

**PENGARUH KONSENTRASI ASAM SITRAT DAN DAYA ULTRASONIK
PADA PRODUKSI OLIGOSAKARIDA DARI BIJI SALACCA ZALACCA
DENGAN METODE ULTRASONIC ASSISTED ACID HYDROLYSIS
(UAAH)**

**EFFECT OF CITRIC ACID CONCENTRATION AND ULTRASONIC
POWER ON OLIGOSACCHARIDE PRODUCTION FROM SALACCA
ZALACCA SEEDS USING ULTRASONIC ASSISTED ACID HYDROLYSIS
(UAAH) METHOD**

Ashadi Sasongko^{1*}, Nurani Legahati²

^{1,2}Institut Teknologi Kalimantan, Kampus ITK Karang Joang, Balikpapan, Indonesia

*E-mail: ashadisasongko@lecturer.itk.ac.id

Diterima 15-10-2020	Diperbaiki 19-10-2020	Disetujui 7-12-2020
---------------------	-----------------------	---------------------

ABSTRAK

Salak (*Salacca zalacca*) merupakan salah satu buah yang dapat tumbuh pada wilayah tropis, seperti Indonesia. Pemanfaatan buah salak menghasilkan limbah berupa biji sebesar 25-30% persen dari buah salak utuh. Sekitar 40% kandungan dari berat kering biji salak adalah polisakarida sehingga berpotensi sebagai bahan baku pembuatan oligosakarida melalui proses hidrolisis. Hidrolisis kimiawi polisakarida dapat dilakukan secara terkontrol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh konsentrasi asam sitrat dan daya ultrasonik untuk hidrolisis, dan menganalisis produk hidrolisis menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Perendaman biji salak menggunakan asam asetat 0,5 M sedangkan hidrolisis dilakukan dengan menggunakan asam sitrat dengan variasi konsentrasi 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, dan 1,5 M serta variasi daya 30, 40, 50, 60 dan 70 watt dengan waktu 2,5 menit. Hasil hidrolisis menunjukkan nilai Rf yang beragam pada hasil analisis menggunakan metode KLT. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai Rf lebih kecil dari 0,57 (Rf maltosa) yang mengindikasikan terbentuknya oligosakarida. Hasil percobaan juga menunjukkan bahwa pada daya yang besar, semakin meningkat konsentrasi asam sitrat maka hidrolisis mengarah pada pembentukan monosakarida.

Kata kunci: Biji salak, ultrasonik, hidrolisis asam, oligosakarida

ABSTRACT

Salak (*Salacca zalacca*) is a fruit that can grow in tropical areas, such as Indonesia. Utilization of salak fruit produces waste in the form of seeds about 25-30% percent of the whole fruit. About 40% of the content of the dry weight of salak seeds is a polysaccharide, so that it has the potential as a raw material for making oligosaccharides through the hydrolysis process. Chemical hydrolysis of polysaccharide can be carried out in a controlled manner. This study aims to determine the effect of citric acid concentration and ultrasonic power for hydrolysis, and to analyze the hydrolysis product using the thin layer chromatography (TLC) method. The salak seeds were soaked with 0.5 M acetic acid, while hydrolysis was carried out using citric acid with various concentrations of 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, and 1.5 M and variations in power of 30, 40, 50, 60 and 70 watts for 2.5 minutes. The results of hydrolysis showed different Rf values in the analysis using the TLC method. The results obtained showed that the Rf value was less than 0.57 (Rf of maltose) which indicated the formation of oligosaccharides. The experimental results also show that at high power, the increasing the concentration of citric acid, the hydrolysis leads to the formation of monosaccharides.

