

# Perbedaan Karakteristik Oligofruktosa dan Komposisi Serat Inulin Hasil Hidrolisis dan Tanpa Hidrolisis Enzim Inulinase *Acremonium Sp-Cbs<sub>3</sub>* dari Umbi Dahlia Merah (*Dahlia Sp. L*) Lokal untuk Anti Kolesterol

(Oligofructose characteristic and Inulin Composition from Hydrolized and non-Hydrolized *Acremonium Sp-Cbs<sub>3</sub>* Inulase from Local Red Dahlia Tuber (*Dahlia Sp. L*) for Anti Cholesterol Purpose)

Agustine Susilowati\*, Puspa D Lotulung, Yetti Mulyati Iskandar, Aspiyanto, Hakiki Melanie, Yati Maryati

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong, Tangerang

\*Korespondensi dengan penulis (agustine\_1408@yahoo.co.id)

Artikel ini dikirim pada tanggal 22 Mei 2015 dan dinyatakan diterima tanggal 30 Agustus 2015. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui [www.jatp.ift.or.id](http://www.jatp.ift.or.id). Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2015 ([www.ift.or.id](http://www.ift.or.id))

## Abstrak

Fruktooligosakarida (FOS) yang dihasilkan oleh umbi dahlia merah (*Dahlia sp. L*) Sukabumi melalui ekstraksi secara kimia maupun hidrolisis enzimatis berpotensi sebagai serat larut air (SDF) untuk anti kolesterol. Ekstraksi inulin secara kimia dihasilkan inulin A, sedangkan hidrolisis enzimatis dilakukan terhadap inulin A menggunakan enzim inulinase kasar kapang *Acremonium sp-CBS<sub>3</sub>* dihasilkan hidrolisat inulin B. Karakterisasi dilakukan terhadap komposisi kimia dan identifikasi oligomer menggunakan LCMS. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan komposisi dan karakteristik oligomer kedua bahan tersebut. Berdasarkan intensitas dan jumlah keluaran peak pada kromatogram diketahui bahwa hidrolisat inulin B lebih banyak menghasilkan peak (5) dibandingkan dengan inulin tanpa hidrolisis (A) (1 peak). Pada keadaan ini hidrolisat inulin menghasilkan oligomer dengan intensitas 100% berturut-turut sebagai T 1,9, T 2,4, T 2,6, T 3,1 dan T 3,4 yang di dominasi oligomer berberat molekul berturut-turut sebesar 186, 202, 174, 174 dan 174 Da dengan kata lain oligomer berberat molekul 174 Da lebih mendominasi dibandingkan oligomer yang lain, sedangkan gel inulin didominasi oligomer berberat molekul lebih tinggi (181 Da) yang ditunjukkan pada mass spektra dari T 3,3. Hal ini menunjukkan bahwa perolehan SDF melalui hidrolisis menggunakan kapang *Acremonium sp-CBS<sub>3</sub>* menghasilkan oligomer dengan berat molekul rata-rata yang lebih rendah sehingga dimungkinkan lebih tinggi sifat fungsionalnya sebagai anti kolesterol.

Kata kunci : serat, gel inulin, hidrolisat inulin, kapang *Acremonium sp-CBS<sub>3</sub>*, fruktooligosakarida.

## Abstrak

Fructooligosaccharides (FOS) that was resulted from red dahlia (*Dahlia spp.*) tuber (Sukabumi) through chemically extraction and enzymatic hydrolysis provides potential use as water soluble fiber (SDF) for anti cholesterol. Chemically inulin extraction was yielded from inulin A, while enzymatic hydrolysis performed on inulin A using crude inulinase enzyme of *Acremonium sp.-CBS<sub>3</sub>* fungi generated hydrolysate of inulin B. Characterization was carried out on chemical composition and identification of oligomer by LC-MS. Result of experimental activity showed that difference in both composition and oligomer characteristic of materials. Based on intensity and sum of peak output on chromatogram, hydrolysate of inulin B gave much more peaks (5) compared to hydrolysate of inulin A (without hydrolysis, 1 peak). In this condition, hydrolysate of inulin gave oligomer with intensity of 100 % as subsequently T1.9, T2.4, T2.6, T3.1 and T3.4 dominated by oligomer with MW 186, 202, 174, 174 and 174 Da. In other words, oligomer with MW of 174 Da dominated when compared to others oligomer. While inulin gel was dominated by oligomer with higher MW (181 Da) as T 3.3. This matter showed that recovery of SDF through hydrolysis using fungi of *Acremonium sp.-CBS<sub>3</sub>* gave oligomer with lower average MW, thus it may provide higher functional property as anti cholesterol.

Keywords: fiber, inulin gel, inulin hydrolysate, *Acremonium sp.-CBS<sub>3</sub>*, fructo-oligosaccharides (FOS)

## Pendahuluan

Proses untuk memperoleh serat inulin sebagai SDF (*Soluble Dietary Fiber*) maupun IDF (*Insoluble Dietary Fiber*) dari umbi dahlia merah (*Dahlia sp L*) dari Sukabumi antara lain melalui proses gelatinisasi (85-90°C, pH 10 selama 30 menit), yang kemudian diikuti dengan pengendapan dan pencucian dengan etanol (30%) (Susilowati, dkk, 2012). Metode lain untuk memperoleh serat inulin adalah melalui hidrolisis enzimatis menggunakan enzim inulinase hasil isolasi mikroba (kapang, bakteri, khamir) dari tanah, bagian dari tanaman maupun umbi (kulit, daging umbi) (Vandamme,1983). Melalui inkubasi mikroba pada media selektif yang mengandung inulin dimungkinkan untuk memperoleh enzim inulinase (enzim kasar) yang

