

AKTIVITAS ENZIM AMILASE *Rattus norvegicus* PADA DIET TINGGI SERAT PANGAN : VARIASI pH DAN LAMA PEREBUSAN

AMYLASE ENZYME ACTIVITY *Rattus norvegicus* ON A DIET HIGH IN FIBER FOOD: VARIATION OF pH AND BOILING TIME

Sesilia Mahardikaningrum* dan Leny Yuanita

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 0318298761

* e-mail : nyonya_sesil@yahoo.com

Abstrak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui (1) pengaruh pH dan lama perebusan terhadap kadar komponen serat pangan kacang panjang, (2) pengaruh pakan tinggi serat pangan kacang panjang variasi pH dan lama perebusan terhadap aktivitas amilase duodenum dan pankreas hewan coba. Sampel penelitian adalah kacang panjang varietas hijau super dan hewan coba *Rattus norvegicus* sebanyak 45 ekor. Hewan coba dibagi menjadi 8 kelompok pakan perlakuan dan 1 kelompok pakan standar. Pakan perlakuan tinggi serat pangan mengandung kacang panjang variasi pH dan lama perebusan (pH7-LP0'; pH7-LP5'; pH7-LP20'; pH7-LP35'; pH3-LP0'; pH3-LP5'; pH3-LP20'; dan pH3-LP35'). Masa pemberian pakan selama 48 hari. Hasil penelitian menunjukkan (1) Penurunan pH dan peningkatan lama perebusan tidak berpengaruh terhadap kadar pektin, hemiselulosa, dan selulosa, namun meningkatkan kadar lignin. (2) Penurunan pH dan peningkatan lama perebusan meningkatkan aktivitas amilase baik duodenum maupun pankreas hewan coba. Aktivitas amilase duodenum maupun pankreas yang mendekati pakan standar terdapat pada perlakuan pH 7 dan lama perebusan 35 menit yaitu untuk aktivitas amilase duodenum 0,0288 U/mL dan aktivitas amilase pankreas 0,0445 U/mL; aktivitas amilase kelompok pakan standar duodenum adalah 0,0228 U/mL sedangkan pankreas adalah 0,0402 U/mL).

Kata-kata kunci: kadar komponen serat pangan, amilase, pH, lama perebusan

Abstract. The aim of the research is to determine (1) to know the effect of pH and long boiling dietary fiber component percentage string bean (2) to know the effect of feed food in dietary fiber variation of pH and long boiling string bean of duodenal and pancreatic amylase activity of *Rattus norvegicus*. Sample research is string beans green varieties super and *Rattus norvegicus* by as much 45. Animal trials are divided into 8 groups of feed treatment and group 1 standard. Food treatment feed containing string bean variation of pH and long boiling (pH7-LP0'; pH7-LP5'; pH7-LP20'; pH7-LP35'; pH3-LP0'; pH3-LP5'; pH3-LP20'; dan pH3-LP35'). Feeding time for 48 days. The results showed (1) Decrease the pH and increasing long boiling does not affect levels of pectin, cellulose, hemicellulose, and increase levels of lignin, however. (2) a decrease pH and increasing long boiling increase the activity of amylase in duodenal and pancreatic *Rattus norvegicus*. Amylase of activity in duodenal and pancreatic approaching the feed standards contained on the treatment of pH 7 and long boiling 35 minutes to amylase activity of duodenal 0,0288 U/mL and pancreatic amylase activity of 0,0445 U/mL; amylase activity feed includes standard groups in duodenal is 0,0228 U/mL, while the pancreas is 0,0402 U/mL).

Key words: dietary fiber component percentage, amylase, pH, long boiling

PENDAHULUAN

Diet tinggi serat pangan mempunyai efek positif bagi kesehatan, misalnya dapat menurunkan kadar kolesterol dalam duodenum dan pembuluh darah [1]. Pengikatan asam empedu oleh serat pangan yang merupakan hasil akhir metabolisme kolesterol yang akan menurunkan jumlah asam lemak di dalam duodenum dan pembuluh darah [2].

Diet tinggi serat pangan juga mempunyai efek negatif bagi kesehatan yaitu menurunkan ketersediaan mineral. Pengikatan mineral Fe oleh serat pangan merupakan penyebab utama penurunan absorpsi mineral Fe sehingga dapat mempengaruhi pembentukan hemoglobin dalam darah [3]. Selain itu, serat pangan juga berdampak negatif terhadap metabolisme pencernaan karena mempunyai kemampuan berikatan dengan enzim pencernaan sehingga dapat menurunkan aktivitasnya [4].

