

Potensi Pemanfaatan Asparaginase untuk Mengurangi Kadar Akrilamida pada Keripik Kentang dan Singkong

Potential Utilization of Asparaginase to Reduce Acrylamide Levels in Potato and Cassava Chips

Kezia Janice Harimadi¹, Milka¹, Warsono El Kiyat¹, dan Slamet Budijanto²

1Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Hayati,
Surya University, Banten 15810

2 Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680
Email : slamet.budijanto@gmail.com

Diterima : 7 Agustus 20

Revisi : 20 September 201

Disetujui : 15 Mei 2018

ABSTRAK

Akrilamida merupakan senyawa karsinogen yang terbentuk dalam proses pengolahan produk pangan tinggi pati pada suhu tinggi. Salah satu contoh produk pangan yang berpotensi mengandung akrilamida karena tingginya kandungan asparagin yang terdapat pada pati adalah produk keripik kentang dan singkong. Pembentukan akrilamida dipelopori oleh keberadaan L-asparagin (L-Asn), beserta adanya gula reduksi atau senyawa karbonil lainnya. Asparaginase merupakan sebuah enzim yang digunakan untuk menekan pembentukan akrilamida melalui pemecahan L-asparagin menjadi asam aspartat. Kentang dan singkong sebagai bahan baku pembuatan keripik direndam terlebih dahulu dalam larutan asparaginase sebelum proses penggorengan untuk meminimalisir kandungan asparagin. Asparaginase terbukti efektif dalam menurunkan kadar akrilamida pada produk keripik berbasis pati. Penggunaan asparaginase yang berlebihan dapat mengganggu kualitas organoleptik produk pangan akibat terbentuknya produk samping berupa amonia. Asparaginase dapat menjadi solusi bagi industri pangan dalam menghasilkan produk yang lebih sehat dengan kadar akrilamida rendah.

kata kunci: akrilamida, asparagin, enzim asparaginase, keripik kentang, keripik singkong

ABSTRACT

Acrylamide is a carcinogenic substance formed in starchy foods during high-temperature processes. Potato and cassava chips are food products that contain a high level of acrylamide due to it's high asparagine content within the starch. The formation of acrylamide needs L-Asparagine (L-Asp), reducing sugars, and carbonyl compounds as the precursor. Asparaginase is an enzyme that can be used to suppress the formation of acrylamide by converting L-asparagine to aspartic acid. Potato and cassava are being soaked in asparaginase solution to minimize the level of asparagine before frying process. Asparaginase is proven to have a high effectivity in reducing final acrylamide level in starch-based chips products. Excess use of asparaginase can interfere the organoleptic quality of the products due to the formation of ammonia. Asparaginase might be a solution for the food industry to produce healthier products with low acrylamide levels.

keywords: acrylamide, asparagine, asparaginase enzyme, potato chips, cassava chips

I. PENDAHULUAN

Kentang dan singkong merupakan komoditas yang berpotensi untuk dijadikan makanan pokok karena memiliki kandungan karbohidrat dan pati yang tinggi. Keduanya dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti di Indonesia. Produksi kentang di Indonesia setiap tahunnya meningkat hingga 16,3 persen (Kiloes, dkk., 2015) dan juga Indonesia termasuk tiga negara

penghasil singkong terbesar di dunia dengan volume produksi lebih dari 24 juta ton pada tahun 2015 dan diperkirakan sekitar 27 juta ton pada tahun 2016 (MMI, 2017). Salah satu bentuk olahan yang paling umum dari kentang dan singkong adalah olahan makanan ringan keripik. Angka konsumsi makanan ringan di dunia meningkat dari rata-rata 1,9 jenis per orang setiap harinya pada tahun 2010 menjadi

2,8 jenis per orang setiap hari pada tahun 2014 (Wyatt, 2014). Penjualan makanan ringan gurih meningkat sebanyak 1,1 persen pada tahun 2013, sedangkan makanan ringan manis mengalami penurunan sebanyak 2,1 persen (Sloan, 2015).