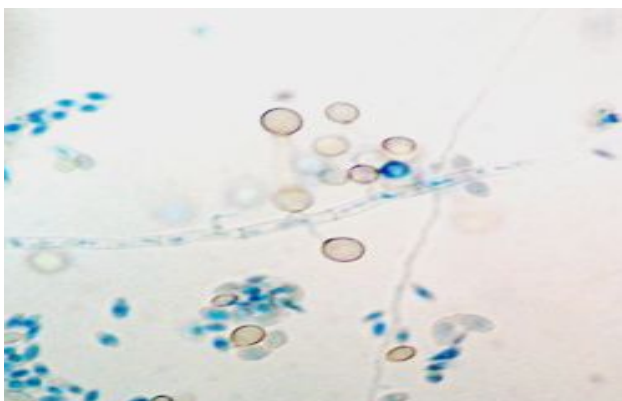
dapat digunakan sebagai biokatalisator untuk memperoleh hidrolisat sebagai serat inulin baik SDF maupun IDF. Enzim inulinase adalah R-fruktosidase yang bekerja memotong satuan fruktosa pada posisi 0-2,1 yang digolongkan sebagai 2,1-8-D-fruktofruktanohidrolase 3.2.1.7) (Vandamme,1983).

Kapang *Acremonium sp-CBS<sub>3</sub>* adalah salah satu hasil isolasi mikroba dari kulit umbi Dahlia Merah (*Dahlia sp L*) dari Sukabumi yang diduga dapat menghasilkan enzim inulinase spesifik. Kapang ini secara umum tumbuh baik pada tanah maupun kulit umbi dahlia dengan tampaknya spesifik, kecoklatan, lebat yang memiliki miselium aseptat dengan konidiofora pendek, nonaseptat (tidak bercabang) yang muncul dari hyfa fertil, konidia bersatu rapat seperti

bola (Fardiaz,1998). Diketahui beberapa spesies *Acremonium*, yaitu *Acremonium butiry* dan *Acremonium strictum* dapat mendegradasi polisakarida (pectin, CMC), sedangkan *A. kiliense* mampu mendegradasi pati (Peberdy, 1987). Kapang *Acremonium* sp juga mampu memproduksi enzim glukoamilase (Marlida, 2001) sehingga dimungkinkan dapat menghidrolisis inulin glukosa yang terdapat pada ujung terminal rangkaian fruktosa yang pada akhirnya akan meningkatkan SDF oleh karena terbentuk oligoglukosa, selain itu *Acremonium* sp juga memproduksi enzim phytase dari tanaman kedele yang mendegradasi asam phytat pada kedele dan enzim selulase yang mendegradasi bahan berlignoselulosa (Rahayu, dkk, 2007). Gambar 1 memperlihatkan tampak kapang kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> hasil isolasi dari kulit umbi dahlia merah Sukabumi pada pewarnaan menggunakan lactofenol cotton blue dengan perbesaran 1000x.

Serat inulin (SDF atau IDF) merupakan karbohidrat tak tercernakan, namun dapat difermentasi oleh enzim ekstraselluler bakteri-bakteri usus dalam sistem pencernaan guna menghasilkan asam-asam lemak rantai pendek (SCFAs) yang dapat memperlambat laju kolesterol plasma (Glen & Fiona, 2000 ; Ooi & Liang, 2010). SDF dari inulin diyakini sebagai oligosakarida oligofruktosa/ fruktooligosakarida (FOS), sedangkan IDF adalah komponen oligosakarida tak larut dalam air berupa dekstrin atau oligosakarida yang tak terhidrolisis oleh enzim atau asam. SDF akan lebih mudah difermentasi oleh karena memiliki oligomer yang lebih sederhana (berat molekul,ukuran partikel) dibandingkan dengan IDF.

FOS mengandung campuran oligomer dan polimer b-(2-1)-fruktosa (Vandamme,1983) yang terdiri dari 2->60 fruktosil. Struktur kimia FOS ditunjukkan dengan simbol GF<sub>n</sub> (G = unit glukosil, F =unit fruktosil, n = jumlah unit yang terikat oleh (2-1)-fruktosa (Coussement and Franck, 2001; Roberfroid, 2007). Perbedaan karakteristik oligomer yang dihasilkan oleh kedua proses yang berbeda tersebut memungkinkan diperolehnya serat inulin potensial yang memiliki sifat fungsional sebagai anti kolesterol.



Gambar 1. Kapang kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> dengan pewarnaan menggunakan lactofenol cotton blue melalui perbesaran 1000x dari hasil isolasi kulit umbi dahlia merah dari Sukabumi pada media PDA (Susilowati, dkk, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik baik komposisi maupun berat molekul oligomer sebagai FOS melalui LCMS dari dua proses yang berbeda yaitu dengan dan tanpa hidrolisis masing-masing proses sebagai ekstraksi secara kimia melalui gelatinisasi pada suhu 85-90°C, pH 10, 30 menit, dengan pengendapan etanol 50% (suspensi A) dan hidrolisis enzimatik pada suspensi A menggunakan enzim inulinase dari *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> pada kondisi proses tetap: konsentrasi enzim inulinase kasar 24% v/b inulin, pH 5, suhu 30°C selama 72 jam (suspensi B) untuk memperoleh serat larut air/SDF sebagai anti kolesterol.

## Materi dan Metode

### Materi

Bahan utama penelitian ini berupa umbi dahlia merah (*Dahlia* sp.L) Sukabumi dari Pusat Penelitian Biologi-Kebun Raya Cibodas, enzim inulinase kasar dari kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> dari P2K-LIPI, membran mikrofiltrasi (MF) 0,15 µm dan bahan-bahan kimia untuk analisis. Peralatan proses yang digunakan berupa peralatan hidrolisis dan gelatinisasi skala laboratorium (shaker), sistem mikrofiltrasi (MF) sel berpengaduk (Amicon), homogenizer (Turax), instrument spektrofotometer, pH-meter dan LC-MS (Mariner Biospectrometry) dengan LC (Hitachi L 6200).

