

Skrining pada Berbagai Jenis Umbi dan Pisang sebagai Sumber Difructose Anhyride III (DFA III) Melalui Reaksi Enzimatis

Screening of Various Tubers and Bananas as a Potential Source of Difructose Anhyride Source (DFA III) by Enzymatic Reaction

Diah Ratnaningrum^{1*}, Een Sri Endah¹, Shabarni Gaffar², Sri Pudjiraharti¹

¹Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih-Badan Riset Inovasi dan Nasional (BRIN),
Jl. Cisitua Sangkuriang, Bandung, Jawa Barat 40135, Indonesia

²Program Studi Diploma Analisis Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Indonesia, Universitas Padjajaran,
Kampus Jatinangor, Jl. Jatinangor, Sumedang 45360, Indonesia

*Penulis korespondensi: Diah Ratnaningrum, Email: nandyah@gmail.com

Submisi: 16 Agustus 2021; Revisi: 12 September 2021, 13 Oktober 2021, 22 November 2021;

Diterima: 23 November 2021, Dipublikasi: 28 November 2022

ABSTRAK

Difructosa Anhyride III (DFA III) dapat diproduksi melalui reaksi enzimatis menggunakan inulin. Inulin dapat diperoleh dari akar/umbi dan batang tanaman. Pada penelitian ini, jenis umbi-umbian dan pisang yang diketahui sebagai salah satu sumber inulin dan akan diproses untuk pembuatan DFA III menggunakan inulin fructotransferase (IFTase) *Nonomurae sp.* Tujuan penelitian ini adalah melakukan tahapan skrining untuk memperoleh bahan baku sumber inulin dari berbagai jenis umbi dan pisang yang berpotensi sebagai sumber pembuatan DFA III. Metode yang digunakan yaitu melalui reaksi enzimatis menggunakan Inulin fruktotransferase (IFTase). Umbi dan pisang diblansing, dipotong dan diblender dan ditambahkan air panas dengan rasio 1:2. Ekstrak inulin yang dihasilkan diukur secara kualitatif menggunakan metoda kromatografi lapis tipis (KLT) dan metode spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa umbi jalar mempunyai potensi besar dalam pembentukan DFA III dengan kadar inulin sebesar 7.03%, sedangkan untuk jenis pisang tidak berpotensi dalam pembentukan DFA III, hanya memiliki kandungan inulin saja (20,1%).

Kata kunci: DFA III; inulin, inulin fructotransferase; KLT; *Nonomurae sp.*

ABSTRACT

Difructosa Anhyride III (DFA III) can be produced enzymatically from inulin contained in roots/tubers and plant stems. Various types of tubers and bananas, which are potential sources of inulin can be used to prepare DFA III using *Nonomurae sp.* Inulin fructotransferase (IFTase). Therefore, this study aims to screen various tubers types and bananas that have great potential as a source of DFA III. The method used was an enzymatic reaction with Inulin fructotransferase (IFTase). The tubers and bananas were blanched, sliced, blended and added with hot water in a ratio of 1:2. Subsequently, the inulin extract produced was measured qualitatively by Thin Layer Chromatography (TLC) and spectrophotometer. The result showed that sweet potatoes have great potential in the formation of DFA III with inulin content of 7.03%.

Keywords: DFA III; inulin; inulin fructotransferase; *Nonomurae sp.*; TLC

PENDAHULUAN

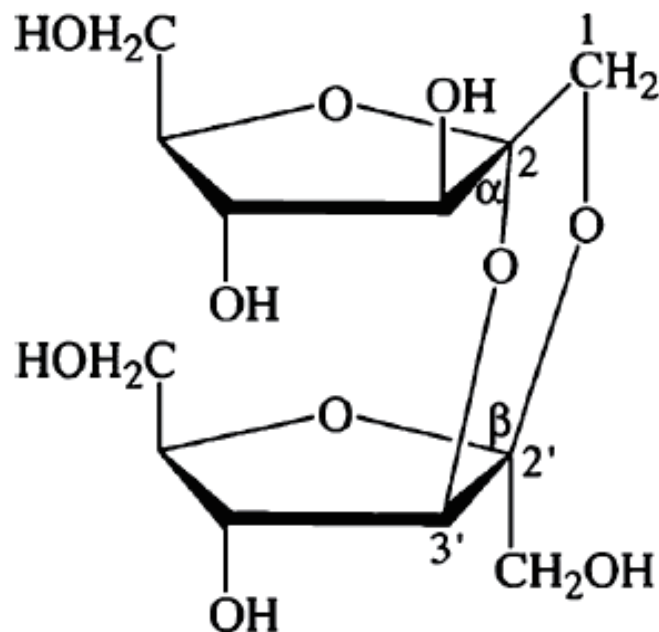
Inulin merupakan polimer alami yang mengandung gugus fruktosa yang dihubungkan oleh ikatan β -2-1 fruktofuranosida dan dibatasi dengan satu molekul glukosa pada bagian ujung ikatan (Kaur dkk., 2002 dan Apolinário dkk., 2017). Inulin bersifat sukar larut dalam air dingin dan tidak mudah dicerna oleh enzim di dalam sistem pencernaan kecuali dilakukan melalui aktivitas bakteri. Bakteri akan mengubah komposisi flora usus besar dengan fermentasi yang melibatkan *Bifidobacteria* (Wang dan Gibson 1993; Fadrijani, 2018, dan Crespo dkk., 2020), sehingga inulin disebut prebiotik selain sebagai serat pangan rendah kalori (Akram dkk., 2020) dan juga dapat meningkatkan absorpsi kalsium (Kaur dan Gupta, 2002).