Keywords: Salak seeds, ultrasonic, acid hydrolysis, oligosaccharides

PENDAHULUAN

Buah salak (*Salacca zalacca*) banyak tumbuh di wilayah tropis, seperti Malaysia dan Indonesia. Berdasarkan data BPS, pada tahun 2018 produksi buah salak di Indonesia mencapai 896.504 ton [1]. Kalimantan Timur merupakan salah satu daerah penghasil buah salak. Berdasarkan data Dinas Pertanian Provinsi Kalimantan Timur, tercatat luas perkebunan salak yang ada di Kelurahan Karang Joang Kota Balikpapan sebesar ±80 hektar, dan terdapat kurang lebih 40 kelompok tani dengan jumlah anggota mencapai 1500 orang. Panen buah salak dalam jumlah besar terjadi 4 kali musim dalam satu tahun. Meskipun demikian, setiap pekannya dapat terus dipanen walaupun tidak sebanyak ketika musim panen yang mencapai 5 kwintal per hektar [2].

Sekitar 25-30% dari berat buah salak adalah bijinya. Pada fraksi berat kering, terdapat karbohidrat 38,90%, lemak 0,48%, dan protein 4,22% [3]. Buah salak banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dan diolah menjadi beberapa produk yang dapat meningkatkan mutu jual produk berbasis salak, sedangkan bijinya kurang dimanfaatkan karena teksturnya yang sangat keras, sehingga sering dianggap sebagai limbah.

Limbah biji salak yang kaya akan serat pangan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai salah satu sumber alternatif yang lebih ekonomis dalam memproduksi oligosakarida. Oligosakarida diperoleh dari pemecahan polisakarida, di mana, oligosakarida merupakan polisakarida rantai pendek yang terdiri atas 2 sampai 10 monosakarida, baik monosakarida penyusunnya satu jenis (homo-oligosakarida) maupun beda jenis (hetero-oligosakarida) [4].

Oligosakarida banyak dimanfaatkan sebagai prebiotik. Prebiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang sulit atau tidak dapat dicerna, yang dapat menguntungkan organisme inang dengan menstimulasi secara selektif pertumbuhan dan aktivitas bakteri baik (probiotik) dalam usus besar. Oligosakarida dapat diproduksi melalui berbagai cara, antara lain melalui hidrolisis kimiawi polisakarida.

Hidrolisis kimiawi polisakarida dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa asam. Penggunaan asam perlu memperhatikan aspek *green chemistry*, terutama jika berkaitan dengan produk pangan. Asam-asam organik pada umumnya adalah asam lemah yang memiliki kemampuan hidrolisis lebih rendah jika dibandingkan dengan asam kuat anorganik.

Salah satu alternatif untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik. Metode ini memberikan kelebihan yaitu mempercepat waktu hidrolisis dengan menghasilkan rendemen yang sama dengan metode konvensional seperti pengadukan menggunakan *hot plate stirrer*.

Gelombang ultrasonik banyak digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam yang dikenal dengan istilah *ultrasound-assisted extraction* (UAE). Modifikasi metode ini untuk hidrolisis polisakarida menggunakan asam dapat disebut sebagai *ultrasound-assisted acid hydrolysis* (UAAH) [5].

Metode UAAH inilah yang digunakan dalam penelitian ini untuk menghasilkan oligosakarida. Analisis produk dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang signifikan tentang produksi oligosakarida dari limbah biji salak.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Beaker glass*, *ultrasonic bath*, dan *blender*. Selain itu, ada alat-alat lain seperti tabung reaksi, rak tabung, *stopwatch*, pelat *silica 60 F₂₅₄* (Merck art 20-20 cm) yang digunakan pada tahap analisis dengan metode KLT.

Bahan kimia yang dibutuhkan antara lain glukosa, maltosa, butanol, asam asetat, asam sitrat, difenilamin, anilin, asam fosfat, aseton, natrium karbonat, dan indikator pH universal.

Preparasi Serbuk Biji Salak

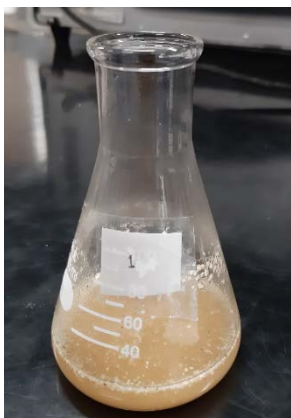
Biji salak direndam menggunakan asam asetat dengan konsentrasi 0,5 M dalam jangka waktu 24 jam. Kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 12 jam pada suhu 60 °C, lalu dihancurkan dengan *blender*. Serbuk biji salak yang telah dihasilkan, diayak untuk mendapat ukuran yang homogen (100 *mesh*). Serbuk biji salak digunakan untuk tahap berikutnya, yaitu tahap hidrolisis.



