



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan Hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LPPM UNIVERSITAS HASANUDDIN
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10,
Tamalanrea, Makassar, 90245,
Indonesia

Untuk Invensi dengan Judul : PRODUKSI SIKLODEKSTRIN DARI TAPIOKA DENGAN
KOMBINASI REAKSI *DEBRANCHING* DAN SIKLISASI

Inventor : Prof. Dr. Ir. Amran Laga, M.S.
Dr. rer-nat Zainal, S.TP., M.Food Tech.

Tanggal Penerimaan : 17 Januari 2019

Nomor Paten : IDP000082509

Tanggal Pemberian : 12 Agustus 2022

Pelindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak tanggal penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA,


YASONNA H. LAOLY



(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(11) IDP000082509 B

(45) 12 Agustus 2022

(51) Klasifikasi IPC ⁴ : C 08B 37/16	(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Pemohonan Paten : LPPM UNIVERSITAS HASANUDIN Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Tamalanrea, Makassar, 90245, INDONESIA
(21) No. Pemohonan Paten : PID0019000365	(72) Nama Inventor : Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS, ID Dr. ren-nat Zainal, S.TP., M.Food Tech. ID
(22) Tanggal Penerimaan: 17 Januari 2019	(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten : Pemeriksa Paten : Ir. Alex Rahman Jumlah Klaim : 3
(30) Data Prioritas : (31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara	
(31) Tanggal Pengumuman: 26 Juli 2019	
(6) Dokumen Pembanding US 3.652.398 A	

Judul Inven: PRODUKSI SIKLODEKSTRIN DARI TAPIOKA DENGAN KOMBINASI REAKSI DEBRANCHING DAN SIKLISASI

Abstrak

Inven: ini berhubungan dengan suatu proses produksi siklodekstrin dan bahan baku tapioka menggunakan kombinasi enzim debranching dan siklisasi. Tapioka dengan kandungan amilopektin tinggi (83%) juga memiliki rantai percabangan yang tinggi. Aktifitas CGTase dalam pembentukan siklodekstrin tidak menyukai substrat amilopektin, tetapi lebih menyukai substrat amilosa sebagai komponen rantai lurus. Sehingga keberadaan amilopektin yang tinggi dalam tapioka akan menyulitkan reaksi pembentukan siklodekstrin oleh aktifitas CGTase. Olehnya itu pada inven: ini produksi siklodekstrin dilakukan dengan menggunakan kombinasi enzim pullulanase dan CGTase. Dimana enzim pullulanase berperan dalam reaksi pemotongan percabangan (debranching) amilopektin untuk menghasilkan rantai lurus (amilosa), sehingga CGTase lebih optimal dalam mengaktifasi reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin. Proses produksi siklodekstrin dan tapioka dengan penggunaan kombinasi reaksi debranching dan siklisasi dilakukan dengan dua metode, yakni (1) penggunaan pullulanase (debranching) dan CGTase (siklisasi) secara bertahap dengan menggunakan substrat tapioka 30% b/v diperoleh siklodekstrin sebesar 143,45 g/L dengan nilai konversi 47,82 %, dan (2) penggunaan pullulanase (debranching) dan CGTase (siklisasi) secara bersamaan dengan penggunaan substrat 30 % b/v dihasilkan siklodekstrin sebanyak 209,89 g/L dengan nilai konversi 69,96 %.





Deskripsi

PRODUKSI SIKLODEKSTRIN DARI TAPIOKA DENGAN KOMBINASI REAKSI *DEBRANCHING* DAN SIKLISASI

Bidang Teknik Invensi :

Invensi ini berhubungan dengan suatu proses produksi siklodekstrin dari bahan baku tapioka. Lebih khusus invensi dilakukan dengan kombinasi reaksi pemotongan rantai cabang (*debranching*) amilopektin dari aktivitas enzim pullulanase dan reaksi siklisasi oleh enzim CGTase.