### Metode

Penelitian ini dilakukan terhadap 2 jenis suspensi inulin dari umbi dahlia merah (*Dahlia* spp. L) Sukabumi yaitu dari (1) Proses ekstraksi meliputi pelumatan, gelatinisasi, pengendapan dengan etanol (suspensi A) dan (2) Proses hidrolisis pada suspensi inulin A menggunakan enzim inulinase kasar kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> (hidrolisat inulin /suspensi B). Analisis dilakukan terhadap SDF, IDF dan total padatan (metode Gravimetri), gula reduksi (metode Somogyi-Nelsen), total gula (Metode Fenol-Sulfat) (Anonymous,1995), inulin (metode N. Nelson) (Chaplin and Kennedy, 1994) dan aktifitas spesifik enzim inulinase (metode DNS) (Nines, 1999). Identifikasi oligosakarida sebagai SDF dilakukan terhadap ekstrak/permeat hasil pemurnian melalui LC-MS (Mariner Biospectrometry) dengan LC (Hitachi L 6200) (Eichhorn, et al, 2001).

### Pembuatan inulin secara ekstraksi kimia.

Perlakuan awal dilakukan dengan mencuci bersih umbi dahlia, pelumatan dengan air (2 bagian) dan umbi (1 bagian), penyaringan lolos 60 mesh, pengaturan pada pH 10, gelatinisasi pada suhu 85-90°C selama 30 menit dan homogenisasi 4000 rpm selama 15 menit. Suspensi gel selanjutnya ditambahkan etanol 50 % (v/v) dan didekantasi selama 18 jam pada suhu 10°C selanjutnya dilakukan pelelehan (thawing) pada suhu ruang sehingga diperoleh suspensi inulin (A).

### Hidrolisis inulin menggunakan enzim

Sejumlah suspensi inulin (A) dilakukan pengaturan pH (5) selanjutnya dibubuhkan enzim

inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> (24% v/b inulin) dan selanjutnya dipanaskan dalam shacker disertai agitasi pada kecepatan putar 160 rpm selama 120 jam suhu 30°C sehingga diperoleh hidrolisat inulin (B).

**Pemisahan dan Analisis SDF dan IDF**

Hidrolisat inulin diisikan dalam sistem sel MF berpengaduk menggunakan membran MF 0,15 µm berkapasitas 180 mL, sistem dioperasikan dengan kecepatan putar pengaduk 300 rpm dan tekanan 40 psia selama 30 menit dengan mengalirkan gas nitrogen. Permeat/ekstrak yang lolos ditampung sebagai SDF, sedangkan retentat/pekatan sebagai IDF (Anonymous, 2002). Untuk analisis dilakukan dari Retentat/pekatan dan permeat/ekstrak sebagian di presipitasi dengan etanol melalui cara melarutkan dalam 4 volume etanol 95 %, disaring, dicuci dengan etanol 70 % sebanyak 3 kali, etanol 95 % sebanyak 2 kali dan aseton sebanyak 2 kali (Porsky, *et al*, 1983). Komponen tercuci selanjutnya dikeringkan pada 105 °C selama 2 – 3 jam guna memperoleh SDF dan IDF murni. Perlakuan yang sama dilakukan dengan bahan suspensi inulin hasil ekstraksi secara kimia. Permeat/ekstrak yang lain digunakan sebagai contoh untuk identifikasi oligomer hidrolisat melalui LCMS.

**Identifikasi oligomer hidrolisat inulin**

Contoh berupa permeat/ ekstrak hasil pemurnian suspensi inulin A dan hidrolisat inulin B. Analisis oligomer dilakukan melalui LC-MS menggunakan *Mariner Biospectrometry*. Sistem LC diintegrasikan dengan Q-tof mass spectrometer melalui sistem ESI (*Electrospray Ionisation*) dimana scan mode dilakukan pada kisaran 100-1200 m/z, pada suhu 140 °C. LC (Hitachi L 6200) menggunakan kolom C18 (RP 18) Supelco, dengan panjang kolom 250 x2 mm dengan ukuran partikel 5µ. Jenis solven adalah air yang mengandung 0,3% asam asetat (A) dan methanol yang mengandung 0,3% asam asetat (B) pada rasio 90 bagian methanol dan 10 bagian air dengan laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 ul (Eichhorn, *et al*, 2001).

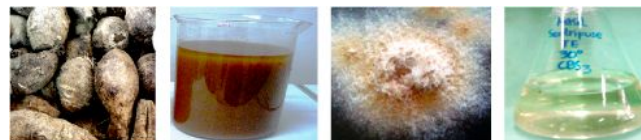
**Hasil dan Pembahasan**

**Karakteristik umbi, isolat dan enzim**

Umbi dahlia merah (*Dahlia* sp.L) Sukabumi menyerupai ketela pohon (cassava ) namun berukuran lebih kecil. Satu pohon dahlia dapat menghasilkan 2-4 umbi dengan berat ± 150-300 gram/umbi. Umbi dahlia Sukabumi memiliki tingkat kepadatan yang lebih tinggi dan warna kulit umbi yang lebih terang dari umbi dahlia

lokal lainnya. Umbi dahlia kupas menyerupai kentang (potato) kupas, namun memiliki tekstur yang kurang kompak dan lebih kenyal bila dibandingkan tekstur kentang kupas yang dapat diketahui dari irisan kedua jenis umbi dahlia tersebut. Komposisi umbi dahlia merah Sukabumi menunjukkan total padatan 4,24%, Total gula 1,065 mg/mL, Gula reduksi 2,01 mg/mL, IDF 6,97% serta SDF 1,83% (berat kering) dan inulin 61,36% (berat kering).