Gambar 1. Serbuk biji salak

Hidrolisis Serbuk Biji Salak

Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan pelarut asam. Asam yang digunakan adalah asam sitrat, masing-masing dengan konsentrasi 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, dan 1.5 M sebanyak 10 mL (Gambar 2). Massa serbuk yang digunakan sebesar 2 gram dengan durasi hidrolisis selama 2.5 menit.



Gambar 2. Sampel hidrolisis serbuk biji salak

Kondisi operasi yang dikendalikan dalam hidrolisis serbuk biji salak pada *ultrasonic bath* (Gambar 3) adalah sebagai berikut:

- Suhu sonikasi : 30°C
- Frekuensi *ultrasonic* : 40 kHz.
- Daya : 30, 40, 50, 60 dan 70 watt

Gambar 3. Proses hidrolisis dalam *ultrasonic bath*

Analisis menggunakan KLT

Profil oligosakarida hasil reaksi hidrolisis biji salak dapat analisis dengan metode KLT. Sampel sebanyak 5 μ L ditotolkan pada pelat KLT menggunakan pipa kapiler. Standard relatif yang digunakan adalah glukosa dan maltose sebagai representasi monosakarida dan disakarida. Pelat KLT kemudian dimasukkan dalam bejana KLT dengan eluen n-butanol: asam asetat:air yaitu 2:1:1. Reagen penampak, difenilamin-anilin-fosfat, disemprotkan untuk menampakkan spot-spot pada pelat KLT. Pelat KLT dipanaskan pada suhu 100 °C selama 10 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahap preparasi biji salak (Gambar 1) dilakukan proses perendaman selama 24 jam hingga biji salak menggunakan asam asetat yang bertujuan untuk melunakkan biji salak sehingga lebih mudah dipotong dan dihancurkan dengan blender. Pelunakkan ini disebabkan adanya penetrasi ion-ion H^+ yang dihasilkan oleh asam asetat ke dalam pori-pori biji salak sehingga terjadi hidrolisis sebagian polisakarida. Pengeringan serbuk biji salak dilakukan pada suhu $\leq 60^\circ\text{C}$ untuk menghindari kerusakan sakarida.

Hidrolisis polisakarida serbuk biji salak dilakukan menggunakan asam sitrat dengan konsentrasi 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, dan 1.5 M. Asam sitrat bertindak sebagai katalis yang berfungsi untuk meningkatkan keaktifan air, sehingga reaksi hidrolisis tersebut berjalan lebih cepat [6]. Setelah proses hidrolisis sampel serbuk biji salak, proses selanjutnya adalah penyaringan menggunakan kertas saring. Tujuan proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan antara residu padatan dengan larutan yang mengandung oligosakarida hasil

hidrolisis. Oligosakarida termasuk dalam golongan karbohidrat yang larut dalam air.

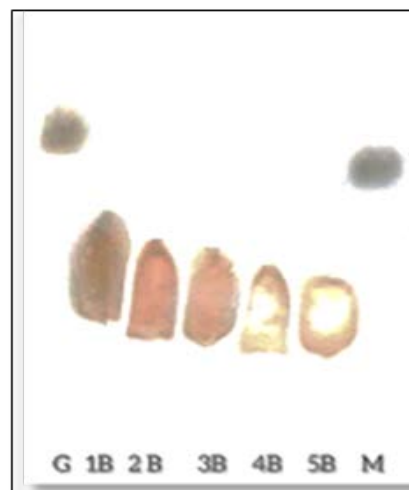
Setelah disaring, larutan sampel dinetralkan hingga pH mencapai 7 menggunakan natrium karbonat (Na_2CO_3) (Gambar 4). Natrium karbonat merupakan senyawaan garam yang bersifat basa. Tujuan dari penetralan menggunakan natrium karbonat adalah agar proses hidrolisis oleh asam sitrat berhenti. Jika hidrolisis oleh asam sitrat terus berjalan, oligosakarida akan terhidrolisis juga menghasilkan monosakarida.