Latar Belakang Invensi :

Siklodekstrin merupakan oligosakarida non-pereduksi produk modifikasi pati dengan struktur kimia berbentuk donat, yang terbentuk melalui proses siklisasi oleh aktivitas CGTase (Cyclodextrin glycosyl transferase). Struktur kimia siklodekstrin berbentuk donat tersebut, pada bagian rongga bersifat hidropobik (non-polar) sedangkan bagian permukaan luar bersifat hidrofilik. Bentuk dan sifat siklodekstrin tersebut menyebabkan dapat digunakan sebagai senyawa yang dapat membentuk kompleks inklusi dengan senyawa lain.

Siklodekstrin memiliki sifat yang unik, sehingga banyak digunakan dalam berbagai industri antara lain pada industri farmasi, kosmetika, makanan, flavour, pertanian dan kimia. Pada industri farmasi digunakan untuk perbaikan sifat fisik, kimia dan biologi dari obat-obatan. Pada industri pangan dan kosmetika digunakan sebagai antioksidan dan perbaikan tekstur serta stabilitas flavor produk. Dalam industri pertanian digunakan untuk meningkatkan kelarutan komponen kimia pestisida dan insektisida yang sulit larut dalam air. Kebutuhan berbagai industri atas siklodekstrin tersebut, masih sepenuhnya tergantung impor. Olehnya itu perlu upaya untuk memproduksi siklodekstrin dalam negeri dengan memanfaatkan bahan baku lokal dengan teknologi yang tepat dan efisien, yakni teknologi yang dapat diaplikasikan untuk mengkonversi pati lokal menjadi siklodekstrin.

Proses produksi siklodekstrin pada invensi sebelumnya, yakni "*Production of cyclodextrin* No paten US3425910" dilakukan dengan terlebih dahulu menghidrolisis pati secara parsial dengan cara menggunakan enzim α -amilase atau asam, lalu dikonversi menjadi siklodekstrin dengan aktifitas enzim siklodekstrin transferase.



konversi dilangsungkan pada suhu 50 °C dengan pH 7 selama 2 sampai 7 hari. Pada invensi lain "*Production of cyclodextrin from granular modified starches*" dengan nomor US3652398. Pada invensi ini produksi siklodekstrin dimulai dengan memodifikasi pati secara kimia dan/atau fisik dalam bentuk "*granular modified starch*".

5 Perlakuan pati granular yang digunakan adalah pati modifikasi asam, pati oksidasi, "*thin boiling starch*" dan dekstrin. Kemudian dilanjutkan dengan konversi menjadi siklodekstrin dengan aktifitas siklodekstrin glikosiltransferase dengan pengaturan pH antara 6,5 – 7,5, inkubasi dilakukan selama 4 – 7 hari. Kedua invensi tersebut memerlukan waktu produksi yang relatif lama (2-7 hari), sehingga perlu memodifikasi

10 pati bentuk lain sebelum proses pembentukan siklodekstrin, agar waktu reaksi dapat dipersingkat dengan produktivitas yang tinggi. Selain itu perlu memanfaatkan sumber pati lokal seperti tapioka sebagai substrat untuk produksi siklodekstrin.

Tapioka merupakan sumber pati yang potensial digunakan sebagai substrat untuk produksi siklodekstrin tetapi mengandung komponen amilopektin relatif tinggi yakni 83

15 %, sehingga memiliki struktur molekul yang bercabang. Dalam reaksi pembentukan siklodekstrin, aktivitas enzim CGTase sangat dipengaruhi oleh struktur molekul substrat yang digunakan. Enzim CGTase dalam aktifitas reaksinya lebih menyukai substrat dengan struktur molekul pati rantai lurus dari pada struktur molekul pati rantai bercabang. Olehnya itu, tapioka dengan kandungan amilopektin yang tinggi dengan

20 rantai cabang yang banyak serta viskositas pasta yang tinggi sulit untuk dikonversi menjadi siklodekstrin. Sehingga pemanfaatan tapioka sebagai substrat untuk produksi siklodekstrin perlu dilakukan modifikasi terlebih dahulu.