Serat pangan dapat berasal dari buah-buahan, sayur-sayuran, dan kacang-kacangan. Kacang panjang merupakan salah satu sayuran yang mempunyai kadar serat pangan yang cukup tinggi dan banyak dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat Indonesia.

Pemasakan pada berbagai derajat keasaman medium mempengaruhi tekstur, komposisi dan struktur kimia komponen serat pangan sehingga berakibat pada sifat fisiko kimia serta mengubah pengaruh fisiologis serat pangan pada sepanjang saluran pencernaan. Perebusan mengakibatkan perubahan komponen dinding sel tanaman antara lain: 1) denaturasi protein, 2) degradasi pektat pada pH netral, 3) hidrolisis ikatan glikosidik hemiselulosa dan pektat pada pH asam, 4) reaksi antar konstituen dinding sel [5].

Enzim amilase merupakan salah satu enzim pencernaan yang berasal dari getah pankreas. Enzim amilase juga terdapat di dalam duodenum, namun sumbernya berasal dari pankreas, duodenum merupakan muara dari getah pankreas [6]. Enzim ini berfungsi untuk mendegradasi karbohidrat (pati) menjadi monosakarida dalam proses metabolisme tubuh dan sebagai penghasil energi dalam bentuk ATP. Penurunan aktivitas enzim pada diet tinggi serat pangan diduga disebabkan karena adanya pengikatan (interaksi) oleh serat pangan. Akan tetapi

mekanismenya tidak sama seperti halnya inhibitor, diduga serat pangan hanya berinteraksi dengan enzim, sedangkan enzim tersebut tetap aktif, namun aktivitasnya menurun [7].

METODE PENELITIAN

Alat: Gelas kimia, *plastic wrap*, spatula, inkubator, gelas ukur, mikropipet, kertas saring whatman 40, sentrifus, oven, tanur, *shaker waterbath*, indikator universal, termometer, kompor listrik, corong buchner, neraca ohaus, stopwatch, blender, mesin giling, baskom, sendok, timbangan, loyang, plastik klip, pisau, mortar, alu, plastik, botol vial berwarna gelap, spatula, inkubator, sentrifus, aluminium foil, dan *spektofotometer UV-Vis*.

Bahan: Sampel kacang panjang dengan variasi pH dan lama perebusan, heksana, HCl, enzim pepsin, Na₂EDTA, buffer fosfat, enzim amilase, aseton, NaOH, CH₃COOH, H₂SO₄, aquades, es batu, buffer sitrat pH 3, kacang panjang, tepung terigu, susu skim, maizena, tepung ikan, vitamin, minyak goreng, terasi, ekstrak duodenum dan pankreas hewan coba, amilum, buffer fosfat pH 7, TCA, air es, pereaksi Arseno molibdat, dan reagen Nelson.

Prosedur Penelitian

Pengaruh Lama Perebusan terhadap Kadar Pektin, Hemiselulosa, Lignin, dan Selulosa Kacang Panjang

Persiapan sampel. Kacang panjang yang telah dicuci bersih kemudian dipotong-potong sepanjang ± 4 cm. Lalu dibagi menjadi 8 kelompok sesuai dengan perlakuan pH dan lama perebusan (LP) yaitu (pH7-LP0'; pH7-LP5'; pH7-LP20'; pH7-LP35'; pH3-LP0'; pH3-LP5'; pH3-LP20'; dan pH3-LP35'). Untuk masing-masing perlakuan kacang panjang ditimbang sebanyak 350 gram dan direbus dengan menggunakan aquades untuk sampel pH 7, sedangkan untuk sampel pH 3 digunakan larutan buffer sitrat pH 3 sebanyak 150 mL. Setelah itu dihaluskan dengan blender kemudian dikeringbekukan dengan *freeze dryer*. Kemudian sampel kering diayak dengan ukuran 100 mesh.

