

# Pendekatan Metode Mikroenkapsulasi Enzim $\beta$ -amilase pada Alginat untuk Reaksi Hidrolisis Pati menjadi Maltosa

Gina Maulia<sup>1\*</sup>, M. Bachri Amran<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No. 283, Tanah Baru, Bogor Utara, Kota Bogor, Jawa Barat 16154

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung Jl. Ganesa No.10, Coblong, Kota Bandung, Jawa Barat 4013

E-mail: [mauliagina.chem@gmail.com](mailto:mauliagina.chem@gmail.com)

(Received: 18 Mei 2022; Accepted: 13 Agustus 2022; Published: 28 Agustus 2022)

## Abstrak

$\beta$ -amilase merupakan enzim karbohidrolase yang menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik pada pati secara spesifik menghasilkan maltosa. Penggunaan enzim  $\beta$ -amilase untuk menghasilkan maltosa selama ini terkendala oleh sulitnya pemisahan antara enzim dengan substrat sehingga hanya dapat digunakan untuk satu kali reaksi. Pada penelitian ini dilakukan pendekatan metode amobilisasi dengan cara mikroenkapsulasi  $\beta$ -amilase menggunakan Na-alginat dan glutaraldehid. Pembuatan kapsul alginat dilakukan dengan meneteskan campuran enzim, glutaraldehid dan alginat yang telah dilarutkan dalam buffer asetat 0,05 M pH 5,5 ke dalam larutan  $\text{Ca}^{2+}$  menggunakan *syringe* berdiameter 0,6 mm. Kadar alginat divariasikan dengan mengukur kinerja enzim pada penggunaan alginat 2% dan 3% dengan kadar kalsium yang dibuat tetap. Kadar kalsium divariasikan 2%, 3% dan 4% pada kadar alginat yang memberikan kinerja optimum. Aktivitas enzim  $\beta$ -amilase terenkapsulasi alginat dievaluasi dengan mengukur jumlah maltosa yang dihasilkan. Jumlah maltosa ditentukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm dengan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) sebagai pembentuk warna. Enzim  $\beta$ -amilase terenkapsulasi alginat memiliki aktivitas tertinggi sebesar 2,34 mg maltosa/50 butir kapsul/10 menit dengan kadar alginat 2% dan kalsium 3%.

Kata kunci : enzim  $\beta$ -amilase; mikroenkapsulasi; alginat; glutaraldehid.

## Abstract

*$\beta$ -amylase is a carbohydrase enzyme that hydrolyzes  $\alpha$ -1,4-glycosidic bonds in starch specifically to produce maltose. The use of the  $\beta$ -amylase enzyme to produce maltose has so far been constrained by the difficulty of separating the enzyme from the substrate so that it can only be used for one reaction. In this study, an immobilization method was applied by means of microencapsulation of  $\beta$ -amylase using Na-alginate and glutaraldehyde. Alginate capsules were made by dripping a mixture of enzymes, glutaraldehyde and alginate that had been dissolved in 0.05 M acetate buffer pH 5.5 into a  $\text{Ca}^{2+}$  solution using a 0.6 mm diameter syringe. Alginate levels were varied by measuring the performance of the enzyme on the use of 2% and 3% alginate with the calcium content kept constant. Calcium levels were varied 2%, 3% and 4% at alginate content which gave optimum performance. The activity of the alginate-encapsulated  $\beta$ -amylase enzyme was evaluated by measuring the amount of maltose produced. The amount of maltose was determined by UV-Vis spectrophotometric method at a wavelength of 540 nm with 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) as a color-forming reagent. The alginate-encapsulated  $\beta$ -amylase enzyme had the highest activity of 2.34 mg maltose/50 capsules/10 minutes with 2% alginate and 3% calcium.*

Keywords:  *$\beta$ -amylase enzyme; microencapsulation; alginate; glutaraldehyde.*