Pada invensi sebelumnya "*Produksi siklodekstrin dari substrat pati dengan tahap pemisahan aseptor yang terdapat pada hidrolisat pati untuk meningkatkan produktivitas siklodekstrin*" dengan nomor ID P0025456, modifikasi pati dilakukan dengan menggunakan enzim α -amilase. Penggunaan enzim α -amilase pada proses modifikasi tersebut berdampak pada terbentuknya aseptor yang dapat menghambat reaksi pembentukan siklodekstrin. Sehingga pada invensi tersebut dilakukan pemisahan aseptor menggunakan pelarut etanol sebelum reaksi pembentukan siklodekstrin dilangsungkan.

25

30 Terbentuknya aseptor pada proses modifikasi pati menggunakan α -amilase, karena aktifitas spesifik dari enzim tersebut memotong secara acak rantai pati, sehingga dihasilkan sejumlah rantai pendek seperti glukosa, maltose dan maltotriosa yang bersifat sebagai aseptor.



Solusi yang dapat dilakukan agar tapioka dapat digunakan sebagai substrat untuk produksi siklodekstrin dengan produktivitas yang tinggi, yakni rantai-rantai cabang amilopektin perlu dipotong, sehingga struktur pati yang umumnya dalam struktur rantai bercabang diubah menjadi struktur rantai lurus. Kondisi tersebut akan lebih mudah dikatalisis oleh enzim CGTase menjadi siklodekstrin. Pemotongan rantai cabang amilopektin tapioka dilakukan dengan menggunakan enzim pullulanase. Enzim pullulanase (pullulan 6-glukanohidrolase, EC.3.2.1.41) adalah enzim yang spesifik memotong ikatan α -1,6 D-glikosidik sebagai titik percabangan yang terdapat pada amilopektin (pati), glikogen dan pullulan.

Uraian Singkat Invensi

Invensi bertujuan untuk memodifikasi tapioka dengan pemotongan rantai cabang amilopektin oleh pullulanase agar dihasilkan komponen rantai lurus, sehingga reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin oleh CGTase dapat berlangsung secara optimal. Proses penggunaan kedua enzim tersebut dilakukan dengan dua metode, yakni (1) penggunaan pullulanase dan CGTase secara bertahap, dan (2) penggunaan pullulanase dan CGTase secara bersamaan.

Penggunaan pullulanase dan CGTase secara bertahap dimaksudkan agar terjadi pemotongan rantai cabang amilopektin sebelum penambahan enzim CGTase untuk proses siklisasi membentuk siklodekstrin. Olehnya itu pada metode penggunaan enzim secara bertahap, produk debranching pullulanase digunakan sebagai substrat pada tahap berikutnya untuk pembentukan siklodekstrin. Sedangkan pada penggunaan pullulanase dan CGTase secara bersamaan dimaksudkan agar terjadi reaksi secara simultan, yakni hasil debranching dari pullulanase langsung dikonversi menjadi siklodekstrin oleh CGTase.

Uraian Lengkap Invensi

A. Pembentukan Siklodekstrin yang Diawali dengan Reaksi Debranching oleh Pullulanase

Penentuan konsentrasi enzim dan lama reaksi debranching dimulai dengan membuat suspensi tapioka pada konsentrasi 40 % b/v, lalu ditambahkan ion Ca^{2+} (CaCl_2) sebanyak 12 ppm dan keasaman diatur pada pH 5,0. Suspensi dibagi menjadi 5 bagian,

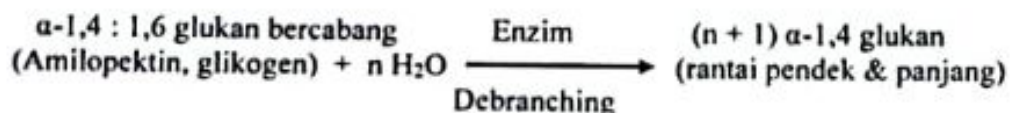


5 lalu masing-masing ditambahkan pullulanase sebanyak 5, 10, 15, 20, dan 25 (unit/gram substrat). Suspensi dipanaskan atau digelatinisasi sambil diaduk hingga mencapai suhu 75 °C, kemudian suhu diturunkan dengan cepat pada suhu 50 °C. Reaksi dipertahankan pada suhu 50 °C selama 5 jam dan dilakukan pengambilan sampel setiap selang waktu 1 jam.

