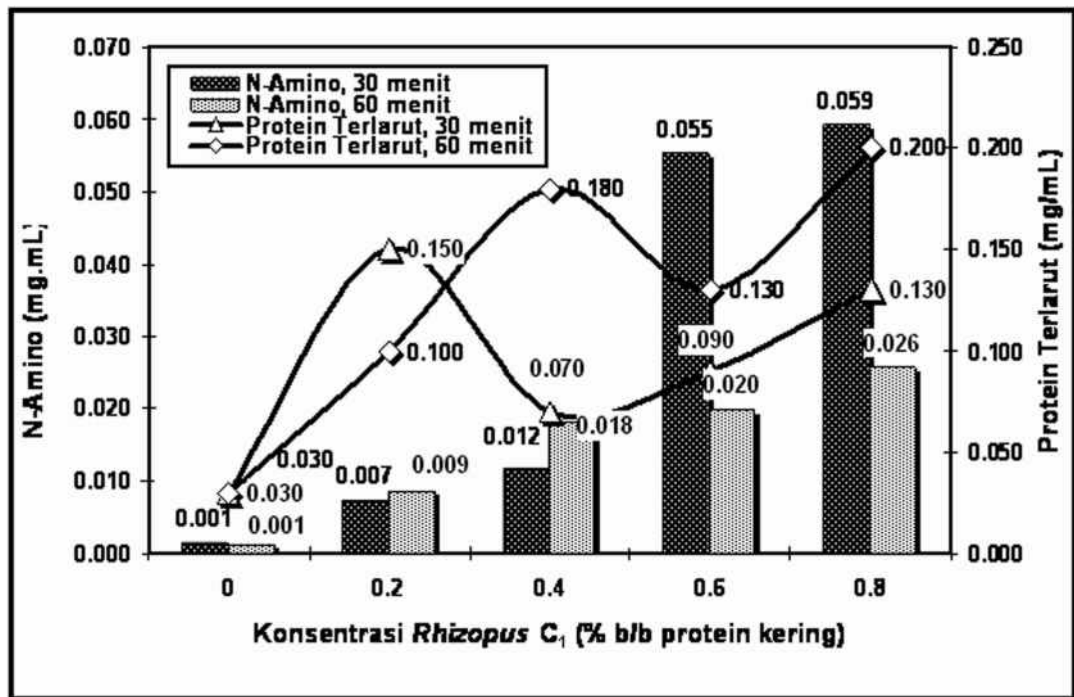
dan 0,8 persen, sementara pada W 60' peningkatan optimal terjadi pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6 persen, diikuti dengan penurunan tannin pada konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan tannin berturut-turut sebesar 0,013; 0,042; 0,074; 0,028; dan 0,0285 persen atau optimal di konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,4 persen dengan kadar tannin 0,074 persen, sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan tannin berturut-turut sebesar 0,0132; 0,02; 0,03; 0,1; dan 0,0274 persen atau optimal di konsentrasi *Rhizopus C*₁ 0,6 persen dengan kadar tannin 0,1 persen. Tannin merupakan komponen yang tak dikehendaki pada sorgum berkaitan dengan kemampuannya sebagai inhibitor yang dapat mengikat protein dan karbohidrat sehingga suatu perlakuan proses diperlukan untuk menghilangkan senyawa ini (Awika dan Rooney, 2004). Dilain pihak, tannin merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai antidiabetes maupun antioksidan untuk pangan

fungsional (Mucthadi,1989). Dari telaah mengenai tannin diketahui bahwa perlakuan hidrolisis akan meningkatkan konsentrasi tannin baik pada perlakuan W 30' maupun W 60' pada seluruh perlakuan konsentrasi *Rhizopus C₁*. Dalam hidrolisis ini, perolehan hidrolisat mengandung tannin <0,3 persen, batas dimana kandungan tannin masih dibawah toleransi untuk bersifat inhibitor bagi penyerapan protein dan karbohidrat (Mucthadi, 1989 dan Suarni & Patong, 2002).