Sumber alami inulin termasuk umbi *chicory*, *artichoke Jerusalem*, *umbi dahlia*, *yacon*, *asparagus*, daun bawang, bawang bombay, pisang, gandum, dan bawang putih (Soaib dkk., 2016; Petkove dkk., 2018). Adapun jenis *jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus)* dan umbi *chicory* merupakan dua spesies yang banyak digunakan oleh industri untuk memproduksi inulin (Debruyne dkk., 1992; Glinsman dkk., 2001 dan Roberfroid dkk., 2007). Karena kedua tanaman tersebut tidak dapat dijumpai di Indonesia, maka dicoba tanaman lain yang berdasarkan data-data dari Teferra dkk. (2019) melaporkan salah satunya buah pisang sebagai sumber inulin yang mengandung sekitar 0,58-1,09%. Selain itu juga, digunakan berbagai jenis umbi-umbian diantaranya umbi gadung, umbi gembili, umbi jalar dan umbi suweng. Keempat umbi tersebut diduga mengandung inulin, oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai kadar inulin yang terdapat pada tanaman umbi-umbian tersebut.

Penggunaan umbi-umbian dan pisang sebagai bahan baku produksi DFA III akan memberikan nilai keuntungan ekonomis bagi para petani. DFA III diproduksi dengan mengubah inulin menjadi oligosakarida Difruktose Anhydride III melalui reaksi enzimatik menggunakan inulin fruktotransferase (EC.3.2.1.8) dari mikroorganisme (Pudjiraharti dkk., 2016 dan Budiwati dkk., 2017). Inulin fruktotransferase atau inulinase adalah enzim yang dihasilkan oleh jamur, ragi dan bakteri (Sing dkk., 2006; Chi dkk., 2009; Vijayaraghavan dkk., 2009). Pudjiraharti dkk., (2014) melaporkan bahwa enzim inulin diperkenalkan pertama kali oleh Uchiyama pada tahun 1975 yang dihasilkan dari *Arthobacter ureafaciens*.

Difruktose Anhydride III (DFA III) secara struktur adalah senyawa disakarida siklik yang terdiri dari 2 residu fruktosa yang terikat satu sama lain secara intramolekul melalui ikatan dioksan (Saito dkk., 2000; Kikuchi dkk., 2009 dan Pudjiraharti dkk., 2016). Adanya

struktur dioksan menyebabkan DFA III sangat stabil dan tidak dapat dimetabolisme oleh sistem pencernaan (Gambar 1). DFA III merupakan produk utama reaksi enzimatik yang mengandung gula non pereduksi yang tidak mudah dicerna dan pemanis non kalori yang memiliki setengah manis dari sukrosa (Haraguchi dkk., 2011 dan Budiwati dkk., 2017). Oleh karena itu, pada suhu tinggi DFA III tidak akan menyebabkan terjadinya reaksi pencoklatan. Pada Gambar 1 dapat dilihat struktur kimia DFA III (EC.3.2.1.8).



Gambar 1. Struktur kimia DFA III (EC.3.2.1.8)

Berbagai penelitian tentang efek fisiologis DFA III yang menguntungkan terhadap kesehatan manusia telah banyak dilakukan. DFA III telah diteliti mampu meningkatkan penyerapan kalsium, magnesium dan besi di dalam usus tikus dan manusia (Suzuki dkk., 1998; Saito dkk., 1999; Minamida dkk., 2005; Hiroshi dkk., 2010; Teramura dkk., 2015 dan Pudjiraharti dkk., 2016). Selain itu, DFA III juga dapat meningkatkan kepadatan tulang serta mengembalikan kemampuan penyerapan kalsium tulang tikus (Pudjiraharti dkk., 2016). Dalam aplikasinya DFA III dapat dijadikan sebagai bahan pangan pencegah osteoporosis (Suzuki dkk., 1998 dan Mitamura dkk., 2002), dan juga dapat menghambat pembentukan asam empedu yang merupakan penyakit kanker usus besar (Suzuki dkk., 1998 dan Minamida dkk., 1999), oleh karena itu DFA III berpotensi sebagai prebiotik dan kandidat baru yang dapat mencegah penyakit kanker (Pudjiraharti dkk., 2014; Pudjiraharti dkk., 2016). Selain mempunyai efek fisiologis bagi tubuh, DFA III mempunyai beberapa karakteristik khas diantaranya larut dalam air, tahan

terhadap asam dalam kondisi suhu tinggi dan tahan terhadap reaksi pencoklatan (Budiwati dkk., 2017).

Dari penelitian sebelumnya telah dilakukan produksi DFA III dari umbi dahlia melalui reaksi enzimatis (Pudjiraharti dkk., 2016; Budiwati dkk., 2017, dan Endah dkk., 2019). Adapun penelitian ini bertujuan melakukan tahapan skrining untuk memperoleh bahan baku sumber inulin dari berbagai jenis umbi dan pisang yang berpotensi sebagai substrat pembuatan DFA III melalui reaksi enzimatis. Skrining dilakukan terhadap tanaman tersebut berdasarkan tersedianya dan tercukupinya di pasaran maupun di perkebunan di wilayah Indonesia. Selain itu, berdasarkan karakteristik dan kandungan kimia yang memungkinkan dapat dipergunakan sebagai bahan baku DFA III. Adapun berbagai jenis umbi yang digunakan diantaranya umbi gadung, umbi gembili, umbi jalar dan umbi suweg. Sedangkan untuk pisang yaitu pisang kepok, raja bulu, kapas, ambon, tanduk, muli, dan cere.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan baku yang digunakan untuk penelitian yaitu strain *Nonomurae sp.*, umbi gadung, umbi gembili (*Discoreae esculenta*), umbi jalar, dan umbi suweg, sedangkan untuk pisang diantaranya pisang ambon, pisang cere, pisang kepok, pisang muli, pisang kipas, pisang raja buluh, dan pisang tanduk. Bahan baku pisang diperoleh dari pasar lokal, Dago, Bandung.