10 Hasil analisa amilosa (rantai lurus) selama reaksi debranching berlangsung, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim yang digunakan (5-25 unit/gram) maka kadar amilosa semakin meningkat. Penggunaan pullulanase konsentrasi 5 unit/gram perolehan rantai lurus masih relatif kecil dengan rata-rata 64,7 % selama reaksi debranching (1-5 jam). Pada peningkatan konsentrasi enzim lebih lanjut 10, 15, 20 dan 25 unit menunjukkan peningkatan perolehan rantai lurus, yakni masing-masing sebesar 77,5 %, 88,2 %, 88,3 % dan 91,5 %. Pengaruh lama reaksi juga menunjukkan peningkatan lama reaksi dari 1, 2, 3, 4 dan 5 jam cenderung meningkatkan produk rantai lurus masing-masing sebesar 77%, 78,2 % 81,5 %, 83,9 % dan 85,6 %. Enzim debranching merupakan enzim yang spesifik memotong pada ikatan α -1.6 D-glikosidik yang terdapat pada amilopektin (pati), glikogen dan pullulan.

15 Perolehan produk rantai lurus (amilosa) dari interaksi perlakuan konsentrasi enzim dengan lama reaksi, menunjukkan perlakuan yang optimal pada pemakaian konsentrasi enzim sebesar 15 unit/gram dengan lama reaksi 3 jam dan konsentrasi enzim 20 unit/gram dengan lama reaksi 1 jam. Produk rantai lurus dari kedua kombinasi perlakuan tersebut adalah masing-masing sebesar 84 % dan 83,5 %. Tingkat pemotongan rantai cabang tersebut menyisahkan amilopektin sebesar 16 % dan 16,5 %. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat pemotongan rantai cabang amilopektin masing-masing sebesar 80 % dan 79,37 % dari kadar amilopektin awal sebesar 80 % sebelum proses debranching.

25 Produk hasil reaksi debranching komponen amilopektin dari aktivitas pullulanase adalah komponen rantai lurus (amilosa). Enzim debranching menghidrolisis ikatan α -1.6 glikosidik pada pati (amilopektin) atau glikogen dan menghasilkan komponen rantai lurus amilosa, seperti pada reaksi berikut:





Komponen amilosa, merupakan polimer yang tersusun dari monomer glukosa, antara satu unit glukosa dengan glukosa lainnya dihubungkan oleh ikatan α -1,4 dengan membentuk rantai lurus. Sedangkan komponen amilopektin memiliki struktur bercabang pada ikatan α -1,6 D glikosidik, rantai cabang tersebut panjang rantai sekitar 20-25 unit glukosa, antara glukosa satu dengan yang lainnya dihubungkan oleh ikatan α -1,4 D glikosidik.

Penentuan lama reaksi dalam pembentukan siklodekstrin dengan menggunakan rantai lurus (produk debranching) sebagai substrat. Produk debranching tersebut dilarutkan pada konsentrasi 30 % b/v dan disuspensikan dalam buffer fosfat pH 6,0 (0,2 M) lalu ditambahkan CGTase 100 unit/gram substrat dan etanol 10 % (v/v). Penggunaan etanol tersebut untuk pencegahan reaksi umpan balik. Reaksi dilangsungkan dalam *shaker incubator* pada suhu 60 °C dengan kecepatan pengadukan 200 rpm selama 360 menit. Pengambilan sampel dilakukan pada setiap selang waktu 30 menit.