Penentuan kadar pektin dan hemiselulosa [9]. Sampel kering ditimbang di dalam gelas kimia sebanyak 2 gram, lalu direndam dengan larutan heksana. Selama proses perendaman, pelarut diganti setiap 6 jam selama 24 jam, sampel dipisahkan dari pelarut heksana dengan cara memipet pelarutnya. Residu didispersikan dalam 200 mL HCl 0,05 N dan dipanaskan 20 menit pada suhu 60°C, kemudian ditambahkan HCl 0,2 N hingga pH larutan menjadi 1,5 selanjutnya didinginkan hingga suhu 40°C. Selanjutnya ditambahkan 100 mg pepsin dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 40°C dalam inkubator. Langkah selanjutnya ditambah 0,3 gram Na₂EDTA, lalu ditambah dengan buffer fosfat pH 8 hingga pH larutan menjadi 6 dan didiamkan selama 40 menit, kemudian didinginkan sampai 20°C, ditambah 200 µl amilase dan diinkubasi *overnight*. Suspensi di saring dengan kertas saring Whatman 40. Filtrat mengandung pektin dan residu akan digunakan dalam menentukan kadar hemiselulosa.

Filtrat tersebut dipekatkan dalam oven kemudian didinginkan dengan segera dan ditambahkan aseton-HCl 5N pH 0,7-1 sampai terbentuk gel, kemudian disentrifugasi. Gel dicuci dengan aseton hingga pH 4, selanjutnya gel dikeringkan dalam oven hingga konstan, sehingga akan didapatkan berat pektin. Kadar pektin dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar pektin} = \frac{\text{berat pektin}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

Residu hasil penyaringan akan diekstrak dengan NaOH 5 % dan N₂ hingga membentuk suspensi lalu disaring, residu yang didapatkan adalah hemiselulosa C. Filtrat ditambah dengan asam asetat hingga pH 5 kemudian disaring, residu yang didapatkan adalah hemiselulosa A. Filtrat dari hasil ekstraksi asam asetat ditambah dengan 4x volume etanol sedikit demi sedikit dan suspensi didiamkan hingga terbentuk endapan hemiselulosa B lalu disaring. Masing-masing residu dikeringkan di dalam oven hingga diperoleh berat konstan kemudian, dijumlahkan untuk mendapatkan berat total hemiselulosa. Kadar hemiselulosa dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar hemiselulosa} = \frac{\text{berat hemiselulosa}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

Penentuan kadar lignin [10]. Sampel kering ditimbang di dalam tabung erlenmeyer sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 100 mL larutan ADF (*Acid Detergent Fiber*), kemudian dididihkan pada pendingin tegak selama 60 menit. Selanjutnya disaring, lalu residunya dicuci dengan aquades panas. Residu yang didapatkan diambil dari kertas saring, lalu didinginkan dan ditambahkan 25 mL H₂SO₄ 72%, kemudian digoyang selama 2-3 jam pada suhu 20°C menggunakan *shaker waterbath*, selanjutnya diencerkan dengan aquades hingga konsentrasi 3%. Setelah diencerkan, larutan tersebut dipanaskan pada penangas air mendidih selama 2-4 jam kemudian disaring. Residu dicuci beberapa kali dengan aquades, lalu dibilas dengan aseton. Selanjutnya dikeringkan pada oven bersuhu 100°C hingga diperoleh berat konstan (a), kemudian diabukan dalam tanur yang bersuhu 500-550°C hingga diperoleh berat konstan (b). Kadar lignin dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lignin} = \frac{a - b}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

a = endapan setelah dikeringkan

b = endapan setelah diabukan

W = berat sampel awal (0,5 gram)

Penentuan kadar selulosa [10]. Sampel kering ditimbang ke dalam gelas kimia sebanyak 1 gram, lalu ditambahkan 100 mL larutan ADF, kemudian larutan dididihkan pada pendingin tegak selama 60 menit dan disaring dengan kertas saring Whatman 40. Residu yang diperoleh dari hasil penyaringan dicuci beberapa kali dengan aquades panas, lalu dibilas dengan aseton. Setelah itu, residu dikeringkan dalam oven bersuhu 100°C hingga diperoleh berat konstan (a), kemudian diabukan dalam tanur yang bersuhu 500-550°C hingga diperoleh berat konstan (b).

$$\text{Kadar ADF} = \frac{a - b}{W} \times 100\%$$

Kadar selulosa = kadar ADF – kadar lignin

Keterangan:

a = endapan setelah dikeringkan

b = endapan setelah diabukan

W = berat sampel awal (0,5 gram)