Penggunaan kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> dalam penelitian ini disebabkan kapang *Acremonium* sp termasuk mikroba dominan sebagai kapang endofitik, yaitu suatu mikroba yang diisolasi dari dalam tanaman baik dari akar, daun dan batang (Vandamme,1983). Kapang *Acremonium* sp dihasilkan dalam isolasi kulit umbi dahlia merah, selain sejumlah bakteri dan kapang lainnya. Pertumbuhannya yang reaktif pada media PDA menjadikan kapang ini diduga memiliki kemampuan menghasilkan enzim inulinase. Dalam inkubasinya pada media selektif (1-2 ose stock kultur) yang mengandung inulin 1% dengan bahan pengkaya lainnya yaitu 0,5% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.7 H<sub>2</sub>O, 0,015% FeSO<sub>4</sub> dan 1% inulin komersial (Orafti) pada pH 5,0 selama 5 x 24 jam dalam inkubator goyang (shacker) dengan kecepatan putar 100 rpm, suhu 30°C pada skala laboratorium (±200 mL) (Byun and Nahm, 1978). Perolehan suspensi kultur selanjutnya dicentrifuge 4000 rpm selama 15 menit, filtrat merupakan enzim inulinase kasar yang menghasilkan aktifitas spesifik inulinase sebesar 0,1296 U/mL. Gambar 2a, 2b, 2c dan 2d berturut-turut memperlihatkan umbi dahlia merah Sukabumi, suspensi lumatan umbi dahlia, pertumbuhan *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> pada media PDA dan enzim inulinase *Acremonium* sp-CBS.



Gambar 2. Umbi dahlia merah (*Dahlia* sp L) Sukabumi (a), suspensi umbi dahlia merah, rasio 1 bagian umbi dengan 2 bagian air (b), koloni *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> pada media PDA hari ke 7 (c) dan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp (d).

**Pengaruh proses ekstraksi terhadap komposisi inulin**

Ekstraksi inulin melalui proses gelatinisasi dihasilkan suspensi kental, keruh, putih kecoklatan sebagai suspensi inulin A. Komposisinya menunjukkan

Tabel 1. Komposisi bahan awal, suspensi inulin hasil ekstraksi secara kimia (A) dan hidrolisat inulin (B).

Jenis Komponen	Jenis bahan		
	Gel Umbi Dahlia*	Inulin (A)**	Hidrolisat Inulin (B)***
SDF (% b.k)	0,02	1,8398	3,2224
IDF (% b.k)	13,56	5,8170	5,9528
Total Gula (mg/mL)	6,25	1,0652	1,6348
Gula Reduksi (mg/ mL)	3,02	2,0096	1,048
Total Padatan (%)	5,22	4,2390	3,8160
Inulin (% berat kering)	61,36	57,1226	35,7985

Keterangan: \*) fitrat hasil pelumatan dengan rasio 1 bagian umbi dan 2 bagian air; \*\*) ekstraksi secara kimia pada gelatinisasi 85-90°C, 30 menit, pH 10 dengan pengendap etanol 50%; \*\*\*) hidrolisis pada konsentrasi enzim *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> 24%, suhu 30°C, pH 5 selama 120 jam.

SDF 1,8398 % (berat kering), IDF 5,8170 % (berat kering), Total gula 1,065 mg/mL, Gula reduksi 2,01 mg/mL, Total padatan 4,2390% dan inulin 57,1226 % (berat kering). Komposisi ini memperlihatkan perbedaan dengan komposisi umbi sebelum proses ekstraksi dimana SDF 0,02% (berat kering), IDF 13,56% (berat kering), Total gula 6,25 mg/mL, Gula reduksi 3,02 mg/mL, Total padatan 5,22% dan inulin 61,36% (berat kering). Terdapat perbedaan komposisi dimana perlakuan proses ekstraksi secara kimia meningkatkan SDF namun menurunkan komponen yang lain. Penurunan ini diduga disebabkan oleh pengaruh tingkat alkalinitas, proses gelatinisasi dan kemampuan pengikatan etanol sebagai pengendap inulin. Proses gelatinisasi inulin akan menyebabkan air berpenetrasi masuk dalam granula pati yang menyebabkan granula mengembang dan molekul pati akan terdifusi dari granula pati serta membentuk struktur gel koloidal. Gelatinisasi pada suhu 85-90°C, dengan pH alkali (10) menyebabkan sebagian polimer fruktan terdegradasi, seperti umumnya polisakarida dimana asam, alkali dan panas >70°C (Pine, *et al*, 1982) akan melarutkan glukosa pada ujung terminal rangkaian fruktan membentuk maltose atau isomaltose dan sedikit fruktosa sebagai SDF. Pada keadaan ini komponen-komponen lainnya akan mengalami perubahan, terutama total padatan yang merupakan akumulasi seluruh komponen inulin.