Gambar 4. (kiri) Proses Penyaringan Larutan Hidrolisis Serbuk Biji salak; (kanan) pH Sampel setelah penetralan

Penentuan nilai Rf dapat dilakukan berdasarkan spot-spot yang terbentuk pada pelat KLT. Glukosa (G) dan maltosa (M) digunakan sebagai standard relatif, sebagai representasi dari monosakarida dan disakarida (Gambar 5). Nilai Rf merupakan perbandingan jarak spot senyawa dengan batas elusi pada pelat KLT. Rf hasil hidrolisis disajikan dalam bentuk rentang karena spot yang terbentuk cenderung memanjang atau berekor (*tailing*). Hal ini sangat dimungkinkan karena variasi oligosakarida yang terbentuk dalam satu sampel, dengan nilai kepolaran yang hampir sama.

Nilai Rf maltosa lebih rendah dibandingkan dengan Rf glukosa karena interaksi maltosa dengan silika pelat KLT lebih kuat. Pada penelitian ini, glukosa memiliki nilai Rf sebesar 0,68 sedangkan Rf maltosa sebesar 0,57. Rf maltosa dapat dijadikan standard relatif untuk memprediksi produk oligosakarida hasil hidrolisis. Spot dengan nilai Rf lebih besar dari Rf maltosa, dapat diduga kuat sebagai oligosakarida. Hasil hidrolisis memiliki nilai Rf yang cenderung semakin menurun seiring dengan naiknya konsentrasi asam sitrat.



Gambar 5. Hasil Analisis KLT pada 30 Watt dengan konsentrasi 0.5 – 1.5 M

Pada umumnya, katalis berperan penting dalam mempercepat proses hidrolisis oligosakarida. Namun, apabila jumlah katalis yang ditambahkan melebihi batas optimum, hal tersebut dapat menghambat reaksi pemutusan rantai. Hal ini dikarenakan katalis memenuhi ruang sehingga membatasi ruang gerak untuk bereaksi dengan substratnya.

Semakin panjang rantai oligosakarida, nilai Rf yang dihasilkan semakin menurun [7]. Hal ini disebabkan karena oligosakarida rantai panjang memiliki gugus hidroksil yang lebih banyak. Gugus hidroksil yang lebih banyak tersebut menyebabkan terbentuknya interaksi yang lebih kuat dengan silika pada pelat KLT, sehingga menyebabkan senyawa menjadi lebih polar pada pelat KLT dan menyebabkan larutan menjadi sulit naik. Pada rantai oligosakarida, gugus hidroksil lebih berpengaruh terhadap kepolaran dibandingkan rantai karbonnya.

Tabel 1 menampilkan nilai Rf spot-spot dari berbagai variasi hidrolisis menggunakan asam sitrat.

Tabel 1. Data Nilai Rf Hasil Hidrolisis

Daya (watt)	Konsentrasi asam Hidrolisis (M)				
	0.5 (1B)	0.75 (2B)	1.0 (3B)	1.25 (4B)	1.5 (5B)
30	0.23- 0.49	0.17- 0.41	0.14- 0.37	0.13- 0.34	0.11- 0.33
40	0.27- 0.54	0.20- 0.47	0.19- 0.44	0.17- 0.42	0.16- 0.37
50	0.29- 0.54	0.21- 0.47	0.20- 0.44	0.20- 0.44	0.19- 0.39
60	0.31- 0.61	0.23- 0.49	0.21- 0.47	0.21- 0.47	0.21- 0.47
70	0.31- 0.57	0.27- 0.54	0.23- 0.50	0.26- 0.53	0.26- 0.53

Energi yang dibawa oleh gelombang ultrasonik sebanding dengan kuadrat amplitudo. Amplitudo besar yang melewati medium dapat menyebabkan tekanan dan gaya geser oleh molekul pelarut. Kondisi ini dapat menghasilkan perubahan densitas dan modulus elastisitas secara lokal serta perpindahan massa antar fase meningkat sehingga rendemen meningkat pada waktu yang singkat [8]. Energi berbanding lurus dengan daya dan kuadrat amplitudo, sehingga diperkirakan daya dapat mempengaruhi proses hidrolisis pada biji salak.