Pengaruh pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap aktivitas amilase duodenum dan pankreas hewan coba

Persiapan Sampel. Kacang panjang yang telah dicuci bersih kemudian dipotong-potong ± 4 cm. Lalu dibagi menjadi 8 kelompok sesuai dengan perlakuan masing-masing $P_0, \dots, P_8$. Untuk masing-masing perlakuan ditimbang sebanyak 350 gram dan direbus dengan pH 7 dan 3 sebanyak 150 mL. Setelah itu, dihaluskan dengan blender, lalu dipisahkan ampas dan filtratnya. Filtrat disimpan di dalam freezer dan dilelehkan sebelum diberikan pada hewan coba dengan cara disonde setiap hari @ 20 mL, sedangkan ampasnya dicampur dengan pakan standar.

Mula-mula semua hewan coba yang akan digunakan diberi perlakuan pakan standar selama 2 minggu. Kemudian hewan coba dibagi menjadi 9 kelompok, masing-masing kelompok mempunyai berat badan yang setara. 8 kelompok hewan coba diberi pakan standar yang ditambah dengan kacang panjang yang telah diberi perlakuan dan 1 kelompok hewan coba yang diberi pakan standar sebagai kontrol.

Pembuatan ekstrak duodenum dan pankreas [11]. Hewan coba dibedah setelah perlakuan selama ± 48 hari untuk diambil duodenum dan pankreasnya. Setelah itu, duodenum dan pankreas yang didapatkan disayat secara longitudinal dan dibersihkan dengan aquades. Duodenum dan pankreas yang sudah dibersihkan, secara terpisah dimasukkan ke dalam botol vial berwarna gelap dan direndam dengan larutan *Krebs-ringer bikarbonat buffer*, lalu di haluskan dengan mortar dan alu dan ditambahkan larutan gliserin 50%. Selanjutnya larutan disaring dengan kertas saring whatman 40 lalu dilakukan pengujian aktivitas enzim amilase dengan metode *Nelson-Somogyi*.

Analisis aktivitas enzim amilase [12]

Penentuan aktivitas enzim amilase dilakukan dengan menggunakan metode *Nelson-Somogyi* dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis

Penentuan Absorbansi Larutan Standar Glukosa, larutan blanko, dan sampel [13]. Penentuan absorbansi larutan standar glukosa,

larutan blanko, dan sampel dilakukan dengan cara: membuat larutan glukosa dengan konsentrasi 2 mg/100 mL, 4 mg/100 mL, 6 mg/100 mL, 8 mg/100 mL, dan 10 mg/100 mL. Masing-masing larutan standar glukosa yang dihasilkan dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan blanko dan sampel masing-masing juga dipipet 1 mL lalu ditambahkan 1 mL reagen Nelson, kemudian ditutup dengan kertas aluminium foil, dikocok, dan dipanaskan selama 10 menit dalam penangas air, lalu tabung reaksi segera didinginkan. Setelah dingin, ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL larutan Arseno molibdat, lalu ditutup dengan kertas aluminium foil, dikocok dan dipanaskan kembali selama 10 menit di dalam penangas air, kemudian ditambahkan 7 mL aquades dan dikocok. Pengukuran absorbansi larutan standar glukosa dilakukan pada $\lambda = 710$ nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva larutan standar glukosa dibuat dengan mengplotkan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansi glukosa.

Kadar glukosa sampel ditentukan berdasarkan persamaan larutan standar glukosa. Aktivitas enzim amilase dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas Enzim } \left(\frac{U}{mL} \right) = \frac{[\text{glukosa}]}{Mr \text{ Glukosa}} \times \frac{Fp}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{substrat}}}{t}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

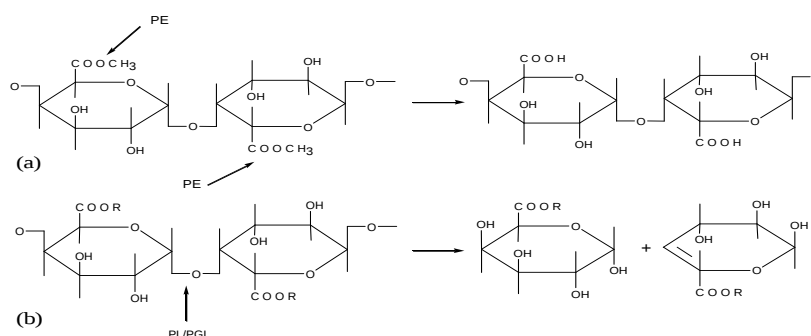
Pengaruh pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang Terhadap Kadar Pektin