3.5. N-Amino dan Protein terlarut

Untuk kandungan N-Amino, ternyata konsentrasi *Rhizopus C₁* 0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan peningkatan N-Amino yang nyata sejalan dengan meningkatnya konsentrasi *Rhizopus C₁* berturut-turut sebesar 0,001; 0,007; 0,012; 0,055; dan 0,06 mg/mL atau optimal pada

konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen dengan hasil N-amino 0,06 mg/mL, sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan N-Amino berturut-turut sebesar 0,001; 0,009; 0,018; 0,02; dan 0,026 mg/mL dan optimal pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen dengan hasil N-amino 0,026 mg/mL. Kecenderungan yang berbeda tampak pada kandungan protein terlarut dimana pada konsentrasi *Rhizopus C₁* 0; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 persen (b/b protein kering) dengan perlakuan W 30' menghasilkan protein terlarut yang berfluktuatif berturut-turut sebesar 0,03; 0,15; 0,07; 0,09; dan 0,13 mg/mL atau optimal di konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen dengan hasil protein 0,13 mg/mL, sedangkan perlakuan W 60' menghasilkan protein terlarut berturut-turut sebesar 0,03; 0,1; 0,18; 0,13; dan 0,2 mg/mL dan optimal di konsentrasi *Rhizopus C₁* 0,8 persen dengan hasil protein 0,2 mg/mL seperti ditunjukkan pada Gambar 5. Variasi protein terlarut



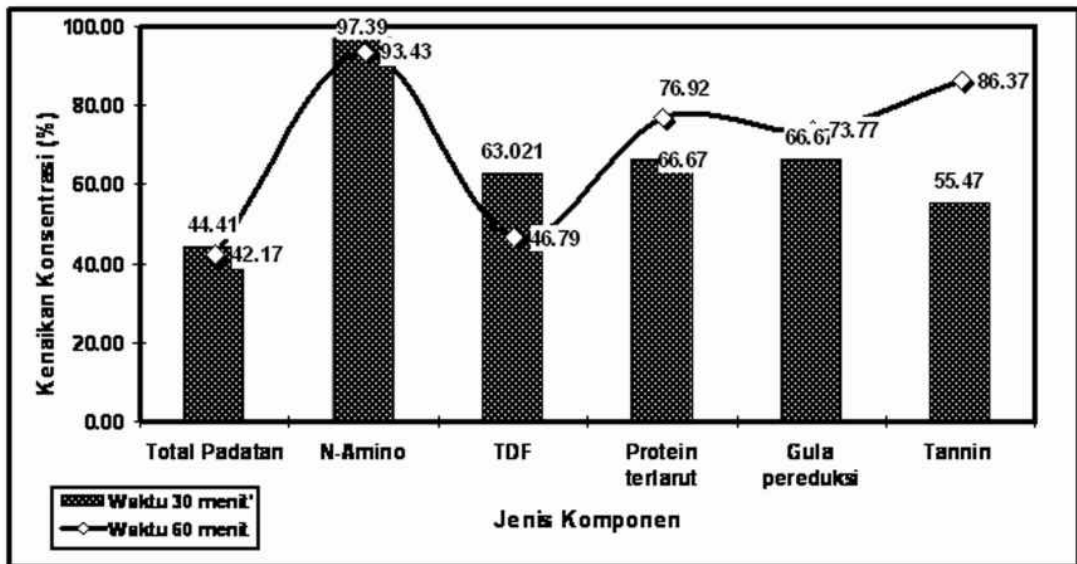
Gambar 5. Hubungan antara Konsentrasi *Rhizopus C₁* dengan Waktu Hidrolisis terhadap N Amino dan Protein Terlarut Hidrolisat dalam Perolehan Serat Pangan dari Sorgum secara Enzimatik.

dimungkinkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah adanya hambatan aktifitas proteolitik selama hidrolisis berlangsung. Hambatan aktifitas proteolitik diantaranya adalah adanya molekul organik yang dapat mengikat substrat sehingga enzimnya tidak dapat bereaksi. Dipandang dari sifat kestabilan penghambatan, maka penghambatan enzim ada yang stabil dan tidak stabil (kompetitif dan nonkompetitif) (Raimbault, 1998).

Peningkatan N-Amino dan protein terlarut terkait dengan aktifitas proteolitik *Rhizopus C₁* yang berperan langsung terhadap komposisi protein keseluruhan dan hasil degradasinya pada hidrolisat yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap total serat. Perubahan ini berkaitan dengan pembentukan asam-asam amino melalui proses transaminasi yang dikatalisis oleh enzim transaminase, suatu enzim eksopeptidase dari *Rhizopus sp* yang berperan dalam memecah ikatan peptida hanya pada bagian-ujung dari suatu rantai polipeptida untuk menghasilkan asam amino-asam amino dengan berat molekul lebih rendah

sehingga meningkatkan protein terlarut hidrolisat (Field, 1979).