Penggunaan produk debranching sebagai substrat pada awal-awal reaksi hingga menit ke-90, menunjukkan pembentukan siklodekstrin yang masih relatif kecil, yakni 15,55 g/l. pada menit ke 30 dan 31,96 g/l. pada menit ke-90. Pada waktu yang bersamaan pembentukan gula pereduksi cukup besar, yakni 19,55 g/l. pada menit ke 30 dan 32,35 g/l. pada menit ke-60.

Fenomena ini diakibatkan oleh proses siklisasi pembentukan siklodekstrin dari unit-unit produk debranching dengan rantai molekul yang relatif pendek. Rata-rata panjang setiap rantai cabang amilopektin taploka sekitar 20-25 unit glukosa. Proses pembentukan β -siklodekstrin (7 unit glukosa) dari unit-unit rantai cabang tersebut akan mengalami proses siklisasi 2 hingga 3 kali, lalu menyisakan komponen rantai pendek yang tidak dapat tersiklisasi, komponen rantai pendek tersebut bersifat pereduksi. Akumulasi fragmen rantai pendek tersebut menyebabkan peningkatan gula pereduksi dalam medium reaksi.

Perolehan siklodekstrin setelah reaksi berlangsung 240 menit cenderung menurun, yakni pada menit ke-270 sebesar 141,65 g/l. dan menit ke-360 sebesar 138,77 g/l. Pada kondisi siklodekstrin cenderung menurun, gula pereduksi dan nilai konversi dalam keadaan stabil. Kecenderungan penurunan siklodekstrin setelah mencapai puncaknya pada menit ke-240, dapat disebabkan oleh terjadinya reaksi disproporsionasi sebelum reaksi siklisasi berlangsung. Hasil ini menunjukkan bahwa perolehan siklodekstrin tertinggi (143,45 g/l.) diperoleh pada lama reaksi 240 menit dengan nilai



konversi 47,81 % pada penggunaan substrat 30 % b/v. Oleh karena itu produksi siklodekstrin lebih lanjut akan digunakan lama reaksi 240 menit.

5 Penentuan konsentrasi substrat dalam produksi siklodekstrin dilakukan dengan menggunakan produk debranching sebagai substrat. Substrat tersebut diatur konsentrasinya masing-masing sebanyak 20, 25, 30, 35 dan 40 % b/v. Substrat disuspensikan dalam buffer fosfat pH 6,0 (0,2 M), lalu ditambahkan CGTase 100 unit/gram substrat dan etanol 10 % v/v. Reaksi dilangsungkan dalam *shaker incubator* pada suhu 60 °C dengan kecepatan pengadukan 200 rpm. Lama reaksi yang digunakan adalah lama reaksi terbaik yang diperoleh sebelumnya yakni 240 menit.

10 Hasil analisa siklodekstrin dengan variasi penggunaan konsentrasi substrat, menunjukkan pada peningkatan konsentrasi substrat perolehan siklodekstrin cenderung meningkat, kecuali pada pemakaian konsentrasi 40 % (b/v) lebih rendah dibandingkan dengan pemakaian konsentrasi substrat 35 % (b/v). Demikian pula halnya dengan nilai konversi menunjukkan pola yang sama dengan perolehan siklodekstrin. Perolehan
15 siklodekstrin tertinggi (154,28 g/L) diperoleh pada perlakuan konsentrasi substrat 35 % (b/v) dengan nilai konversi sebesar 44,08 %. Sedangkan nilai konversi tertinggi (47,82 %) diperoleh pada perlakuan konsentrasi substrat 30 % (b/v) dengan perolehan siklodekstrin sebesar 143,45 g/L. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan produk debranching sebagai substrat optimal pada 30 % (b/v) dan penggunaan maksimal pada
20 konsentrasi 35 % (b/v).