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis meliputi asam sitrat, asam sulfat pekat 99%, asam klorida 70%, natrium hidroksida, 2-isopropanol, n-butanol, 4-metoksi benzaldehid (p-anesaldehid), etanol pro analisa semua dari Merck (Darmstad, Jerman), DFA III standar, pereaksi sistein, pereaksi karbazol dari Oxoid (Hampshire, UK) dan akuades dari PT. Tirta Anugerah, Bandung.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas pyrex (Jerman), neraca teknis analitis (O-haus), neraca analitis (Sartorius), waterbath (Memmert, Jerman), hotplate stirrer IKA C-MAG HS10 (Thermoline-Cimarec, Jerman), blender 2 L (Miyako, Jepang), centrifuge 230 V, 50/60 Hz (Tomy X-100, Jepang), bejana KLT, plat KLT silica gel 60 (Merck, Jerman), pipet effendorf (Effendorf, Jerman), spektrofotometer (U-2800, Hitachi, Jepang).

Preparasi Ekstrak Umbi dan Pisang

Masing-masing umbi segar ditimbang, dibersihkan dengan air mengalir dan dikupas. Begitu juga dengan

pisang dikupas dan dipotong-potong. Selanjutnya umbi dan pisang diekstrak dengan menggunakan air yang telah dipanaskan dengan rasio perbandingan 1:2. Ekstrak umbi dan pisang yang diperoleh dipanaskan dalam waterbath pada suhu 80-90 °C selama 30 menit, kemudian didiamkan pada suhu ruang hingga kondisi ekstrak dingin. Ekstrak diperoleh dengan cara dipisahkan dari padatan tidak larut atau biomasa tanaman. Filtrat yang dihasilkan diukur kandungan inulinnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pereaksi karbazol.

Preparasi Penentuan Kandungan Inulin

Analisis Kandungan Inulin

Penentuan kandungan inulin terhadap ekstrak umbi dan pisang menggunakan metoda pereaksi sistein-karbazol yang membentuk warna ungu (Diesche, 1951; Kierstan, 1980) dan memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 490 nm dan dibandingkan dengan inulin standar. Konsentrasi inulin ditentukan berdasarkan kalibrasi antara standar inulin dengan absorbansi. Sebanyak 0,5 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi sistein 1,5% sebanyak 0,1 mL dan 3 mL asam sulfat 70%, dikocok hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 0,1 mL karbazol 0,12% dalam etanol, lalu dikocok. Kemudian campuran reaksi dipanaskan pada waterbath dengan suhu 60 °C selama 10 menit, lalu didinginkan. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm.

Preparasi pembentukan DFA III melalui reaksi enzimatis

Ekstrak sampel juga diuji potensinya untuk pembentukan DFA III melalui reaksi enzimatis IFTase pada kondisi reaksi optimumnya. Ekstrak umbi dan pisang masing-masing dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 850 µL dan dimasukkan ke dalam tabung mikro. Kemudian masing-masing sampel dalam tabung mikrotube 1,5 mL ditambahkan larutan buffer asam sitrat-NaOH 200 mM, pH 5,5 sebanyak 50 µL dan ditambahkan 100 µL IFTase. Selanjutnya dikocok dan inkubasi pada suhu 65 °C selama 3 jam. Campuran reaksi dihentikan dengan cara dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit dan hasil reaksi enzimatis didiamkan pada suhu kamar hingga dingin (Pudjiraharti dkk., 2011).

Analisa kualitatif DFA III Hasil Reaksi Enzimatis

Dari hasil analisis reaksi enzimatis, DFA III yang terbentuk dideteksi secara kualitatif dengan menggunakan metoda kromatografi lapis tipis/KLT (Pudjiraharti dkk., 2016). Berbagai umbi dan pisang hasil

reaksi enzimatis disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4 °C. Kemudian larutan standar DFA III 1% dan masing-masing sampel diambil 1 mikroliter dan ditotolkan ke dalam plat silika gel yang telah diberi kode sesuai sampel. Plat yang telah berisi totolan larutan standar DFA III dan sampel dimasukkan ke dalam bejana yang telah berisi campuran larutan 2 isopropanol, n-butanol dan air (10:5:4, v/v) sebagai fasa geraknya (Endah dkk., 2020). Selanjutnya plat dielusi dengan fasa gerak sehingga mencapai jarak 1 cm dari batas atas plat. Setelah itu, plat dikeringkan dan disemprot secara merata dengan campuran reagen asetaldehid, asam sulfat dan etanol untuk memperoleh noda berwarna merah marun. Selanjutnya plat dikeringkan di oven pada suhu 100 °C selama kurang lebih 1 menit. Diamati noda yang terbentuk pada plat dan dihitung nilai Rf dari noda yang terbentuk.