Kentang dan singkong mentah memiliki umur simpan yang singkat. Kentang mentah dapat bertahan dua minggu pada suhu ruang dan lebih baik dalam kondisi yang jauh dari sinar matahari, sementara singkong hanya dapat bertahan dalam jangka waktu dua hari sejak dipanen. Oleh karena itu, keduanya perlu diolah menjadi produk pangan yang memiliki umur simpan lebih lama. Pengolahan kentang dan singkong memiliki banyak keuntungan lain selain memperpanjang umur simpan, memudahkan transportasi dan pemasaran, menurunkan kandungan kimia dan mikrobiologi berbahaya di dalamnya, dan meningkatkan palatabilitas (Onyenwoke dan Simonyan, 2014).

Pembuatan keripik melibatkan proses pemanasan pada suhu tinggi yang dapat mengakibatkan terjadinya reaksi Maillard yang menghasilkan akrilamida. Akrilamida terbentuk ketika pangan yang tinggi pati, seperti kentang dan singkong mengalami proses pemanasan dalam temperatur tinggi, antara lain pemanggangan, penggorengan, dan pembakaran (Zhang, dkk., 2009). Senyawa ini merupakan senyawa kimia yang dapat mengakibatkan kanker dan berpotensi menjadi *neurotoxic*. *International Agency for Research on Cancer* mengklasifikasikan akrilamida sebagai *probable carcinogen* atau berpotensi sebagai karsinogen untuk manusia (Amrein, dkk., 2004).

Asparaginase merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia. Enzim asparaginase dapat dimanfaatkan untuk menghambat pembentukan akrilamida pada berbagai produk pangan. Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan asparaginase terbukti menghasilkan produk kentang goreng dengan kadar akrilamida yang lebih rendah (Onishi, dkk., 2015). Kentang dan singkong memiliki kemiripan, yaitu keduanya tergolong dalam umbi-umbian, melalui proses pengolahan yang sama, serta merupakan bahan pangan berbasis karbohidrat. Dilihat dari komposisi

proksimat, perbedaan kentang dan singkong terletak pada kandungan karbohidratnya. Singkong memiliki karbohidrat sebanyak 38,1 gram (SND, 2014a), sementara kentang hanya 18,4 gram (SND, 2014b). Kemiripan karakteristik antara kentang dan singkong menunjukkan potensi asparaginase dalam penggunaannya menghasilkan singkong goreng atau keripik singkong dengan kandungan akrilamida yang lebih rendah. Studi mengenai penggunaan asparaginase untuk menurunkan kadar akrilamida pada produk berbasis pati diharapkan dapat menjadi panduan untuk menganalisis potensi penggunaan asparaginase untuk menurunkan kadar akrilamida pada keripik kentang dan singkong.

II. PEMBENTUKAN DAN POTENSI BAHAYA AKRILAMIDA

Akrilamida (*2-propenamide*) merupakan padatan kristalin yang tidak memiliki warna dan bau. Rumus molekulnya C_3H_5NO ($CH_2 = CHCONH_2$) dengan berat molekul 71,079 g/mol. Karakteristik akrilamida sukar larut dalam air, lebih sukar menguap di udara (titik didih 175-300°C). Akrilamida merupakan senyawa kimia yang digunakan industri purifikasi air, tanah, kemasan, dan penelitian ilmiah (seperti untuk elektroforesis, kromatografi, dan mikroskop elektron). Senyawa ini diketahui bersifat karsinogen terhadap hewan dan neurotoksik pada manusia (NCBI, 2013; CDC, 2016).

Akrilamida adalah *crystalline amide* yang terpolimerisasi secara cepat dan terbentuk selama proses pemanasan produk pangan tinggi pati dalam temperatur tinggi, di atas 120°C dan dalam kondisi kelembaban udara rendah. Proses pemanasan yang dimaksud seperti penggorengan, pemanggangan, dan pembakaran. Semakin tinggi suhu proses produksi maka akrilamida yang terbentuk akan semakin banyak. Akrilamida tidak terdapat pada bahan pangan secara alami. Senyawa tersebut sering ditemukan pada produk berbasis tumbuhan terutama produk kentang seperti kentang goreng dan keripik kentang; produk sereal seperti *cookies*, *crackers*, *breakfast cereals*, dan roti panggang; kopi; bahkan pada asap rokok dan asap industri plastik, kosmetik, dan produk pengolahan air. Namun, akrilamida juga ditemukan pada kondisi kelembaban udara

tinggi dan temperatur rendah seperti jus *prune* dan produk kaleng zaitun hitam matang (Robin, 2007; Michalak, dkk., 2011).