Berdasarkan Tabel 1. dapat dijelaskan bahwa variasi pH dan lama perebusan tidak mengakibatkan perubahan secara signifikan terhadap kadar pektin, namun secara umum kenaikan kadar pektin terjadi saat kenaikan pH dan penurunan lama perebusan. Hal ini disebabkan karena proses perebusan mengakibatkan hidrolisis protopektin pada *middle lamella* menjadi asam pektinat yang akan mengalami degradasi β pada rantai galakturonannya. Protopektin yang terdegradasi menjadi pektin meningkatkan kelarutan senyawa pektat didalam air rebusan, membentuk koloid sehingga sayur menjadi lunak saat direbus. Reaksi polimerisasi β dapat diperhatikan pada Gambar 2.

Tabel 1. Pengaruh lama perebusan kacang panjang terhadap nilai rerata kadar pektin

Perlakuan		Lama Perebusan (%)				Nilai Signifikan	
pH (%)	7	7,399 ^a	6,999 ^{bf}	6,932 ^{ace}	7,432 ^c	Rerata	F = 9,703 P = 0,007
	3	7,032 ^{ac}	6,066 ^d	6,032 ^e	6,166 ^{fd}	6,449	
	Rerata	7,215	6,749	6,732	6,583		
Nilai Signifikan		F = 11,990 P = 0,000				F _{gab} = 0,213 P _{gab} = 0,886 R ² = 0,743	

Keterangan:

Hasil uji lanjut Mann Whitney; huruf berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$).Gambar 1. (a) reaksi deesterifikasi, PE= pektinasterase; (b) reaksi degradasi eliminasi β , R=H atau CH_3 [15]

Pengaruh pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang Terhadap Kadar Hemiselulosa

Berdasarkan Tabel 2 bahwa kadar hemiselulosa kacang panjang yang sudah diberi perlakuan pH dan lama perebusan tidak jauh berbeda antar perlakuan. Hal ini disebabkan karena ikatan yang stabil terjadi pada hemiselulosa dengan lignin [16], sehingga butuh waktu yang lebih lama untuk dapat melepaskan ikatan yang stabil tersebut. Adanya ikatan lignin dengan hemiselulosa akan mempersulit perubahan kadar hemiselulosa selama pemanasan dan penurunan kadar pentosa yang merupakan bagian dari hemiselulosa akan terjadi setelah 2

jam pemasakan dalam air suhu 100°C [17]. Secara umum terlihat bahwa semakin rendah nilai pH kadar hemiselulosa semakin kecil. Hal ini menunjukkan hidrolisis glukosa membutuhkan larutan yang lebih asam dan suhu pemanasan yang lebih tinggi. Hidrolisis hemiselulosa akan terjadi jika dilakukan dengan asam sulfat dan suhu pemanasan 121°C . Selain itu hemiselulosa juga mempunyai kemampuan kuat dalam mengikat molekul air. Molekul air yang terikat pada hemiselulosa merupakan penghalang bagi afinitas asam (H^+), terutama asam-asam organik yang kemampuan ionisasinya lemah [18].

Tabel 2. Pengaruh pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap kadar hemiselulosa

Perlakuan		Lama Perebusan (%)				Nilai Signifikan	
pH (%)	7	23,833 ^a	22,833 ^{ab}	21,367 ^{ab}	26,9 ^{ab}	Rerata	F = 13,701 P = 0,002
	3	21,133 ^b	20,733 ^{cb}	20,233 ^{db}	21,800 ^{eb}	20,975	
	Rerata	22,483	21,783	21,584	23,566		
Nilai Signifikan		F = 0,837 P = 0,493				F _{gab} = 0,757 P _{gab} = 0,534 R ² = 0,536	

Keterangan:

Hasil uji lanjut LSD; huruf berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$).

Pengaruh pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang Terhadap Kadar Lignin

Pada Tabel 3 secara umum terjadi peningkatan kadar lignin pada penurunan pH dan peningkatan lama perebusan. Hal ini disebabkan karena terbentuknya “benda

lignin” yang terukur sebagai lignin. Benda lignin terbentuk akibat adanya polimer hasil reaksi pencoklatan non-enzimatis antara protein dengan gula dalam residu lignin selama pemasakan [19].