Penentuan Nilai Rf dari Noda Standar DFA III pada Plat

Penentuan nilai Rf dapat dihitung dengan Persamaan 1.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut pada plat (cm)}} \quad (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Ekstrak Umbi dan Pisang

Skrining atau pemilihan potensi dari berbagai jenis umbi dan pisang sebagai bahan baku pembuatan DFA

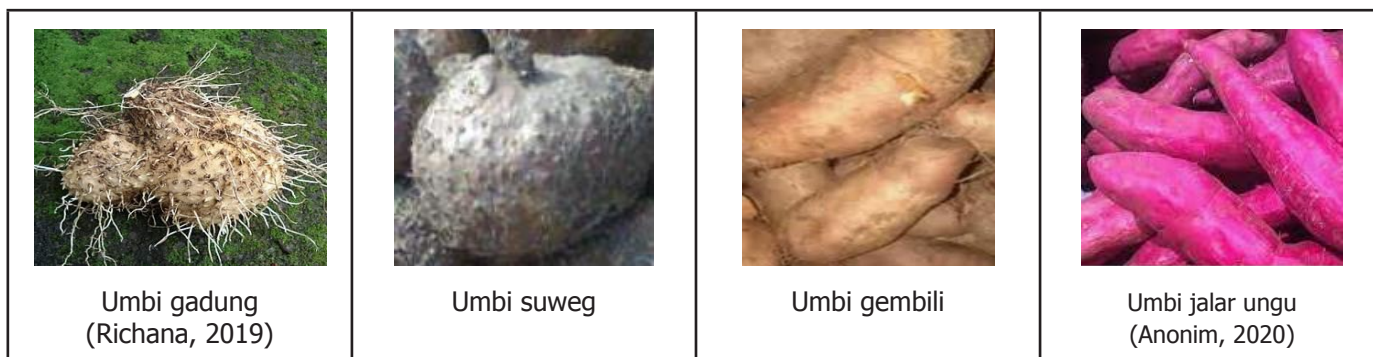
III baik melalui penentuan kadar inulin ekstrak umbi dan pisang secara spektrofotometri dan KCKT maupun potensinya dalam menghasilkan DFA III melalui reaksi dengan IFTase. Skrining sumber inulin sebagai bahan baku produksi DFA III dari berbagai jenis umbi dan pisang dilakukan dari berbagai jurnal yang memberikan informasi bahwa berbagai jenis umbi-umbian dan pisang mengandung inulin sebagai sumber DFA III, selain tanaman lain diantaranya *jerusalem artichoke* dan *chicory* yang berasal dari luar, selain tanaman lain yang dapat ditanam di Indonesia diantaranya umbi dahlia, umbi gembili, yacon, agave, asparagus, bawang putih, pisang, bawang bombay, bawang putih, gandum, bengkoang, dan lain sebagainya (Niness, 1999; Vergauwen, 2003; Widowati, 2007; Vilhalva, 2011; Rawat dkk., 2015; Shoaib dkk., 2016; Petkove dkk., 2018; Yanti dkk., 2019). Adapun jenis umbi dan pisang yang digunakan sebagai sumber inulin dan DFA III dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.

Penentuan Kadar Inulin

Kadar inulin ditentukan menggunakan pereaksi karbazol dan diukur secara spektrofotometer. Untuk kadar inulin umbi dapat dilihat pada Gambar 4. Dari hasil analisis pada Gambar 4, menunjukkan bahwa dari berbagai jenis umbi mempunyai kandungan inulin yang berbeda-beda. Hasil analisis kandungan inulin dapat dilihat bahwa kandungan inulin tertinggi diperoleh pada umbi jalar ungu (7,03% ± 0,2) diikuti oleh umbi gadung (4,93% ± 0,1), umbi gembili (0,73% ± 0,00), dan umbi suweg (0,1% ± 0,00). Tingginya kandungan inulin pada umbi jalar diduga karena kandungan karbohidratnya cukup tinggi dibandingkan dengan dengan umbi lainnya.

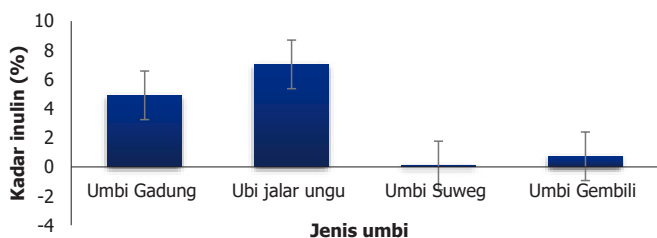


Gambar 2. Jenis pisang yang diteliti



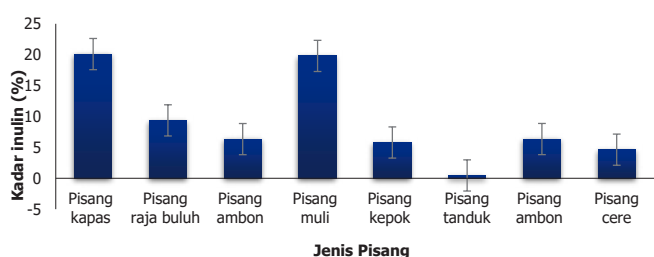
Gambar 3. Jenis umbi-umbian yang diteliti

Hal ini sesuai dengan pendapat Avianty dkk. (2018) menyatakan bahwa kandungan karbohidrat pada umbi jalar antara 30 - 35% lebih tinggi dibandingkan dengan umbi gadung 18% (Christianingsih dkk., 2015), umbi suweg 15,7 g/100 g bahan (Waisnawi dkk., 2019) dan umbi gembili 22,4 g untuk setiap 100 g (Sabda dkk., 2019). Jika dilihat dari kadar inulinnya, tidak berbeda jauh hasilnya dari penelitian ekstrak umbi jalar Yudhistira (2020) yaitu 7,72%, Kosasih (2015) dengan ekstrak umbi dahlia segar antara 6,0-9,5% berat/berat dan Budiwati dkk. (2017) antara 6,47-8,22%. Sedangkan untuk kadar inulin dari umbi gembili segar, hasil penelitian di bawah penelitian Winarti dkk. (2011) sekitar 14,77%, untuk ekstrak dari keripik gembili sekitar 7,67% dan Hilman dengan menggunakan metoda ekstraksi secara ultrasound (2018) yaitu 6,35%. Perbedaan hasil kadar inulin dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya metoda ekstraksi, umur tanaman saat dipanen, kondisi tanah, kondisi lokasi tanam, curah hujan, suhu, dan lain-lain (Budiwati dkk., 2017). Untuk kadar inulin dari jenis pisang dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Kadar inulin pada 4 jenis umbi