## PENDAHULUAN

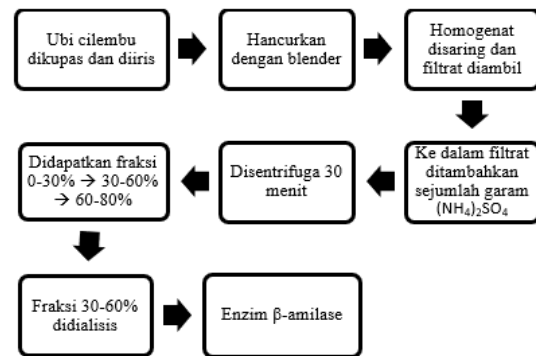
Selama ini enzim  $\beta$ -amilase sudah banyak digunakan sebagai biokatalis untuk menghasilkan maltosa dari reaksi hidrolisis pati. Namun penggunaan  $\beta$ -amilase sebagai biokatalis mengalami hambatan dalam cara penyimpanan agar enzim dapat digunakan berulang dengan aktivitas yang masih

terjaga (Chakraborty et al, 2014). Oleh karena itu amobilisasi enzim pada suatu media dengan cara adsorpsi enkapsulasi merupakan metode yang diharapkan dapat menjaga aktivitas enzim di luar lingkungan alaminya dan memudahkan proses pemisahan antara substrat dan produk reaksi. Alasan

lain pentingnya amobilisasi enzim adalah memudahkan proses pemisahan antara enzim dan produk sehingga enzim dapat digunakan berulang kali (Miletic' N et al, 2012). Alginat merupakan matrik amobilisasi yang paling banyak digunakan karena teknik pembuatannya mudah, dapat didegradasi alam, dan memiliki kemampuan menahan sel dengan baik (Brodelius et al, 1987). Penggunaan alginat sebagai media enkapsulasi enzim selumnya telah berhasil dilakukan oleh Dey tahun 2003 (Dey et al, 2003) pada  $\alpha$ -amilase. Pada penelitian ini dilakukan enkapsulasi enzim untuk  $\beta$ -amilase.

Pada penelitian ini akan dilakukan pendekatan metode mikropenkapsulasi  $\beta$ -amilase pada alginat yang menghasilkan kinerja enzim terbaik dalam menghidrolisis pati.

dilakukan oleh Anne Carolina di tahun 2006 (Carolina et al, 2003) dengan beberapa modifikasi. Secara ringkas metode yang digunakan pada penelitian dijelaskan oleh diagram pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram isolasi  $\beta$ -amilase

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini antara lain ubi cilembu, natrium alginat Fluka,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Merck, asam dinitrosalisilat (DNS) Sigma Aldrich, *soluble starch* (pati) Merck, maltosa Merck. Instrumen analisis yang digunakan antara lain neraca analitis Mettler AE 200, SEM Jeol JSM 6360 LA, Shimadzu IR Prestige 21, Shimadzu UV-3101PC.

### Isolasi $\beta$ -amilase

Metode produksi enzim  $\beta$ -amilase dari ubi cilembu mengacu pada penelitian yang telah

### Enkapsulasi enzim $\beta$ -amilase

Alginat 3% dibuat dengan menimbang 0,75 gram alginat dan dilarutkan pada 15 mL buffer asetat pH 5,5 0,1 M. Larutan alginat selanjutnya ditambahkan 10 mL enzim  $\beta$ -amilase (0,1 g/10 mL) yang telah diencerkan 5 kali.