Penggunaan konsentrasi substrat yang lebih tinggi (40 % b/v) perolehan siklodekstrin semakin menurun. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi substrat di atas 35 % b/v tidak efisien digunakan. Fenomena ini menunjukkan bahwa konsentrasi substrat di atas 35 % merupakan kondisi terjadinya penjenahan enzim, yakni seluruh sisi aktif enzim berikatan dengan substrat. Akibatnya, semua molekul enzim membentuk ikatan kompleks dengan substrat, sehingga kecepatan reaksi menjadi lebih lama. Faktor lain juga dapat disebabkan karena terjadinya peningkatan viskositas pasta dan gula pereduksi. Peningkatan viskositas pasta akan menghambat interaksi antara enzim dengan substrat, sehingga reaksi siklisasi menjadi
25 terhambat.
30



B. Produksi Siklodekstrin dengan Penggunaan Enzim Pullulanase dan CGTase secara Bersamaan

Dalam proses katalisis pemutusan rantai cabang amilopektin, pullulanase optimal bekerja pada suhu 50 °C, sedangkan aktivitas optimal CGTase dalam pembentukan siklodekstrin adalah pada suhu 60 °C. Oleh karena itu dalam penggunaan enzim secara
5 bersamaan untuk mengkonversi tapioka menjadi siklodekstrin, perlu ditentukan suhu penggabungan kedua enzim dan lama reaksi yang optimal untuk menghasilkan siklodekstrin yang maksimal.

Suhu reaksi yang digunakan pada pencampuran kedua enzim tersebut adalah 50, 55
10 dan 60 °C. Masing-masing suhu reaksi tersebut digunakan untuk menentukan lama reaksi yang optimal dalam pembentukan siklodekstrin. Substrat tapioka yang digunakan untuk reaksi tersebut sebanyak 20 % b/v dengan mensuspensikan ke dalam buffer fosfat pH 6.0 (0,2 M). Lalu ditambahkan pullulanase dan CGTase masing-masing sebanyak 5 dan 10 unit/gram substrat. Selanjutnya suspensi tapioka dipanaskan hingga mencapai
15 suhu 75 °C. Sebelum penambahan enzim yang ke-2, suhu medium diturunkan, hingga sama dengan suhu reaksi yang diperlukan untuk inkubasi. Substrat ditambahkan pullulanase sebanyak 10 – 20 unit/gram dan secara bersamaan ditambahkan CGTase 90 unit/gram substrat dan etanol 10 % (v/v) untuk pencegahan reaksi umpan balik. Reaksi dilakukan selama 360 menit dengan pengambilan sampel setiap 30 menit.

Hasil analisa pada perlakuan suhu 50, 55 dan 60 °C menunjukkan bahwa perolehan siklodekstrin lebih maksimal pada perlakuan suhu 60 °C dibandingkan dengan perlakuan suhu 50 dan 55 °C. Rendahnya perolehan siklodekstrin pada perlakuan suhu reaksi 50 dan 55 °C, menunjukkan bahwa kendatipun rantai cabang amilopektin telah diputus, akan tetapi CGTase tidak berada pada kondisi suhu optimal, sehingga aktivitas siklisasi
25 pembentukan siklodekstrin juga tidak optimal.

Perlakuan suhu reaksi 60 °C dengan substrat tapioka sebanyak 20 % b/v, menunjukkan aktivitas pembentukan siklodekstrin berlangsung secara optimal. Lama reaksi optimal untuk menghasilkan siklodekstrin adalah 210 menit dengan nilai sebesar 140,20 g/L (konversi 70.10 % dari substrat yang digunakan). Tingginya perolehan
30 siklodekstrin pada perlakuan suhu tersebut karena reaksi berada pada kondisi yang optimal, yakni suhu 60 °C dan ditunjang oleh kondisi substrat dalam bentuk rantai lurus, sehingga mudah mengalami proses siklisasi.

Penggunaan pullulanase secara bersamaan dengan CGTase dalam substrat tapioka, komponen amilopektin tapioka dikonversi menjadi rantai lurus (amilosa)



melalui pemutusan rantai cabang amilopektin. Komponen rantai lurus yang terbentuk akan lebih mudah dioksidasi oleh Cl_2 menjadi siklodekstrin. Amilopektin merupakan polimer yang terusun dari unit glukosa dengan struktur bercabang. Rantai dasarnya adalah konformasi antara glukosa dengan ikatan α -1,4 dengan titik percabangan pada ikatan α -1,6 dan rata-rata panjang setiap rantai cabang sekitar 20-25 unit glukosa.