Dari Gambar 5 menunjukkan bahwa jenis pisang mempunyai kadar inulin yang berbeda-beda juga. Kadar inulin rata-rata tertinggi terdapat pada pisang kapas (20,1% ± 0,2) diikuti oleh pisang muli (19,8% ± 0,04), pisang raja bulu (9,37% ± 0,00), pisang



Gambar 5. Kadar inulin pada 8 jenis pisang

ambon (6,34% ± 0,02), pisang kepok (5,74% ± 0,00), pisang cere (4,63% ± 0,05) dan pisang tanduk (0,46% ± 0,2). Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh kandungan karbohidrat yang berbeda-beda pada tingkat kematangan pisang ketika dilakukan pemanenan (Harepa dkk., 2017; Indarto dkk., 2017; Pratiwi dkk., 2019). Faktor tersebut akan berpengaruh terhadap tingkat kemanisan pisang sehingga kadar inulin pun akan tinggi ketika pisang tersebut mempunyai rasa lebih manis. Semakin tinggi tingkat kematangan, maka pisang banyak mengandung berbagai jenis gula diantaranya glukosa, sukrosa, fruktosa, dan maltosa yang didegradasi oleh enzim hidrolase karbohidrat (Gao dkk., 2016). Berdasarkan pernyataan Gao (2016) maka akan diperoleh kadar inulin lebih tinggi pada pisang dibandingkan dari semua jenis umbi-umbian.

Analisis DFA III Hasil Reaksi Enzimatis

Menurut Haraguchi (2011), uji aktifitas enzim akan dilihat berdasarkan reaksi antara IFTase dengan substrat inulin, dimana inulin akan terurai menjadi DFA III dan oligosakarida. Selanjutnya DFA III yang terbentuk diamati secara kualitatif dengan metoda KLT DFA III yang terbentuk akan muncul spot. Adanya spot DFA III menunjukkan adanya aktifitas enzim. Dari hasil uji KLT pada jenis umbi-umbian menunjukkan adanya aktifitas IFTase pada ekstrak umbi jalar ungu

Tabel 1. Hasil analisa kromatogram pembentukan DFA III pada berbagai jenis umbi

Jenis umbi	Waktu reaksi enzimatis/jam	Rata-rata nilai Rf (cm)		
		Sukrosa	Fruktosa	DFA III
Umbi gadung	3	0,376 ± 0,00	0,541 ± 0,00	-
Umbi gembili	3	0,376 ± 0,00	-	-
Umbi jalar ungu	3	0,376 ± 0,00	0,541 ± 0,00	0,778 ± 0,00
Umbi suweg	3	0,376 ± 0,00	0,541 ± 0,00	-
Standar DFA III	3	0,376 ± 0,00	0,541 ± 0,00	0,778 ± 0,00

Tabel 2. Hasil analisis kromatogram pembentukan DFA III pada berbagai jenis pisang

Jenis Pisang	Waktu reaksi enzimatis/jam	Nilai Rf		
		Sukrosa	Fruktosa	DFA III
Pisang ambon	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang tanduk	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang kapas	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang raja bulu	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang kepok	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang muli	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Pisang cere	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	-
Standar DFA III	3	0,397 ± 0,00	0,554 ± 0,00	0,746 ± 0,00

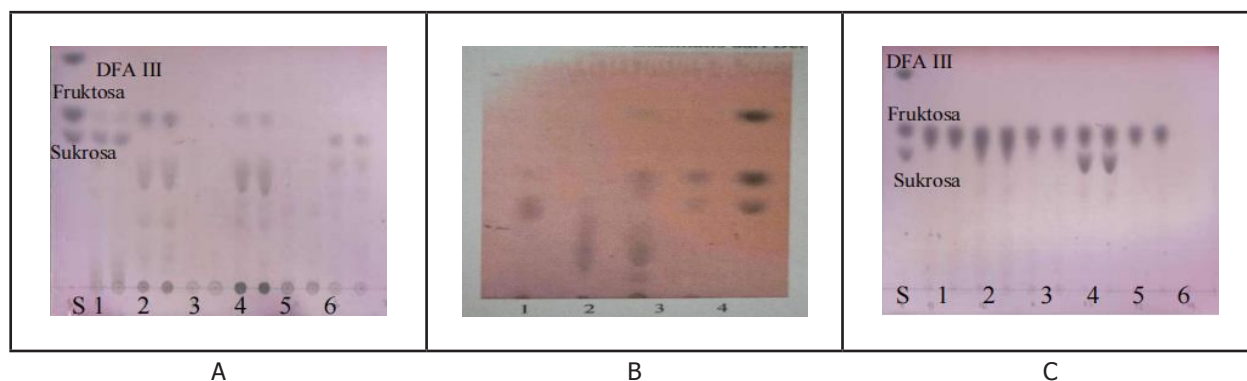
meskipun diperoleh noda/spot tipis, dengan nilai Rf sama dengan nilai standar DFA III yaitu $0,778 \pm 0,00$. Pengujian inulin dengan karbazol selain inulin, gula-gula lain seperti fruktosa, sukrosa akan terukur sehingga akan menghasilkan kadar inulin yang tinggi (Pudjiraharti, 2015). Nilai Rf umbi-umbian dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil analisis kandungan inulin diperoleh kandungan inulin tertinggi pada jenis pisang namun setelah dilakukan uji aktifitas enzimatis dan dilanjutkan dengan pendeteksian DFA III melalui uji kromatografi lapis tipis (KLT) tidak menunjukkan adanya spot/noda pada plat KLT. Hal ini, menunjukkan bahwa meskipun kadar inulin pisang tinggi, namun ternyata tidak terjadi adanya aktifitas enzim. Dimana inulin tidak akan terurai oleh enzim menjadi DFA III. Hal ini diduga karena inulin yang terkandung didalam ekstrak pisang tidak cocok sebagai substrat oleh IFTase untuk memproduksi DFA III.