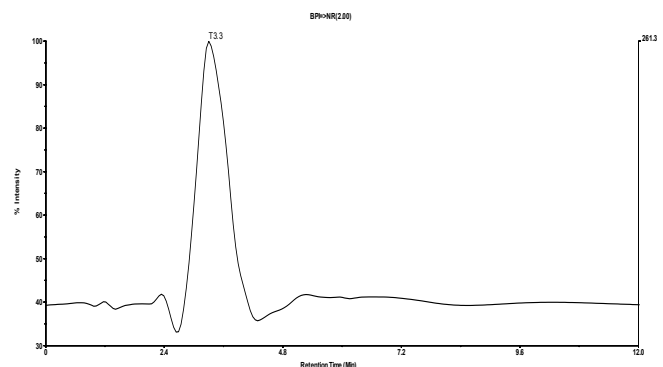
Hidrolisis suspensi inulin A menggunakan enzim inulinase kasar dari *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> menghasilkan suspensi cukup kental, keruh, putih kecoklatan sebagai hidrolisat inulin B. Komposisinya menunjukkan SDF 3,2224% (berat kering), IDF 5,9528 % (berat kering), Total gula 1,6348 mg/mL, Gula reduksi 1,048 mg/mL, Total padatan 3,8160% dan inulin 35,7985 % (berat kering). Proses hidrolisis meningkatkan SDF namun menurunkan komponen yang lain terutama inulin. Hal ini disebabkan oleh terhidrolisisnya polimer fruktan membentuk oligosakarida terutama fruktooligosakarida. Kapang *Acremonium* sp diketahui mampu menghasilkan enzim enzim-enzim yang bersifat amylolitik, diantaranya adalah enzim glukoamilase yang pada suhu 30°C, agitasi 120 rpm, 30°C selama 5 hari dapat menghasilkan aktivitas glukoamilase sebesar 67 U/ml (Marlida *et al*, 2000). Dalam penelitian ini, *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> mampu menghidrolisis inulin dalam media selektifitas dengan kandungan inulin 1%, hal ini menunjukkan bahwa kapang *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> juga juga mampu menghasilkan enzim inulinase meskipun dengan aktifitas rendah (0,1296 U/mL) oleh karena masih berupa enzim kasar (*crude enzim*). Meskipun demikian fruktooligosakaridanya mampu meningkatkan SDF sebesar 42,9% dari bahan awal (suspensi inulin A) sebesar 1,84% menjadi hidrolisat inulin (suspensi B) sebesar 3,22% (berat kering). Secara keseluruhan proses hidrolisis ini menyisakan inulin sebesar 21,3241% (berat kering) dari sebelum proses (57,1226% b.k), atau efisiensi proses diperoleh sebesar 62,67%. SDF dimungkinkan juga mengandung glukooligosakarida oleh karena kapang *Acremonium* sp

memiliki aktifitas glukoamilase (Marlida, 2001) oleh karena hidrolisis dilakukan pada kondisi operasi yang sama (suhu 30°C, agitasi 120 rpm, 30°C selama 5 hari). 1 memperlihatkan komposisi bahan sebelum dan sesudah ekstraksi secara kimia dan hidrolisis menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub>.

Identifikasi SDF sebagai oligomer fruktooligosakarida melalui LC-MS

Pemilihan permeat hasil pemisahan suspensi inulin A dan hidrolisat inulin B dalam analisis ini dilakukan oleh karena oligosakarida (fruktooligosakarida) berukuran partikel antara 0,001-0,01 µm, lebih kecil dari pada ukuran pori membran mikrofiltrasi (0,15 µm) (Anonymous, 2005). Hasil identifikasi memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan karakteristik oligomer yang ditunjukkan dalam kromatogram pada kedua jenis bahan tersebut. Suspensi inulin A dengan waktu retensi (retention time) antara 0-20 menit diperoleh 1 peak dominan sebagai T 3,3 dengan intensitas sebesar 100% seperti ditunjukkan pada Gambar 3.

Melalui LC-MS diketahui bahwa dimungkinkan suatu senyawa memperlihatkan perbedaan BM dimana kemungkinannya adalah sebagai M<sup>+</sup>, M + Na<sup>+</sup>, 2 M<sup>++</sup> atau 2 M<sup>+</sup> + Na<sup>+</sup>. Hal ini disebabkan adanya ionisasi oleh sensitifitas instrumen LC-MS yang berkaitan dengan eluen yang digunakan. Kondisi operasi LC-MS adalah pada volume injeksi 20 µL, laju alir 1 mL/menit dengan eluent campuran Metanol dan Air (mengandung 0,3 % asam asetat) pada rasio 90 : 10 (Eichhorn, *et al*, 2001).



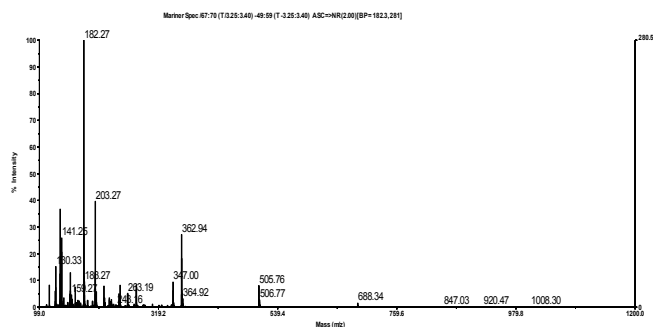
Gambar 3. Kromatogram oligomer FOS sebagai SDF antara 0-20 menit dari suspensi inulin A.

Kromatogram T 3,3 dengan mass spektra antara 99-1200 m/z, memperlihatkan 17 oligomer dengan berat molekul berkisar antara 140-1007 Da. Oligomer didominasi berberat molekul berturut-turut 181,27, 140,25, 202,27, dan 361,94 Da yang ditunjukkan dengan intensitas berturut-turut sebesar 100, 47, 40 dan 37%, sedangkan oligomer lainnya menunjukkan intensitas yang lebih rendah, bervariasi antara 2-25% seperti ditunjukkan pada Gambar 4.

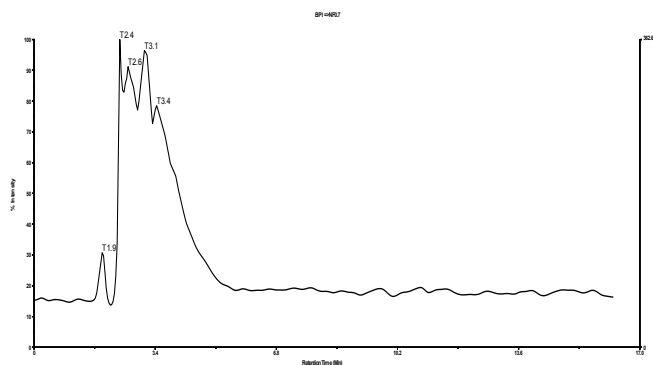
Hidrolisat inulin B memperlihatkan diperolehnya 6 peak sebagai T 1,9, T 2,4, T 2,6, T 3,1 dan T 3,4 dengan intensitas berturut-turut sebesar 30, 100, 90,

95, 78 dan 15% pada waktu retensi antara 0-17 menit seperti ditunjukkan pada Gambar 5.