Tabel 3. Pengaruh pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap kadar lignin

Perlakuan		Lama Perebusan (%)				Nilai Signifikan
pH (%)	7	7,762 ^a	7,000 ^a	7,095 ^a	9,857 ^b	Rerata F = 8,121 P = 0,012
	3	6,286 ^a	6,952 ^a	7,19 ^a	6,81 ^a	6,809
	Rerata	7,024	6,976	7,143	8,334	
Nilai Signifikan				F = 2,712 P = 0,080		F _{gab} = 3,496 P _{gab} = 0,040 R ² = 0,626

Keterangan:

Hasil uji lanjut LSD; huruf berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$).

Pengaruh pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang Terhadap Kadar Selulosa

Berdasarkan Tabel 4 dapat dijelaskan bahwa interaksi pH dan lama perebusan. Peningkatan lama perebusan dengan medium pH 7 maupun 3 terjadi peningkatan kadar selulosa. Meskipun tidak memberikan pengaruh, namun terjadi kenaikan kadar selulosa. Perubahan ini disebabkan karena selama proses perebusan terjadi kerusakan dinding sel, pecahnya *middle lamella* dan gelatinisasi pati. Sampel kering yang telah mengalami proses pengering-bekuan dan penyimpanan pati gelatinisasi di dalam lemari es ini menyebabkan terbentuknya pati tidak tercerna (*resistant starch*) yang bersifat tidak larut dan sulit didegradasi oleh enzim amilase.

Pembentukan pati tak tercerna ini terukur sebagai selulosa.

Secara umum terlihat bahwa semakin rendah nilai pH kadar hemiselulosa semakin kecil. Hal ini menunjukkan hidrolisis glukosa membutuhkan larutan yang lebih asam dan suhu pemanasan yang lebih tinggi. Hidrolisis hemiselulosa akan terjadi jika dilakukan dengan asam sulfat dan suhu pemanasan 121°C. Selain itu hemiselulosa juga mempunyai kemampuan kuat dalam mengikat molekul air. Molekul air yang terikat pada hemiselulosa merupakan penghalang bagi afinitas asam (H^+), terutama asam-asam organik yang kemampuan ionisasinya lemah [18].

Tabel 4. Pengaruh pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap kadar selulosa

Perlakuan		Lama Perebusan (%)				Nilai Signifikan
pH (%)	7	18,238 ^a	24,467 ^{bd}	30,405 ^{ce}	30,11 ^{cd}	Rerata F = 1,062 P = 0,318
	3	22,948 ^{ab}	26,748 ^{eb}	28,41 ^{fb}	30,69 ^g	27,199
	Rerata	20,593	25,607	29,407	30,4	
Nilai Signifikan				F = 10,813 P = 0,000		F _{gab} = 1,090 P _{gab} = 0,382 R ² = 0,697

Keterangan:

Hasil uji lanjut LSD; huruf berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perebusan dengan pH 3 memiliki kadar selulosa yang lebih tinggi daripada pH 7. Pada perebusan dengan pH asam akan mempermudah proses denaturasi protein sehingga akan mempercepat kerusakan

dinding sel yang menyebabkan terbentuknya pati tak tercerna. Perubahan pada dinding sel dan pembentukan pati tak tercerna pada pH 3 lebih besar dari pada pH 7 sehingga kadar selulosa yang terukur untuk pH 3 lebih besar daripada pH 7

Pengaruh pH dan Lama Perebusan Kacang Panjang Terhadap Aktivitas Enzim Amilase Duodenum dan Pankreas Hewan Coba

Pada penelitian ini, pengaruh pH dan lama perebusan kacang panjang terhadap aktivitas enzim amilase diperoleh berdasarkan jumlah glukosa yang terbentuk permenit. Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa absorbansi yang akan dikonversikan menjadi konsentrasi glukosa melalui kurva standar glukosa kemudian dihitung aktivitas enzim amilase