Larutan alginat-enzim kemudian ditetaskan menggunakan syringe No.23 ke dalam larutan  $\text{Ca}^{2+}$  3% 100 mL pada suhu ruang. Kapsul alginat yang terbentuk dидiamkan selama 3 jam. Kapsul kemudian dimasukkan ke dalam glutaraldehid 2,5% selama 3 jam, dicuci bersih dan disimpan dalam buffer asetat pH 5,5 0,1 M pada suhu 4°C. Melalui metode yang sama dilakukan pembuatan kapsul dengan variasi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis dan Variasi Kapsul Alginat

Kode	Kapsul	Alginat	Glutaraldehid/kitosan	Suhu (°C)	Pengenceran (kali)
a	Alginat kosong diikat silang dengan enzim oleh glutaraldehid	3 %	Glutaraldehid 5%	Ruang	1
b	Enkapsulasi enzim dan glutaraldehid pada alginat	3 %	Glutaraldehid 2,5%	Ruang	5
c	Enkapsulasi enzim dan glutaraldehid pada alginat	3 %	Glutaraldehid 2,5%	37	5
d	Enkapsulasi enzim pada alginat dan dimodifikasi glutaraldehid	3 %	Glutaraldehid 5%	Ruang	5
e	Enkapsulasi enzim pada alginat dan dimodifikasi kitosan	3 %	Kitosan 2%	Ruang	1

### Metode

Analisis kuantitatif pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur kadar maltosa yang dihasilkan. Pengujian terhadap maltosa menggunakan metode DNS (Calzyme Laboratories,

Inc) yang yang dimodifikasi (Rusli et al, 2010). Maltosa merupakan salah satu gula pereduksi sehingga akan bereaksi dengan asam dinitro salisilat (DNS). (Pratiwi et al, 2018). Perubahan warna diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### Optimasi kadar alginat dan kalsium

Pada penentuan kadar alginat yang optimum, kadar kalsium dibuat tetap dan kadar alginat divariasikan 2, 3 dan 4%. Pada penentuan kadar kalsium yang optimum kadar alginat divariasikan 2 dan 3% dan kadar kalsium dibuat tetap sehingga didapatkan enam jenis kapsul seperti pada Tabel 1.

Tabel 1 Tabel optimasi kadar alginat dan kalsium kapsul

Kapsul	Keterangan	
	% alginat	% kalsium
A2Ca2	2	2
A2Ca3	2	3
A2Ca4	2	4
A3Ca2	3	2
A3Ca3	3	3
A3Ca4	3	4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

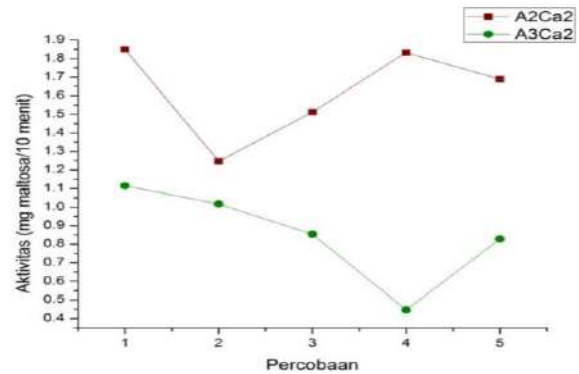
Pada penelitian ini hasil uji metode pembuatan kapsul yang menunjukkan aktivitas enzim paling optimal adalah kapsul b yaitu kapsul yang dibuat dengan metode enkapsulasi enzim dan glutaraldehid 2.5% pada alginat 3% pada suhu ruang. Glutaraldehid digunakan dengan tujuan untuk mengikat enzim pada kapsul karena glutaraldehid memiliki dua gugus fungsi reaktif yang biasa digunakan sebagai pengikat silang. Alginat digunakan dengan tujuan menjaga dinding kapsul agar tidak mudah mengalami *swelling*. Enzim yang tetap terjaga di dalam kapsul menyebabkan aktivitasnya masih memadai. Hasil uji aktivitas ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Tabel aktivitas enzim berdasarkan metode enkapsulasi

Percobaan	Aktivitas enzim (mg maltosa/50 butir kapsul/10 menit)				
	a	b	c	d	e
1	-0,09	1,66	2,23	0,43	0,83
2	-0,01	2,27	1,97	0,05	0,64
3	0,02	<b>2,34</b>	2,11	0,04	0,25
4	-0,02	1,51	1,53	-0,01	0,54
5	-0,02	1,83	1,63	-0,03	0,70

Setelah mendapatkan pendekatan metode pembuatan kapsul dengan kinerja terbaik, dilakukan optimasi kadar alginat dan kalsium pada kapsul untuk mengetahui berapa perbandingan optimum alginat dan kalsium dalam pembuatan kapsul.