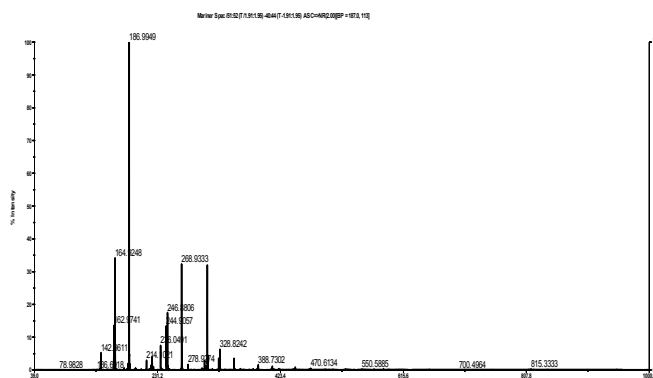
Mass spektra pada peak T 1,9 pada Gambar 6 menunjukkan dominasi oligomer berturut-turut dengan berat molekul 185,99, 163,92 dan 267,93 Da yang menghasilkan intensitas berturut-turut sebesar 100, 35 dan 34% dari keseluruhan 18 oligomer pada mass spektra antara 99-1000 m/z. T 1,9 menghasilkan intensitas secara keseluruhan sebesar 30%, dengan kata lain pada T 1,9 dihasilkan oligomer dengan berat molekul 185,99 Da yang menempati 30% dari keseluruhan oligomer yang telah ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 4. Mass spectra dari T 3,3 antara 99-1200 m/z dari kromatogram inulin A.



Gambar 5. Kromatogram oligomer FOS sebagai SDF dari hidrolisat inulin B.



Gambar 6. Mass spectra T 1,9 antara 99-1000 m/z dari kromatogram hidrolisat inulin B.

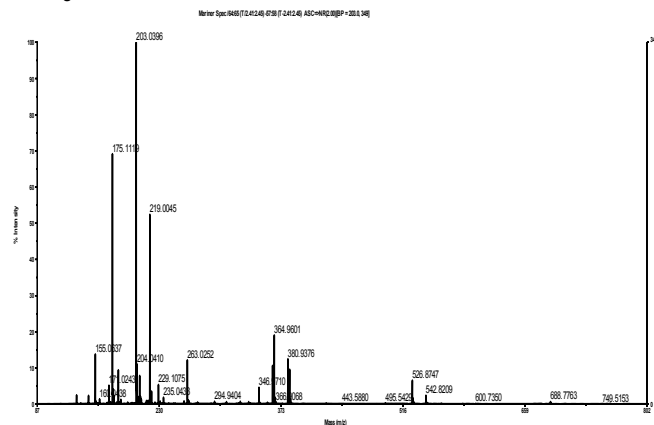
Mass spektra dari T 2,4 dengan mass antara 87-802 m/z pada Gambar 7 memperlihatkan dominasi oligomer dengan berat molekul berturut-turut 202,04, 174,11, 218 Da yang menunjukkan intensitas berturut-turut sebesar 100, 70 dan 54%, sedangkan oligomer

lainnya menghasilkan intensitas <20% dari keseluruhan oligomer yang diperoleh (24) dengan berat molekul antara 154,06-748,51 Da. T 2,4 dalam kromatogram dari hidrolisat inulin seperti telah ditunjukkan pada Gambar 5, menghasilkan intensitas tertinggi (100%), dengan demikian dimungkinkan bahwa oligomer dengan berat molekul 2002,4 Da adalah dominan (100%) terdapat pada hidrolisat inulin hasil hidrolisis menggunakan enzim inulase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> sebagai fruktooligosakaria (FOS).

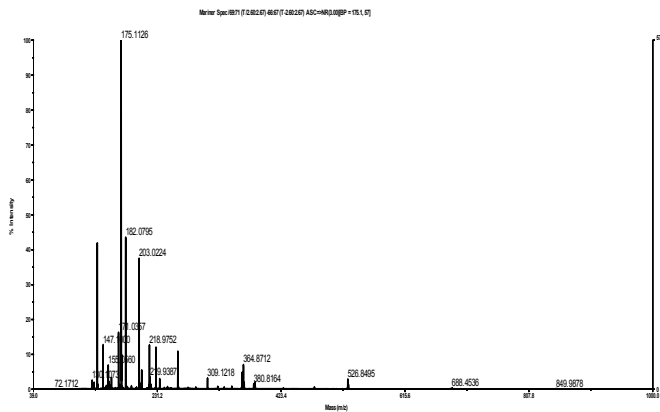
Sebagaimana tampak pada kromatogram T 2,6 seperti ditunjukkan pada Gambar 8, dengan mass spektra antara 99-1000 m/z. memperlihatkan diperolehnya 16 oligomer dengan berat molekul berkisar antara 71,17-848,99 Da yang didominasi oleh oligomer dengan berat molekul berturut-turut 174,11, 181,08 dan 201,02 Da, masing-masing menghasilkan intensitas sebesar 100, 45 dan 37%.

Oligomer lainnya menunjukkan intensitas <25%. Telah diketahui bahwa T 2,6 menghasilkan intensitas keseluruhan sebesar 90% seperti ditunjukkan pada Gambar 5, dengan kata lain mass spektra yang dihasilkan pada T 2,6 didominasi oleh oligomer dengan berat molekul sebesar 174,11 Da yang menempati 90% dari keseluruhan oligomer yang dihasilkan oleh hidrolisat inulin menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub>. Semakin besar mass spektra akan menghasilkan oligomer dengan berat molekul yang semakin besar namun dengan intensitas yang semakin rendah.