Pembentukan siklodekstrin pada suhu 60°C merupakan kondisi terbaik yang diperoleh dengan lama reaksi 240 menit (4 jam) dengan perolehan siklodekstrin 140,20 g/l, nilai konversi 70,10 %. Lama reaksi tersebut lebih singkat dibanding produksi siklodekstrin menggunakan hidroksit tapioka dengan proses minimalisasi asptor, yakni 360 menit (4 jam 30 menit) (P002002715). Lama reaksi tersebut jauh lebih singkat dibanding dengan proses produksi siklodekstrin dengan nomor paten US 5433040 dan US 5653998 yakni 3-7 hari.

Suhu dan lama reaksi terbaik yang diperoleh yakni 60°C dengan lama reaksi 240 menit (4 jam) digunakan lebih lanjut untuk penentuan konsentrasi substrat yang optimal dalam menghasilkan siklodekstrin. Penelitian dilakukan dengan membuat susunan taptoka dengan variasi konsentrasi 20, 25, 30, 35 dan 40 % b/v. Prosedur penyajian substrat sama yang dilakukan pada penelitian tahap sebelumnya.

Penggunaan konsentrasi substrat yang semakin tinggi diikuti dengan peningkatan perolehan siklodekstrin, tetapi pada peningkatan konsentrasi substrat lebih lanjut (40 % b/v) perolehan siklodekstrin kembali menurun. Siklodekstrin tertinggi diperoleh pada perlakuan 35 % (213,04 g/l). Akan tetapi nilai konversi pembentukan siklodekstrin tertinggi diperoleh pada penggunaan substrat 30 % b/v yakni 69,96 %. Perolehan siklodekstrin pada laral konsentrasi tersebut menunjukkan hasil yang lebih baik, dibandingkan dengan penggunaan pati jagung teralkilifibasi pada konsentrasi 30 % (b/v) yang dilaporkan Matteson (1991), yakni 146,5 g/l dengan nilai konversi sebesar 48,83 %. Demikian pula halnya nilai konversi 66 % yang diperoleh Blackwood dan Bucke (2000) pada penggunaan substrat 30 g/l dengan lama reaksi 24 jam.

Pembentukan siklodekstrin dengan nilai konversi yang relatif tinggi pada penggunaan substrat tapioka konsentrasi tinggi, menunjukkan bahwa pemakaian pullulanase sangat efektif. Pullulanase merupakan jenis enzim yang spesifik melakukan pemotongan rantai cabang pada ikatan α -1,6. Fraksi amilopektin tapioka selain menyebabkan viskositas pasta tinggi, juga mempunyai struktur ikatan α -1,6, sehingga



sulit dikonversi oleh CGTase menjadi siklodekstrin. Peranan pullulanase dalam pemotongan rantai cabang amilopektin adalah membentuk fraksi rantai lurus, agar memudahkan aktifitas CGTase membentuk siklodekstrin.

5 Penggunaan substrat dengan konsentrasi tinggi umumnya menunjukkan produktivitas siklodekstrin yang rendah. Hal tersebut dilaporkan Lee dan Kim (1991) pada penggunaan pati jagung tanpa likuifikasi dengan beberapa tingkat konsentrasi substrat (5 - 20 %) dihasilkan siklodekstrin maksimal (50 g/l) pada konsentrasi substrat 15 % dan 65 g/l (Lee dan Kim, 1992), serta konversi 40 % dari 15 % (b/v) pada penggunaan substrat terlikuifikasi (Matzuzawa *et al.*, 1975).

10 Perlakuan konsentrasi substrat 30 % b/v sebagai perlakuan terbaik yang diperoleh, dihasilkan siklodekstrin sebanyak 209,89 g/L (nilai konversi 69,96 %) dan gula pereduksi sebesar 36,24 g/L (12,08 %). Siklodekstrin yang dihasilkan adalah jenis β -siklodekstrin sebanyak 82,67 % dan α -siklodekstrin 17,33 %.