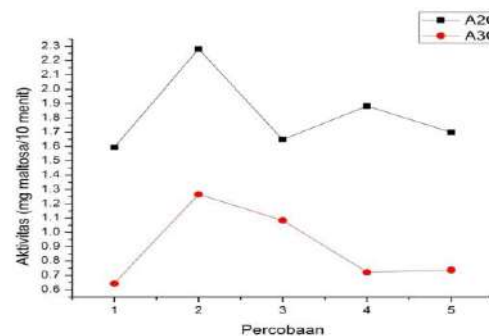
Hasil uji aktivitas kapsul A2Ca2 dan A3Ca2 ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji kapsul A2Ca2 dan A3Ca2

Berdasarkan Gambar 2 dapat terlihat bahwa untuk lima kali pemakaian kapsul dengan kadar alginat 2% memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi daripada kapsul dengan kadar alginat 3% untuk kadar kalsium yang sama. Hal ini bisa dikarenakan kadar alginat yang lebih tinggi menyebabkan dinding kapsul yang lebih kaku dan rapat sehingga intensitas kontak antara enzim dengan substrat lebih sulit terjadi.

Hasil uji aktivitas kapsul A2Ca3 dan A3Ca3 ditampilkan pada Gambar 3.

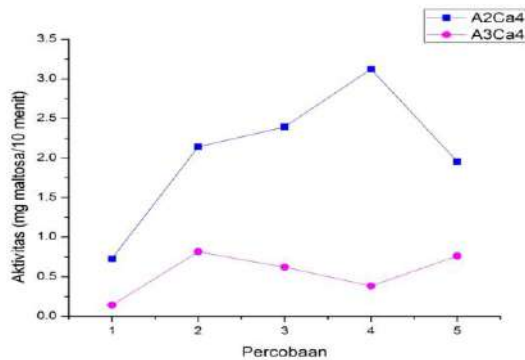


Gambar 3. Hasil uji kapsul A2Ca3 dan A3Ca3

Berdasarkan Gambar 3 terlihat bahwa untuk lima kali pemakaian kapsul dengan kadar alginat 2% memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi daripada kapsul dengan kadar alginat 3% untuk kadar kalsium yang sama. Aktivitas enzim kapsul dengan kalsium 3% lebih stabil jika dibandingkan dengan kapsul dengan kalsium 2%. Hal ini karena kadar kalsium 2% kurang untuk mengikat alginat

sehingga kapsul yang terbentuk kurang memiliki kekakuan yang cukup dalam menahan enzim.

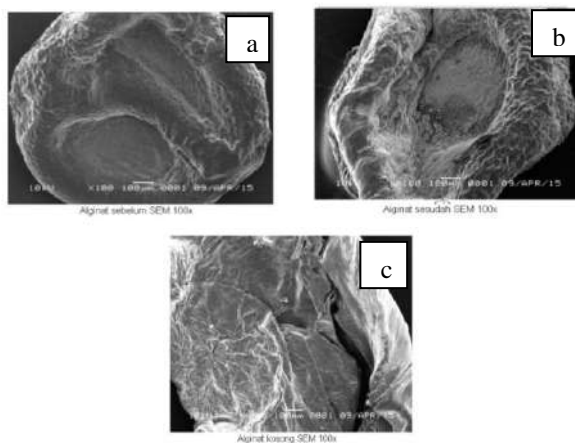
Hasil uji aktivitas kapsul A2Ca4 dan A3Ca4 ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji kapsul A2Ca3 dan A3Ca3

Kecenderungan aktivitas untuk kadar kalsium 4% memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dengan aktivitas kapsul kadar kalsium 2 dan 3%. Hal ini menunjukkan bahwa alginat 2% pada berbagai kadar kalsium memiliki aktivitas yang lebih tinggi dari kadar alginat 3%. Sedangkan kapsul dengan kadar kalsium 3% memiliki aktivitas yang lebih stabil dari kapsul dengan kadar kalsium 2 dan 4%.