Kecenderungan perolehan oligomer yang berbeda tampak pada Gambar 9 dimana peak T 3,1 dengan mass antara 99-1000 m/z menunjukkan dominasi oligomer dengan berat molekul berturut-turut 174,11, 181,07, 137,08, 146,09 dan 132,09 Da dengan intensitas berturut-turut sebesar 100, 83, 47, 35 dan 32%, diikuti dengan oligomer yang memiliki intensitas <24% dari keseluruhan oligomer (18). T 3,1 menghasilkan intensitas sebesar 95% dari keseluruhan peak pada kromatogram seperti telah ditunjukkan pada Gambar 5. Hal ini memperlihatkan bahwa oligomer dengan berat molekul 174,11 Da mendominasi oligomer sebesar 95% dari keseluruhan oligomer sebagai FOS yang dihasilkan oleh hidrolisat inulin menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub>.

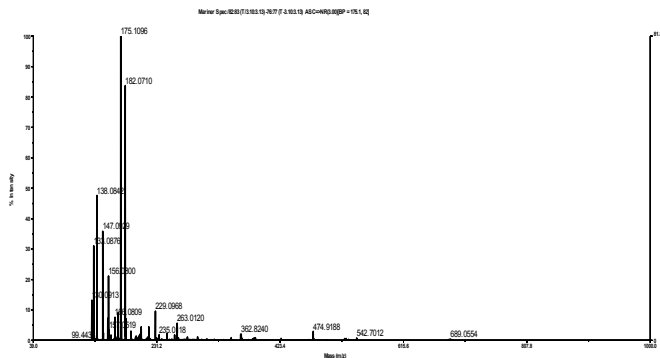


Gambar 7. Mass spectra T 2,4 antara 87-802 m/z dari kromatogram hidrolisat inulin B.

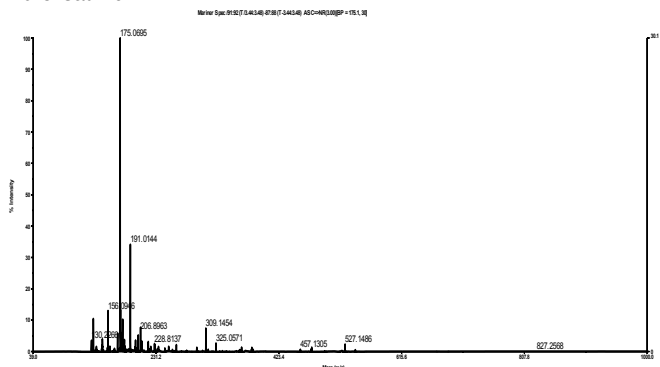


Gambar 8. Mass spectra T 2,6 antara 99-1000 m/z dari kromatogram hidrolisat inulin B.

Peak T 3,4 dari kromatogram suspensi inulin B pada mass antara 99-1000 m/z menghasilkan oligomer dominan dengan intensitas 100% berberat molekul 174,07 Da seperti ditunjukkan pada Gambar 10. Oligomer yang lain dengan intensitas <35% memiliki berat molekul antara 129,22-826,26 Da dari keseluruhan oligomer (11). Dengan demikian T 3,4 menghasilkan intensitas sebesar 78% dari keseluruhan peak pada kromatogram seperti telah ditunjukkan pada Gambar 5. Hal ini memperlihatkan bahwa oligomer dengan berat molekul 174,11 Da mendominasi oligomer sebesar 78% dari keseluruhan oligomer sebagai FOS yang dihasilkan oleh hidrolisat inulin menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub>.



Gambar 9. Mass spectra T 3,1 antara 99-1000 m/z dari kromatogram hidrolisat inulin B.



Gambar 10. Mass spectra T 3,4 antara 99-1000 m/z dari kromatogram hidrolisat inulin B.

Dari telaah identifikasi oligomer sebagai FOS diketahui bahwa terdapat perbedaan karakteristik oligomer berdasarkan intensitas dan berat molekul.

Suspensi inulin A hasil ekstraksi inulin secara kimia menghasilkan 1 peak yang mengandung 17 oligomer yang didominasi oleh oligomer dengan berat molekul 181,27 Da dengan intensitas 100%, sedangkan hidrolisat inulin B yang dihasilkan melalui proses hidrolisis suspensi inulin A menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> menghasilkan oligomer yang lebih beragam. Dihasilkan 5 peak sebagai T 1,9, T 2,4, T 2,6, T 3,1 dan T 3,4 dengan intensitas berturut-turut sebesar 30, 100, 90, 95 dan 78%, masing-masing didominasi oleh oligomer dengan berat molekul berturut-turut 185,99 Da (30%), 202,04 Da (100%), 174,11 Da (90%), 174,11 Da (95%) dan 174,07 Da (78%). Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisat inulin B menghasilkan oligomer dominan dengan berat molekul 174,11 Da (3 peak sebagai T2,6, T 3,1 dan T 3,4), lebih banyak dibandingkan dengan oligomer berberat molekul 185,99 Da (1 peak) dan 202,04 Da (1 peak). Secara keseluruhan dapat diketahui bahwa proses hidrolisis enzimatik meningkatkan sifat fungsional serat inulin sebagai FOS oleh karena menghasilkan oligomer yang bervariasi dengan berat molekul yang lebih rendah dibandingkan tanpa proses hidrolisis. Oligomer dengan berat molekul yang lebih rendah dimungkinkan memiliki ukuran partikel yang lebih kecil sehingga lebih mudah difermentasi oleh bakteri usus untuk menghasilkan SCFa sebagai anti kolesterol.