Pembentukan akrilamida yang utama adalah dari reaksi Maillard akibat pemanasan pada bahan pangan. Pembentukannya berasal dari kandungan gula dan asam amino pada bahan pangan, bukan dari lingkungan atau bahan kemasan makanan. Saat pemanasan, asparagin bebas bereaksi dengan gula reduksi atau senyawa karbonil lainnya untuk membentuk akrilamida. Pembentukan akrilamida dipelopori oleh keberadaan L-asparagin (L-Asn) yang berperan sebagai tulang punggungnya, beserta gula reduksi seperti glukosa atau fruktosa, untuk membentuk sisi antaranya. Hasilnya adalah produk Amadori dekarboksilasi (*decarboxylated Amadori*), yakni prekursor akrilamida. Reaksi Maillard menghasilkan pencokelatan dan pembentukan flavor serta aroma yang berhubungan dengan penggorengan atau pembakaran (Zyzak, dkk., 2003; FDA, 2016a).

World Health Organization (WHO) mengategorikan akrilamidasebagai kontaminan pangan. Estimasi paparan akrilamida yakni 1–4 µg/kg bb/hari. WHO tidak mengeluarkan batas toleransi konsumsi akrilamida karena sifatnya karsinogen *gentoxic*. Studi toksikologi menunjukkan konsumsi akrilamida pada tikus menyebabkan neurotoksisitas, sementara pada mencit menunjukkan tumor di tenggorokan dan kelenjar Hardarian (kelenjar pada orbit mata) (WHO, 2011). Sejak tahun 1994, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) menetapkan akrilamida dalam golongan 2A, yang didefinisikan sebagai golongan dengan potensi bersifat karsinogen pada manusia. Seiring berkembangnya pengetahuan dan penelitian terkait akrilamida, mungkin saja

kelas akrilamida berubah menjadi kelompok 1 (bersifat karsinogen pada manusia) atau bahkan kelompok 2B (kemungkinan bersifat karsinogen pada manusia) (IARC, 2017). Secara internasional, diestimasikan bahwa konsumsi akrilamida berkisar 0,2 hingga 1,4 µg/kg bb/hari (Pedreschi, dkk., 2014).

Menurut Tareke, dkk. (2002), produk berbasis sereal dan kentang, yang melalui tahap pemanasan, mengandung akrilamida tinggi yakni mencapai 30–5.600 ng/g. Kandungan akrilamida pada beberapa jenis makanan dapat dilihat pada Tabel 1. Untuk menghindari pembentukan akrilamida yang terlalu banyak, biasanya industri mengubah waktu dan temperatur pemanasan, menggunakan bahan baku rendah asparagin, melakukan blansir, dan perendaman bahan pangan dalam air untuk mengontrol level gula reduksi dan asam amino, serta mengatur nilai pH. Namun, langkah-langkah ini tidak hanya menurunkan pembentukan akrilamida, namun juga menurunkan komponen-komponen yang dibutuhkan pada produk Maillard, sehingga menurunkan kualitas rasa dan penampakan produk (Amrein, dkk., 2003; Becalski, dkk., 2003; Rommens, dkk., 2008; Onishi, dkk., 2015).

III. PEMANFAATAN ASPARAGINASE DALAM MENEKAN PEMBENTUKAN AKRILAMIDA

Asparagin atau L-asparagin dan gula reduksi pada pangan berbahan baku karbohidrat dapat membentuk akrilamida bila dipanaskan dengan suhu tinggi mencapai 120°C. Untuk mencegah pembentukan akrilamida, keberadaan enzim hidrolitik yakni L-Asparaginase dapat memecah L-Asparagin (L-Asn) menjadi L-asam aspartat (L-Asp) dengan melepaskan amonia, sehingga mencegah asparagin bereaksi dengan

Tabel 1. Kandungan Akrilamida pada Beberapa Jenis Makanan

Nama bahan pangan	Prevalensi (%)	Kandungan rata-rata akrilamid (µg/kg)
Kentang goreng	100	604,27
Pasta kacang kedelai	100	13,7
Daging olahan	100	22,62
Daging matang	100	25,03
Roti panggang	100	36,72
Wafer biskuit	83,3	44,92
Kue beras panggang	100	68,34
Biskuit panggang	95,83	97,57
<i>Snack</i> tepung goreng	100	131,73