Untuk hasil uji KLT yang dapat dilihat pada Gambar 6 (A), menunjukkan bahwa terlihat semua jenis umbi tidak memperlihatkan adanya spot DFA III, tetapi dilakukan pengulangan kembali untuk uji KLT (5B) dan

diperoleh bahwa umbi jalar memperlihatkan adanya spot DFA III meskipun sangat tipis. Hal ini menunjukkan bahwa ubi jalar ungu positif mengandung inulin atau polifruktan dengan derajat polimerisasi yang lebih rendah dan dapat digunakan sebagai substrat yang sesuai bagi IFTase (Pudjiraharti, 2015). Oleh karena itu, meskipun dengan kandungan inulin kecil, umbi jalar ungu mempunyai potensi sebagai sumber DFA III. Hal ini membuktikan bahwa kandungan inulin yang terkandung di dalam umbi jalar dapat bereaksi dengan IFTase (inulin fruktotransferase) membentuk DFA III. IFTase mengkatalisis pemotongan inulin menjadi DFA III melalui pemutusan ikatan glikosida kedua dari terminal glukosa sehingga terjadi pembentukan ikatan karbonil antara karbon dari terminal fruktosa ke satu dengan fruktosa kedua membentuk struktur dioksan (Pudjiraharti dkk., 2011).

Pada Gambar 6 (C), terlihat semua jenis pisang terlihat tidak menunjukkan adanya spot DFA III dan untuk pisang tanduk karena kandungan inulinnya sangat kecil, maka tidak nampak adanya noda apapun yang terbentuk. Kandungan inulin yang terdapat pada jenis pisang akan diubah oleh IFTase menjadi DFA III dengan



Keterangan:

S = Standar DFA III, (1) = Umbi gadung, (2) = Umbi jalar ungu, (3) = Umbi suweg, (4) = Umbi gembili, (5) = Umbi jalar putih dan (6) = Umbi jalar orange, pengulangan 2x KLT untuk umbi jalar ungu, 6B (1) = Umbi gadung, (2) = Umbi gembili, (3) = Umbi jalar ungu, (4) = Umbi suweg, 6C, S = Standar DFA III, (1) = Pisang kapas, (2) = Pisang raja buluh, (3) = Pisang ambon, (4) = Pisang muli, (5) = Pisang kepok dan (6) = Pisang tanduk

Gambar 6. Kromatogram KLT hasil aktifitas enzim dalam ekstrak pisang dan umbi

jumlah sedikit sehingga tidak terdeteksi dengan uji KLT, meskipun kandungan inulinnya tinggi. Hal ini kemungkinan pada saat analisis menggunakan sistein karbazol tidak spesifik terhadap inulin, disakarida dan monosakarida yang dapat bereaksi membentuk warna ungu pada reaksi sistein karbazol. Dan juga hanya mempunyai kandungan inulin saja tetapi tidak mengandung senyawa polifruktan dan derajat polimerisasi, sehingga ketika dilakukan uji KLT tidak menunjukkan adanya spot DFA III. Senyawa polifruktan tersebut merupakan substrat yang sesuai bagi IFTase (Pudjiraharti, 2015).

KESIMPULAN

Dari hasil skrining terhadap 4 jenis umbi diperoleh kadar inulin tertinggi pada umbi jalar ungu diikuti umbi jalar putih, umbi gadung, umbi jalar orange, umbi gembili dan umbi suweg. Sedangkan untuk 6 jenis pisang diperoleh kadar inulin tertinggi pada pisang muli diikuti pisang kapas, pisang raja bulu, pisang ambon, pisang kepok dan pisang tanduk. Dari 10 jenis tanaman tersebut diperoleh yang berpotensi sebagai sumber substrat enzim IFTase untuk memproduksi Difruktose Anhydride (DFA III) adalah umbi jalar ungu berdasarkan hasil analisis KLT dengan ditunjukkan adanya spot DFA III, meskipun hanya memperoleh spot yang sangat tipis tetapi terindikasi dapat dijadikan sebagai bahan baku untuk produksi DFA III.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada saudari Siti Rahmah Nurul Fuadah dari Program Studi Diploma III Analisis Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kimia, Departemen Kimia, Universitas Padjajaran yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa artikel ini asli belum pernah dipublikasikan dan bebas dari konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akram, V. & Navneet, G. (2020). Optimization of inulin production process parameters using response surface methodology. *Akram and Garud Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 68. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00087-1>
- Anonim (2020). Manfaat Umbi ungu untuk Kesehatan. <http://blog.sayuranbox.com/7-manfaat-ubi-ungu-untuk-kesehatan/>
- Apolinario, A. C. (2017). Extraction, isolation and characterization of inulin from Agave bisalana boles. *Ind Crops Prod*. Vol 108. pp. 355-362.
- Avianty & Fitriyono, A. (2018). Indeks glikemik snack bar ubi jalar kedelai hitam sebagai alternatif makanan selingan penderita diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(3).
- Budiwati, T. A., Diah, R., & Sri, P. (2017). Enzymatic of DFA III from fersh dahlia tubers as raw material. *International Symposium on Applied Chemistry (ISAC)*. AIP Confrence. Proc. 1803, 0200031-1-02003.
- Crespo I., Augusto, A., Jessica, T. L., Phoebe, A. R., Agus, B. N. P. & Ritchie, R. (2020). Inulin from several tubers