Karakterisasi menggunakan SEM dilakukan pada kapsul kosong, kapsul berisi enzim sebelum dikontakkan dengan larutan pati 1% dan kapsul setelah dikontakkan dengan larutan pati 1%. Bagian kapsul yang difoto merupakan bagian penampang kapsul. Hasil SEM kapsul-kapsul tersebut ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Citra penampang kapsul sebelum kontak dengan substrat (a), setelah kontak dengan substrat (b) dan kapsul kosong (c).

Pada kapsul kosong (c) tidak terlihat adanya inti kapsul sehingga permukaan kapsul tampak homogen. Kapsul sebelum kontak (a) dan

(b) tampak adanya kesamaan pada inti kapsul yaitu adanya inti atau rongga di bagian tengah kapsul. Rongga ini menunjukkan bahwa di dalam kapsul terdapat enzim atau zat lain yang terenkapsulasi. Kapsul setelah kontak (B) memiliki morfologi permukaan yang lebih berongga dari kapsul sebelum kontak (A). Hal ini karena telah terjadi interaksi antara enzim di dalam kapsul dengan larutan substrat sehingga memungkinkan adanya transport enzim, substrat atau pun produk dari dan keluar kapsul melalui dinding kapsul.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini berhasil dilakukan enkapsulasi enzim  $\beta$ -amilase pada alginat. Pendekatan metode yang disarankan untuk enkapsulasi  $\beta$ -amilase adalah pencampuran secara langsung alginat, kalsium dan glutaraldehid pada suhu ruang. Kapsul dengan kinerja terbaik ditunjukkan oleh kapsul dengan kadar alginat 2% dan  $\text{Ca}^{2+}$  3%. Berdasarkan uji aktivitas kapsul terhadap jumlah pemakaian, enzim  $\beta$ -amilase terenkapsulasi dapat digunakan sampai lima kali pemakaian dengan aktivitas tertinggi 2,34 mg maltosa/50 butir kapsul/10 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chakraborty S, Rusli H, Nath, A. (2014). Immobilized biocatalytic process development and potential application in membrane separation: a review. *Crit Rev Biotechnol*, 1-16.
- Miletic´ N, Nastasovic´ A, Loos K. (2012). Immobilization of biocatalysts for enzymatic polymerizations: Possibilities, advantages, applications. *Bioresour Technol*, **115**, 126–35.
- Brodellius, P. and E. J. Vandamme (1987) Immobilized cell system. IN: J. F. Kennedy (ed.), *Biothechnology*. **7a**. 405-464.
- Dey, G., Singh, B., & Banerjee, R. (2003). Immobilization of  $\alpha$ -amylase produced by GRS 313. *Braz. arch. biol. technol.* , 167-176.
- Rusli, H. (2010). Studi pemisahan pati dan maltosa menggunakan membran selulosa asetat - silika fume. *Tesis*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Carolina Anne, Warganegara M. Fida. (2006). Isolasi, pemurnian dan karakterisasi  $\beta$ -amilase dari ubi jalar (*Ipomoea batatas* (L.) lam). *Tesis*. Institut Teknologi Bandung, 1-7.

Pratiwi, Y. Ratnayani, Oka, Wirajana, I Nengah (2018). Perbandingan Metode Uji Gula Pereduksi Dalam Penentuan Aktivitas  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase dengan Substrat Janur Kelapa (*Cocos nucifera*), *Jurnal Kimia* 12, 134-139.