### Kesimpulan

Proses hidrolisis inulin menggunakan enzim inulinase kasar dari *Acremonium* sp-CBS<sub>3</sub> meningkatkan komposisi SDF dibandingkan dengan tanpa hidrolisis. Peningkatan SDF diperoleh sebesar 42,9% dari sebelum hidrolisis (1,84% b.k) dan sesudah hidrolisis (3,22% b.k) pada kondisi proses tetap (konsentrasi enzim inulinase 24%, suhu 30°C, pH 5 selama 120 jam). Identifikasi oligomer sebagai FOS menunjukkan bahwa proses hidrolisis menghasilkan oligomer yang lebih banyak (87 dari 5 peak) dan dengan berat molekul yang lebih rendah dibandingkan dengan tanpa hidrolisis (17 dari 1 peak). Suspensi inulin dan hidrolisat inulin masing-masing didominasi oleh oligomer dengan berat molekul 174,11 dan 181,27 Da, dengan kata lain hidrolisat inulin memiliki sifat anti kolesterol yang lebih tinggi dibandingkan dengan inulin tanpa hidrolisis.

### Daftar Pustaka

- Anonymous. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry, AOAC Inc., Washington D.C.
- Anonymous. 2002. Katalog dan Manual Stirred Ultrafiltration Cells, Amicon.
- Anonymous. 2005. Membrane Technology For Process Industry, <http://www.pcims.com> ./images/TP105.5us.pdf; PCI Membrane System Inc. Milford, USA.
- Byun, S. M. and Nahm, B. H. 1978. Production of fructose from Jerusalem artichoke by enzymatic hydrolysis. *J. of Food Science* 43 : 1871 – 1873.

- Chaplin, M. F. and J.F. Kennedy. 1994. Carbohydrat Analysis: A Practical Approach. 2nd Edition. Oxford University Press. Oxford.
- Coussement, P and Franck, A. 2001. Inulin and Oligofructose. 2001. Dalam : Cho S. S., Dreher M. L., editor. Handbook of Dietary Fiber. New York : Marcel Dekker. Hal.721 – 32.
- Eichhorn, P. dan Knepper, T. P. 2001. Electrospray ionization mass spectrometric studies on the amphoteric surfactant cocamidopropylbetaine, Journal of Massspectrometry : 36 : 677 -684, ESWE Institute for water Research and water Technology, Soecheinstr, 158, D-65201Wi.esbaden, Germany.
- Fardiaz, S. 1998. Mikrobiologi Pangan I, PT.Gramedia, Jakarta.
- Glen Gibson & Fiona Angus. 2000., Prebiotics and Probiotics, Glen Gibson & Fiona Angus, LFRA Limited Randalls Roads, Leatherhead,Surrey KT22 7RY.
- Marlida,Y. 2001. Isolation and purification of starch degrading enzyme from endophytic fungi and its application for flucose production. Thesis. Universiti Putra Malaysia, Malaysia.
- Marlida, *et al*, 2000. Purification and characterization of sago starch-degrading glucoamylase from *Acremonium sp.* Endophytic fungus. Food Chem. 71 : 221–227 in Sanchez, H. *et al*, 2005, Study of Amylolitic native microbial stocks, Journal of Vitae, Revista de la Facultad deQuimica Farmaceutica, ISSN 0121-4004 Volumen 12 numero 2, 2005-Universida de Antaoquaia, medellin-Columbia. Pages.21-28. diunduh 25 Maret 2013.
- Niness, K.R. 1999. Inulin and Oligofructose: What Are They?. Journal of Nutrition. Suppl. 129, 1402S-14604S.
- Ooi, L.G. & Liong, M.T. 2010, “Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 11, pp. 2499-2522.
- Peberdy, J. F, 1987. Penicillium and Acremonium. Biotechnology Handbooks,ISBN 0-306-42345-6,Plenum Prees, New York,N.Y.10013,E-books. Diakses 9 April 2012.
- Porsky, L, *et al*, . 1983, ‘Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber’, J. Agric. Food Chem., vol. 31, pp. 476-482.
- Pine, Stanley H., Hendrickson, James B., Cram, Donald J., Hammond, George S. 1982. Organic Chemistry, 4th Edition, *J. Chem. Educ.*, 1982, 59 (2), p A66, ACS e-Book, DOI: 10.1021/ed059pA66.1. Publication Date: February 1982. Diakses 19 Mei 2015.
- Rahayu Puji Astutik, R.P, Nengah Dwianita Kuswytasari, N.D dan Shovitri,M . 2007. Uji aktivitas enzim selulase dan xylanase isolate kapang tanah Wonorejo, Surabaya. Paper. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Gedung H Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60111.
- Roberfroid. 2007. Inulin-type fructans : Functional food ingredients. J. Nutr 2007;137:2493-502S. Available from: <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/249302502>.
- Susilowati, A, Lotulung, P.D dan Sujarwo. 2012. Karakteristik serat inulin (Dietary Fiber) dari umbi dahlia merah (*Dahlia spp. L.*) lokal melalui proses gelatinisasi sebagai pangan fungsional, Prosiding Seminar Nasional Jaringan Kerjasama Kimia Indonesia (JSKIAI) ke XV, Yogyakarta, 6 September 2012, ISSN: 0854-4778.
- Susilowati, A, Melanie, H dan Aspiyanto. 2012. Pengembangan Pangan Fungsional berbasis inulin dari umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) sebagai serat pangan larut air (SDF) untuk anti kolesterol, Makalah Hasil Penelitian, Program Tematik, Kedepatian IPT, Tahun Anggaran 2012, Pusat Penelitian Kimia - LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang.
- Vandamme dan Derycke. 1983. Microbial inulinases process, properties and applications. Adv.App1. Microb.29 : 139-176.