15

20

25

30

Klaim

1. Proses produksi siklodekstrin dari substrat tapioka dengan menggunakan kombinasi enzim pullulanase dan CGTase, dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:
 - a. penyiapan suspensi tapioka dalam air pada konsentrasi 40 % t/v, lalu kondisi reaksi diatur pada pH 5,0 dan penambahan ion Ca^{2+} sebanyak 13 ppm;
 - b. pemotongan rantal cabang amilopektin dengan menggunakan pullulanase sebanyak 5-25 unit/gram substrat dan lebih optimal pada pematangan 15-20 unit/gram substrat;
 - c. reaksi siklisasi menggunakan enzim CGTase sebanyak 100 unit/gram substrat dan penambahan etanol sebanyak 10% (v/v), substrat diatur pada konsentrasi 30-35 % t/v dengan keasaman pada pH 6,0;
 - d. reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin oleh CGTase dilangsungkan pada suhu 60 °C selama 360 menit;
 - e. pemanenan produk siklodekstrin
2. Proses produksi siklodekstrin dari substrat tapioka dengan menggunakan kombinasi enzim pullulanase dan CGTase sebagaimana pada klaim 1, dimana penggunaan enzim pullulanase dalam pemotongan rantal cabang amilopektin dilakukan pada reaksi tahap pertama selama 2-3 jam dengan suhu mencapai 75 °C, lalu diikuti dengan reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin oleh enzim CGTase.
3. Proses produksi siklodekstrin dari substrat tapioka dengan menggunakan kombinasi enzim pullulanase dan CGTase sebagaimana pada klaim 1, dimana penggunaan enzim pullulanase dan CGTase dalam reaksi pemotongan rantal cabang amilopektin dan reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin dilakukan secara bersamaan atau secara simultan pada suhu 60 °C selama 360 menit dengan lama reaksi optimal diperoleh selama 210 menit.

Abstrak**PRODUKSI SIKLODEKSTRIN DARI TAPIOKA DENGAN KOMBINASI REAKSI *DEBRANCHING* DAN SIKLISASI**

5
10
15
Invensi ini berhubungan dengan suatu proses produksi siklodekstrin dari bahan baku tapioka menggunakan kombinasi enzim *debranching* dan siklisasi. Tapioka dengan kandungan amilopektin tinggi (83%) juga memiliki rantai percabangan yang tinggi. Aktifitas CGTase dalam pembentukan siklodekstrin tidak menyukai substrat amilopektin, tetapi lebih menyukai substrat amilosa sebagai komponen rantai lurus. Sehingga keberadaan amilopektin yang tinggi dalam tapioka akan menyulitkan reaksi pembentukan siklodekstrin oleh aktifitas CGTase. Olehnya itu pada invensi ini produksi siklodekstrin dilakukan dengan menggunakan kombinasi enzim pullulanase dan CGTase. Dimana enzim pullulanase berperan dalam reaksi pemotongan percabangan (*debranching*) amilopektin untuk menghasilkan rantai lurus (amilosa), sehingga CGTase lebih optimal dalam mengaktivasi reaksi siklisasi pembentukan siklodekstrin.

20
25
30
Proses produksi siklodekstrin dari tapioka dengan penggunaan kombinasi reaksi *debranching* dan siklisasi, dilakukan dengan dua metode, yakni (1) penggunaan pullulanase (*debranching*) dan CGTase (siklisasi) secara bertahap dengan menggunakan substrat tapioka 30% b/v diperoleh siklodekstrin sebesar 143,45 g/L dengan nilai konversi 47,82 %, dan (2) penggunaan pullulanase (*debranching*) dan CGTase (siklisasi) secara bersamaan dengan penggunaan substrat 30 % b/v dihasilkan siklodekstrin sebanyak 209,89 g/L dengan nilai konversi 69,96 %.