Dari kajian pengaruh konsentrasi *Rhizopus C₁* dan waktu hidrolisis terhadap komposisi hidrolisat, terutama kadar serat pangan, diketahui bahwa kondisi proses hidrolisis keseluruhan berpengaruh terhadap komposisi hidrolisat. Berdasarkan kandungan TDF terbaik, pembubuhan *Rhizopus C₁* pada konsentrasi 0,6 persen (b/b) dengan waktu proses 30 menit menghasilkan hidrolisat dengan TDF tertinggi sebesar 8,2768 persen. Pada kondisi ini dicapai kenaikan kepekatan komponen-komponen hidrolisat dibandingkan dengan tanpa penambahan *Rhizopus C₁* (kontrol) yaitu total padatan, N-Amino, TDF, protein terlarut, gula pereduksi dan tannin berturut-turut sebesar 44,41; 97,39; 63,021; 66,67; 66,67 persen dan 55,47 persen, sedangkan dengan waktu 60 menit (W 60') berturut-turut sebesar 42,17; 93,43; 46,79; 76,92; 73,77 persen dan 86,37 persen seperti ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan antara Waktu Hidrolisis dengan Jenis Komponen terhadap Kenaikan Konsentrasi Komponen Hidrolisat dalam Hidrolisis Menggunakan *Rhizopus C₁* pada Konsentrasi 0,6 Persen (B/B protein).

IV. KESIMPULAN

Hidrolisis enzimatis secara bertahap untuk memperoleh serat pangan dari sorgum dipengaruhi oleh kondisi proses yaitu konsentrasi *Rhizopus C₁* dan waktu hidrolisis. Semakin lama waktu hidrolisis akan memerlukan konsentrasi *Rhizopus C₁* yang semakin rendah atau semakin tinggi konsentrasi *Rhizopus C₁* akan memerlukan waktu proses yang semakin pendek untuk memperoleh aktifitas proteolitik dan amylolitik serta komposisi hidrolisat terbaik. Peningkatan konsentrasi *Rhizopus C₁* menghasilkan peningkatan komposisi hidrolisat pada kedua perlakuan waktu proses. Berdasarkan kandungan TDF terbaik, penggunaan *Rhizopus C₁* pada konsentrasi 0,6 persen (b/b) dengan waktu proses 30 menit menghasilkan hidrolisat sebagai serat pangan dengan komposisi terbaik yaitu total padatan, N-Amino, TDF, protein terlarut, gula pereduksi dan tannin berturut-turut sebesar 11,9 persen, 0,055 mg/mL, 8,28 mg/mL, 0,09 mg/mL, 12,75 persen dan 0,028 persen. Pada kondisi ini dicapai kenaikan kepekatan hidrolisat dibandingkan dengan tanpa penambahan *Rhizopus C₁* (kontrol).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. *Pati Virtual Chembook*. Elnhurst E Ophandt, c. diunduh 15 Februari 2010.
- Anonymous. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry*. AOAC Inc., Washington D.C.
- Awika, J.M. dan Rooney, L.W. 2004. *Sorghum Phytochemicals and Their Potential Impact on Human Health*. *Phytochemistry* Vol. 65, pp. 1199–1221. Elsevier. available online at www.sciencedirect.com 6 May 2004.
- Field, M.I. 1979. *Fundamental of Food Microbiology*. The AVI. Westport, Conn.
- Fogarty, W.M. 1983. Microbial amylases. *Di dalam*: Fogarty, W.M. (ed.). *Microbial Enzymes and Biotechnology*. Applied Science Publishers, London.
- Frazier, W.C. dan Westhosff, D.C. 1978. *Food Microbiology*. Edition 3th. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd, New Delhi, India.
- Iskandar, Yetty M., S. Puji R. dan Thelma A.B. 2002. Pembuatan Inokulum Menggunakan Isolat *Rhizopus C₁* dan *Rhizopus C₂* pada Substrat Campuran. *Prosiding Seminar Nasional Tantangan Penelitian Kimia Dalam Era Biologi dan Super Informasi*. Pusat Penelitian Kimia - LIPI, ISBN 979-9477-69-7, Jakarta, 17 September.
- Kulp, K. 1975. Carbohydrases. *Di dalam*: Reed, G. (ed.). *Enzymes in Food Processing*. Academic Press, New York.
- Liu, S. 2006. *New Techniques for Tea Catechins Extraction*. *International Training Workshop of Tea Science*. Hunan Agricultural University. Changsa. Hunan, P.R. China, 21 Juli-10 Agustus.
- Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Dirjen Perguruan Tinggi, PAU, IPB, Bogor.
- Pope, C. G. dan Stevens M. F. 1989. *The Determination of Amino Nitrogen Using Copper Method*. *Biochemical Journal*.
- Raimbault, M. 1998. *General and Microbiological Aspects of Solid Substrate Fermentation*. *Journal of Biotechnology* Vol.1. <http://www.MPLorstorn.fr>.
- Suarni dan Patong R. 2002. Komposisi Kimia Tepung Beberapa Varietas/Galur Sorgum Sebagai Bahan Substitusi Terigu. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 21(1), 43-48.
- Susilowati, Agustine, dkk. 2006. Karakteristik Kaldu Nabati dari Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L) Menggunakan Inokulum *Rhizopus -C₁* Sebagai Flavor Savory Melalui Fermentasi Garam. Makalah pada *Seminar Nasional Biologi*. Pusat Penelitian Bioteknologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong Science Center, Cibinong-Bogor, 15-16 November.
- Susilowati, Agustine, Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati, 2006. Pemanfaatan Kacang-Kacangan Endemik untuk Pembuatan Makanan Fungsional dan Flavor dari *Kaldu Nabati Skala Pilot*. Laporan Semester I. Program Tematik – DIPA. Pusat Penelitian Kimia – LIPI, PUSPIPTEK, Serpong.