Glukosa yang terbentuk berasal dari hasil hidrolisis pati yang dapat diketahui konsentrasinya dari hasil reaksi glukosa (gula reduksi) dengan Cu^{2+} . Penentuan gula reduksi dilakukan dengan metode Somogyi-Nelson, dimana prinsip dasar metode tersebut adalah reduksi kupri sulfat dari larutan Somogyi-Nelson oleh glukosa dalam suasana basa menghasilkan Cu^+ (Cu_2O) berupa endapan merah bata, reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Pada Tabel 5 menunjukkan aktivitas enzim amilase duodenum dan pankreas pada hewan coba perlakuan pakan standar lebih tinggi dibandingkan dengan pakan perlakuan pH dan lama perebusan kecuali pada perlakuan pH 7 lama perebusan 35 menit. Hal ini menunjukkan bahwa pada diet tinggi serat pangan menyebabkan penurunan aktivitas enzim amilase duodenum maupun pankreas, namun pada perlakuan pH 7 dan lama perebusan 35 menit dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase. Penurunan aktivitas enzim amilase disebabkan karena adanya hambatan serat pangan terhadap aktivitas enzim. Penurunan aktivitas enzim pada diet tinggi serat pangan diduga disebabkan karena adanya pengikatan (interaksi) oleh serat pangan, akan tetapi mekanismenya tidak sama seperti halnya inhibitor, diduga serat pangan hanya berinteraksi dengan enzim, sedangkan enzim tersebut tetap aktif, namun aktivitasnya menurun [21].

Berdasarkan Tabel 4.5 menunjukkan semakin lama perebusan kacang panjang maka semakin tinggi aktivitas enzim amilase. Hal ini dikarenakan berkurangnya efek serat pangan terhadap aktivitas enzim amilase yang disebabkan oleh kadar komponen serat pangan juga berkurang seiring dengan

semakin lamanya perebusan kacang panjang. Peningkatan lama perebusan dimungkinkan akan mengakibatkan pemutusan ikatan hidrogen maupun perubahan ikatan glikosidik, hal ini mengakibatkan penurunan interaksi protein enzim dan polisakarida serat pangan, atau penurunan hambatan efek serat pangan terhadap aktivitas enzim [4].

Tabel 5. Pengaruh pH dan lama perebusan terhadap aktivitas enzim amilase duodenum dan pankreas hewan coba

Perlakuan		Aktivitas amilase duodenum (U/mL)	Aktivitas amilase pankreas (U/mL)
pH	Lama Perebusan (menit)		
7	0	0,0044 ^a	0,0140 ^a
7	5	0,0094 ^b	0,0298 ^{bc}
7	20	0,0147 ^c	0,0395 ^{cd}
7	35	0,0288 ^d	0,0445 ^{dfg}
3	0	0,0062 ^{ab}	0,0189 ^{ab}
3	5	0,0072 ^{eb}	0,0239 ^{eb}
3	20	0,0101 ^{fb}	0,0369 ^{fb}
3	35	0,0119 ^{gb}	0,0363 ^{gbc}
Pakan Standar		0,0228 ^{hd}	0,0402 ^{hbd}
Nilai Signifikansi		$F_{\text{tab}} = 17,422$ $P_{\text{tab}} = 0,000$ $R^2 = 0,749$	$F_{\text{tab}} = 7,998$ $P_{\text{tab}} = 0,000$ $R^2 = 0,560$

Keterangan:

Hasil uji Mann Whitney; huruf berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$).

Pada penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik adalah pada pH 7 lama perebusan 35 menit dengan aktivitas enzim amilase yang lebih besar dari pakan standar dijelaskan dalam Tabel 4.5. Akan tetapi, selama proses perebusan perlu diperhatikan adanya komponen zat gizi lain serta terjadinya perubahan tekstur.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ternyata penurunan pH dan peningkatan lama perebusan tidak berpengaruh terhadap kadar pektin, hemiselulosa, dan selulosa, namun berpengaruh terhadap kadar lignin yakni meningkatkan kadar lignin. Ternyata penurunan pH dan peningkatan lama perebusan kacang dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase baik duodenum maupun pankreas hewan coba. Aktivitas enzim amilase duodenum maupun pankreas yang mendekati standar (terbaik) terdapat pada perlakuan pH 7 dan lama perebusan 35 menit yaitu untuk aktivitas enzim amilase

duodenum sebesar 0,0288 U/mL (pakan standar 0,0228 U/mL) sedangkan aktivitas enzim amilase pankreas sebesar 0,0445 U/ml (pakan standar 0,0402 U/mL).