- available in Indonesia and the growth of gut microbiota. *Indonesian Journal of Life Sciences*, 2(1). <https://doi.org/10.54250/ijls.v2i1.33>
- Chi, Z. Chi, T. Zhang, G. Liu, L., & Xue (2009). Inulinase-expressing microorganisms and applications of inulinases. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 82, 211–220.
- Christianingsih, R. & Ivana, T. D. (2015). Kajian kandungan mineral dan asam sianida umbi gadung (*Discorea hispida* Denn st) pada berbagai Umur Panen. *Agro UPV*, 6(2). ISSN 1978-2276.
- De Bruyn, A., Alvarez, A. P., Sandra, P., & DeLeenheer, L. (1992). Isolation and identification of O-b-D-fructofuranosyl-(2→1)-O-b-D-fructosuranosyl-(2→1)-D-fructose: a product of the enzymic hydrolysis of the inulin from *Cichorium intybus*. *Carbo-hydrate Res*, 167992, 235:303
- Diesche, Z. & Borenfreund, E. (1951). A new spectrophotometric method for detection and determination of keto sugars and trioses. *The Journal of Biological Chemistry*, 192(2), 83-587.
- Endah, E. S., Meli, F., Rini, M., Diah, R., Puspita, L., & Sri, P. (2019). Optimization of medium composition for inulin fructotransferase (IFTase) production by *Nonomuraea* sp. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 439 (1) 012043. <http://doi.10.1088/1755-1315/439/1/012043>
- Fadjriani, Fadly, Y., Tantu, & Asriani, H. (2018). Kajian penggunaan umbi bunga dahlia (*Dahlia viriabilis*) dalam produksi kerupuk ikan lele (*Clarias batrachus*) fungsional. *Mitra Sains*, 6(1), 61-71. ISSN 2302-2027
- Glinsman, W., Kritchevsky, D., Prosky, L. & Roberfroid, M. (2001). Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(5), 353–362.
- Gao, H., Shaobo, Huang, Tao, D., Qiaosong, Y., & Ganjun, Y. (2016). Analysis of resistant starch degradation in postharvest ripening of two banana cultivars: Focus on starch structure and amylases. *Postharvest Biology and Technology*, 119.
- Haraguchi, K. (2011). Two types of inulin fructotransferases. *Materials* 4, 1543-1547; <http://doi:10.3390/ma4091543>
- Hiroshi, H., Onoshima, S., & Nakagawa. (2010). Diffructose anhydride III promotes iron absorption in the rat large intestine. *Chie Citation Nutrition*, 26(1), 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.05.02>
- Hilman, A., Harmayani, E., & Cahyanto, M. N. (2018). Inulin extraction and characterization of fresh and chip gembili (*Dioscoreae esculenta*) extract by ultrasound-assisted extraction. In Proceeding of the International Conference of Science, Technology Engineering. *Environmental and Ramilication Resercher(ICOSTEER)*-Researcher in Industry 4.0, pages 47-53. DOI: 10.5220/0010084000470053
- Harepa, W. & Usman, P. (2017). Evaluasi tingkat kematangan buah terhadap mutu tepung pisang kepek yang dihasilkan. *Jom Paferta*, 4(2), 1-12.
- Indarto & Murinto (2017). Deteksi kematangan buah pisang berdasarkan fitur warna citra kulit pisang menggunakan metode transformasi ruang warna HIS. *Juita*, 5(1).
- Kaur, N. & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences* 27, 703-714.
- Kikuchi, H. (2009). Industrial production of difructose anhydride III (DFA III) from crude inulin extracted from chicory roots using *Arthrobacter* sp. H65-7 fructosyl transferase. *J. Biosci Bioeng* 107, 262–265
- Kierstan, M. P. K. J. (1980). Production of Syrup From Inulin, *Process Biochem*.
- Kosasih, W., S, Pudjiraharti, Diah, R. & Sri, P. (2015). Preparation of inulin from dahlia tubers. International Symposium on Applied Chemistry. *Procedia Chemistry* 16, 190–194.
- Minamida, K., Kaneko, M., Ohashi, M., Sujaya, I. N., Sone T., Wada M., Yokota A., Asano, K., & Tomita, F. (2005). Effects of difructose anhydride III (DFA III) administration on bile acids and growth of DFA III-Assimilating bacterium *Ruminococcus productus* on rat intestine. *J. Biosci. Bioeng* 99, 548–554.
- Mitamura, R., Hara, H., Aoyama, Y. & Chiji, H. (2002). Supplemental feeding of difructose anhydride III restores calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. *J Nutr* 132, 3387–3393
- Minamida, K., Shiga, K., Sujaya, I. N., Sone, T., Yokota, A., Hara, H., Asano, K., & Tomita, F. (2005). Effects of difructose anhydride III (DFA III) administration on rat intestinal microbiota. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(3), 230-236. <https://doi.org/10.1263/jbb.99.230>
- Nines, K. R. (1999). Inulin and Oligofructose: What Are They? *Journal of Nutrition. Suppl.*, 129, 1402S-14604S.
- Petkove, N. T., Sherova, G., & Denev, P. P. (2018). Characterization of inulin from dahlia tubers isolated by microwave and ultrasound - assisted extraction. *International Food Research Journal*, 25(5), 1876-1884.
- Pudjiraharti, S., Dasli, N., Diah, R., & Endah, E. S. (2016). Preparation od DFA III From Dahlia (*Dahlia* sp) Tubers by *Nonomuraea* sp. Inulin Fructotransferase. *Teknologi Indonesia*, 39(1), 22-28.
- Pudjiraharti, S., Ohtani, M., Takano, N., Abe, A., Lisdiyanti, P., Tanaka, M., Sone T., & Asano, K. (2014). *Nonomuraea* sp. ID06-A0189 inulin fructotransferase (DFA III-forming): gene cloning, characterization and conservation among other *Nonomuraea* species. *The Journal of Antibiotics*, 67, 137–141.