Susilowati, Agustine, Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati. 2009. Pemisahan Fraksi Gurih Dari Kacang-Kacangan Terfermentasi Sebagai Flavor Savory Analog Daging Melalui Membran Bertahap. Laporan Hasil Penelitian. Program Tematik. Kedepujian IPT. Tahun Anggaran 2009. Pusat Penelitian Kimia - LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang.

Susilowati, Agustine, Aspiyanto, Hakiki Melanie, Galuh Widiarti dan Yati Maryati. 2010. *Pengembangan Pangan Fungsional Berbasis Polisakarida dari Sorgum (Sorgum bicolor L Moench) untuk Anti Kolesterol*. Laporan Hasil Penelitian, Program Tematik, Kedepujian IPT, Tahun Anggaran 2010, Pusat Penelitian Kimia - LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang.

BIODATA PENULIS :

Agustine Susilowati adalah seorang Peneliti Madya dalam bidang Bahan Alam, Pangan & Farmasi dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong. Menyelesaikan S1 dari Fakultas Teknologi Industri-Universitas Pasundan, Bandung 1991 dan S2-Pascasarjana-Magister Management, Institut Pengembangan Wiraswasta Indonesia (IPWI), Jakarta, 1998.

Yetti M. Iskandar dilahirkan di Rangkasbitung, 27 Nopember 1951. Beliau menyelesaikan S1 jurusan mikrobiologi tahun 1976 di Insitut Teknologi Bandung, dan pendidikan S2 jurusan biokimia juga di perguruan tinggi yang sama pada tahun 1989. Sekarang beliau bekerja di Pusat Penelitian Kimia-LIPI Bandung dengan spesialisasi bidang bioteknologi industri pangan.

Aspiyanto dilahirkan di Curup (Bengkulu), 20 Oktober 1957. Beliau menyelesaikan S1 jurusan teknik kimia di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya pada tahun 1983. Saat ini bekerja di Pusat Penelitian Kimia Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang dengan spesialisasi bidang separasi membran.

Yati Maryati dilahirkan di Garut, 21 Januari 1979. Beliau menyelesaikan S1 jurusan teknologi pangan di Universitas Pasundan, Bandung pada tahun 2002. Saat ini bekerja di Pusat Penelitian Kimia Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang dengan spesialisasi bidang bioteknologi industri pangan.