DAFTAR PUSTAKA

1. Soesilawaty, Soesy Asiah. 2008. Perbandingan Pengaruh Pemberian Pektin Kulit Jeruk Bali (*Citrus grandis*) dan Kulit Pisang Ambon (*Musa spp.*) Terhadap Penurunan Kolesterol Darah Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi*.
2. Tensiska. 2008. *Serat Makanan*. <http://pustaka.unpad.ac.id> Diakses pada tanggal 11 September 2009.
3. Dreher, Marks L. 1987. *Handbook of Dietary Fiber*. Marcel Dekker .Inc: America.
4. Yuanita, Leny, Suzana Surodjo, Wiwik Yulastuti. 2010. Aktivitas Amilase, Lipase, dan Protease pada Diet Tinggi Serat Pangan: Variasi pH dan Lama Perebusan. *Jurnal Kimia*.
5. Yuanita, Leny. 2003. Pengaruh Derajat Keasaman dan Lama Perebusan terhadap Ketersediaan Hayati Fe: Pengikatan Fe oleh Makromolekul Serat Pangan Kacang Panjang (*Vigna sesquipedalis* (L) *Fruhw*). *Disertasi tidak dipublikasikan*. Surabaya: Pascasarjana Universitas Airlangga.
6. Hutagalung. 2004. *Karbohidrat*. Digitized by USU digital library: Sumatera Utara.
7. Muchtadi, Deddy. 1999. *Kajian Terhadap Serat Makanan dan Antioksidan dalam Berbagai Jenis Sayuran untuk Pencegahan Penyakit Degeneratif*. Hibah Bersaing Perguruan Tinggi Tahun 1998/1999. Bogor: Fakultas Teknik Pangan IPB.
8. Schlegel, H.G And Karin S. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Penerjemah Prof, Dr. R. M. Toedjo Baskoro. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
9. Inglett, George E and Falkehag, S. Ingermar. 1979. *Dietary Fibers Chemistry and Nutrition*. London: Academic Press
10. SNI. 2008. *Cara Uji Kadar Lignin- Metode Klason*, (online). <http://pustan.bpkimi.krmenperin.go.id/>, Diakses 15 Maret 2011.
11. Raharjo. 2009. *Petunjuk Praktikum Fisiologi Hewan*. Jurusan Biologi Fak. MIPA Universitas Negeri Surabaya.
12. Kusnadi. 2009. *Pemanfaatan Sampah Organik Sebagai Bahan Baku Produksi Bioetanol Sebagai Energi Alternatif*. Jakarta: Universitas Pendidikan Indonesia.
13. Hariyum, Angela. 1986. *Penentuan Kondisi Optimum dari Konsentrasi Sumber Karbon Glukosa, pH, dan Aerasi untuk Pertumbuhan Candida utilis R24 pada Pembuatan Protein Sel Tunggal*. Jakarta: Waca Utama Pramesti.
14. A, Feskaharny, dkk. 1999. *Aktivitas Glukoamilase dari Beberapa Jamur Tanah dengan Bahan Baku Tapioka*. ANDALAS No.28 Januari
15. Jayani, Ranveer Singh, et al. 2005. *Microbial Pectinolytic Enzymes: A review, Journal Process Biochemistry*. 40: 2931-2944
16. Abara. A.E et al. 2011. *Dietary Fiber Components of Four Common Nigerian Dioscorea Species*. *Journal of Nutrion*. 4: 383-387.
17. Passaribu, Vera Yanthi. 1986. *Pengaruh Cara dan Lama Pemasakan terhadap Komponen Dietary Fibre Sayuran Lokal* (Skripsi). Bogor: IPB.
18. Yuanita, Leny. 2006. *Pengaruh Kadar Pektat, Hemiselulosa, Lignin, dan Selulosa terhadap Presentase Fe terikat oleh Makromolekul Serat Pangan: Variasi pH dan Lama Perebusan*. *Indo J Chem*.
19. Lin, Wei Lei. 1986. *Effect of Cooking Methods on Dietary Fibre Content of Southern Pea*. Food and Nutrition.
20. Sudarmadji, Slamet, dkk. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
21. Muchtadi, Deddy. 2000. *Sayur-sayuran Sumber Serat dan Antioksidan : Mencegah Penyakit Degeneratif*. Bogor : Fateta Tek. Pangan & Gizi.