- Pudjiraharti, S. (2015). Pengembangan Produk Nutrasetikal Kombinasi DFA III - Ekstrak Jahe untuk Osteoporosis. *Laporan Kegiatan Unggulan LIPI*.
- Pudjiraharti, S., Takesue, N., Katayama, T., Lisdiyanti, P., Hanafi, M., Tanaka, M., Sone, T., & Asano, K. (2011). Actinomycete *Nonomuraea* sp. isolated from Indonesian soil is a new producer of inulin fructotransferase. *J. Biosciences and Bioengineering*, 111, 671-674. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.02.001>
- Pratiwi, I. Y. & Oki, K. (2019). Kandungan gizi, beta karoten dan antioksidan pada tepung pisang tongka langit (*Musa troglodytarum* L.). *Agritech*, 39(1), 48-53.
- Roberfroid, M. B. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *Journal Nutr.*, 137, 830-837.
- Rawat, K. M. (2015). Use of water properties in food technology: a global view. *International Journal of Food Properties*, 17, 1034-1054. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.650339>
- Richana, N. (2019). Manfaat Umbi-umbian Indonesia. Penerbit Nuansa Cendikia. Bandung. Edisi cetakan II. ISBN 978-602-8394-90-1
- Soaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R. & Niazi, S. (2016). Inulin: properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444-454.
- Singh, P. K. & Gill (2006). Production of inulinases: Recent advances, *Food Technol. Biotechnol*, 44, 151-162.
- Saito, K. & Fusao, T. (2000). Difuctose anhydrides: their mass-production and physiological functions. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 64(7), 1321-1327.
- Suzuki, T., Hara, H., Kasai, T. & Tomita, F. (1998). Effects of difuctose anhydride III on calcium absorption in small and large intestines of rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 62, 837-841.
- Sabda, M., Wulaningtyas, H. S., Ondikeleuw, M., & Baliadi, Y. (2019). Karakterisasi potensi gembili (*Dioscorea esculenta* L.) lokal asal Papua sebagai alternatif bahan pangan pokok. *Buletin Plasma Nutrafah*, 25(1), 25-32.
- Teferra, T. F. (2019). Direct and indirect actions of inulin as prebiotic polysaccharide: a review. *CPQ Nutrition*, 3, 6.
- Vijayaraghavan, K., Ambika, D. Y. V., & Sowdamini, N. S. (2009). Trends in inulinase production – A review, *Crit. Rev. Biotechnol*, 29, 67-77. <https://doi.org/10.1080/07388550802685389>
- Vilhalva, D. A. A., Cortelazzo, A. L., Carvalho, A. L. M. A. M., & Figueiredo-Ribeiro, R. D. C. L. (2011). Histochemistry and ultrastructure of *campuloclinium chlorolepis* (*Asteraceae*) tuberous roots accumulating fructan: evidences of functions other than reserve carbohydrate. *Australian Journal of Botany*, 59(1), 46-52. <https://doi.org/10.1071/BT10126>
- Vergauwen, R., Laere, A. V., & Van., den Ende, W. V. (2003). Properties of fructan: fructan 1-fructosyltransferases from chicory and globe thistle, two asteracean plants storing greatly different types of inulin. *Plant Physiology*, 133, 391-401. <https://doi.org/10.1104/pp.103.026807>
- Wang, X. & Gibson, G. R. (1993). Effects on in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(4), 373-380.
- Widowati, S., Sunarti., T. C. & Zaharani, A. (2005). Ekstraksi, karakterisasi dan kajian potensi prebiotik inulin dari umbi dahlia (*Dahlia pinnata* L.). *Seminar Rutin Puslitbang Tanaman Pangan*. Bogor, 16 Juni 2005.
- Waisnawi, P. A. G., Yusasrini, N. L. A., & Ina, P. T. (2019). Pengaruh perbandingan tepung suweg (*Amorphophallus campanulatus*) dan tepung kacang hijau (*Vigna radiate*) terhadap karakteristik cookies. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), 48-56.
- Winarti, S., Harmayai, E., & Nurismanto, R. (2011). Extraction of inulin from various yam tubers (*Dioscorea* spp). In *12th ASEAN Food Conference*. Bangkok: BITEC.
- Yanti, I. G., Miranda, A., Anni, F., & Budhi, O. (2019). Simple determination of inulin polymerization degree average from dahlia tubers using spectrophotometer. *International Journal of Research and Review*.
- Yudhistira, B., Siswanti, & Luwidharto, J. C. N. (2020). The effect of solvent ratio and precipitation time on isolation of inulin from white sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *The 5th International Seminar on Agribusiness 2019 IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 518. 012009 IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/518/1/012009>