Fenomena ini dapat dilihat pada Gambar 6, dimana pada nilai Rf pada daya 60-70 watt dengan konsentrasi 1 M-1,5 M menunjukkan nilai Rf yang lebih tinggi dibandingkan nilai Rf pada konsentrasi dibawah 1 M.



Gambar 6. Hasil Analisis KLT pada 70 Watt dengan konsentrasi 0.5 – 1.5 M

Peristiwa ini diperkirakan terjadi karena oligosakarida rantai panjang telah terhidrolisis sebagian menjadi oligosakarida dengan rantai yang lebih pendek atau menjadi monosakarida. Diduga kuat hal tersebut terjadi karena adanya kombinasi antara daya yang besar dan konsentrasi yang besar, sehingga reaksi pemutusan rantai menjadi lebih cepat dibandingkan proses sebelumnya.

Daya yang besar akan memberikan energi yang besar. Karena reaksi ionisasi asam lemah bersifat endotermis, energi yang besar dapat meningkatkan terjadinya peristiwa ionisasi pada molekul-molekul asam lemah dan membuat ion H^+ semakin banyak terbentuk. Selain itu, energi yang besar juga dapat meningkatkan energi kinetik pada molekul. Namun kondisi ini perlu dihindari dalam penelitian ini karena dapat mengurangi *yield* oligosakarida yang diperoleh.

KESIMPULAN

Pemanfaatan gelombang ultrasonik dan asam sitrat dalam hidrolisis polisakarida dari serbuk biji salak dapat menghasilkan oligosakarida, dengan waktu yang singkat dan kuantitas pelarut yang sedikit. Hasil hidrolisis yang telah diuji menggunakan KLT, menunjukkan bahwa daya yang besar dan konsentrasi asam yang tinggi dapat menyebabkan pembentukan monosakarida.

SARAN

Perlu dilakukannya analisis lebih lanjut menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk mendapatkan hasil pemisahan yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Laboratorium Teknik Kimia ITK yang telah menyediakan sarana dan prasarana selama melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Suhariyanto. "Statistik Tanaman Buah-Buahan dan Sayuran Tahunan". *Badan Pusat Statistika* (2018): 12
- [2] Dinas Pertanian Provinsi Kalimantan Timur. 2013. Data Kelompok Tani Tahun 2013. Pertanian Provinsi Kalimantan Timur. Kalimantan Timur.
- [3] Supriyadi, Suhardi, M. Suzuki, K. Yoshida, T. Muto, A. Fujita, dan N. Watanabe. "Changes in the Volatile Compounds and in the Chemical and Physical Properties of Snake Fruit (*Salacca Edulis* Reinw) cv. Pondoh During Maturation". *J Agric Food Chem*, 50.26 (2002): 7627-7633
- [4] Manning T, Gibson G.R., (2004). "Prebiotics: Best Practice and Research". *J Clinical Gastroenterol*, 18.12(2004): 287-298.
- [5] D. Santos, U. F. Silva, F. A. Duarte, C. A. Bizzi, E. M. M. Flores, P. A. Mello, "Ultrasound-Assisted Acid Hydrolysis of Cellulose to Chemical Building Blocks: Application to Furfural Synthesis", *Ultrason. Sonochem*, 40 (2018) : 1-88
- [6] Sylvia, N., Meriatna, dan Haslina. "Kinetika Hidrolisa Kulit Pisang Kepok menjadi Glukosa menggunakan Katalis

- Asam Klorida”. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4 (2015) : 51-65
- [7] Zhang, Z., Xie, J., Linhardt, R.J. “Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Glycosaminoglycan Oligosaccharides”. *Analytical Biochemistry*. (2007) : 118-120
- [8] Price Gj, White A, Clifton Aa. (1995). “The Effect of High Intensity Ultrasonic on Solid Polymer”. *Polymer*, 26 (1995): 4919-4925