Sumber: Chen, dkk. (2012)

gula membentuk akrilamida. Keberadaan L-asparaginase secara efektif dapat menurunkan level L-Asp, prekursor akrilamida, yang dapat membuat sel tumor dalam tubuh. Asparaginase bekerja optimal pada suhu 40–60°C dengan pH 6,0–7,0. Kestabilan enzim ini terhadap pH dipengaruhi oleh sumber enzim ini diperoleh. Enzim ini dapat stabil pada suhu antara 37–80°C bergantung pada struktur dan urutan asam aminonya. Pada suhu 80°C, asparaginase sudah tidak aktif seluruhnya (Sinha, dkk., 2013; Christopher dan Kumbalwar, 2015; Onishi, dkk., 2015; FDA, 2016b).

Asparaginase dapat diperoleh dari mikroorganisme seperti bakteri, fungi, *yeast*, *Actinomyces* dan *algae* (Sinha, dkk., 2013). Enzim ini dapat diproduksi pada organisme seperti *Serratia* spp., *Actinomyces* spp., atau *Aspergillus* spp, yang memiliki gen L-asparaginase yakni *ansA* dan *ansZ*. Asparaginase dari *Aspergillus* spp. sangat stabil pada temperatur tinggi (Christopher dan Kumbalwar, 2015). Selain itu, *Bacillus* spp. juga seringkali dipilih karena sudah terbukti aman dan juga banyak digunakan pada industri pangan terutama di Asia (Onishi, 2015; Sanghvi, dkk., 2016). Menurut Moharam, dkk. (2010), penambahan 1 persen laktosa atau rafinosa dapat menggandakan produktivitas enzim. Untuk membuat enzim stabil terhadap panas, karbon aktif membuat ikatan kovalen. Produksi L-asparaginase paling banyak diperoleh dari *Bacillus* sp *BCCS 034* dengan hasil 1,64 IU/mL supernatan secara ekstraseluler (Ebrahiminezhad, dkk., 2011). Mikroorganisme dipilih sebagai sumber asparaginase disebabkan karena penggunaan mikroorganisme dapat memberikan berbagai keuntungan antara lain memberikan hasil produksi yang banyak, harganya ekonomis, mudah dilakukan dalam hal mengatur mikroba untuk memproduksi enzim dengan karakteristik yang diinginkan, dan mudah mengekstrak enzim serta melakukan purifikasi.

Asparaginase diperoleh melalui *submerged*, fermentasi *fed-batch* kultur murni dari strain produsennya. Setiap *batch* diinisiasi dengan menggunakan stok kultur *lyophilized* dan pengukuran tepat dilakukan untuk mengontrol identitas, kemurnian, dan kemampuan

generalisasi enzim sebelum enzim digunakan. Selama fermentasi, asparaginase dikeluarkan (disekresi) ke dalam *fermentation broth*. Setelah fermentasi terjadi, asparaginase diperoleh dengan filtrasi dan dipekatkan, sehingga pengotornya bisa hilang. Untuk menstabilkan konsentrasi enzim, ditambahkan sodium klorida, sodium benzoat, dan potasium sorbat (Whitehurst dan Oort, 2009). Untuk memproduksi produk yang bergranula atau bentuk *liquid* yang baik dalam aktivitas asparaginase yang diinginkan, dekstrin atau campuran dari air dengan sorbitol ditambahkan pada konsentrasi enzim. Untuk memproduksi produk pangan, industri biasanya menggunakan asparaginase komersial agar lebih praktis. Menurut FDA (2016b), produksi asparaginase tidak mengandung bahan-bahan yang berisiko menimbulkan alergi dan aman digunakan sebagai bahan pangan.

Asparaginase diberikan setelah proses blansir bahan baku mentahnya. Untuk mempermudah penyerapan ke dalam dinding sel bahan baku, bahan baku perlu direndam, diblansir, atau ditambahkan asidulan agar dinding sel lebih renggang dan asparaginase dapat berdifusi ke dalam sel. Pengoptimalan difusi asparaginase ke dalam sel akan mengoptimalkan reaksi hidrolisis L-asparagin sehingga mengakibatkan penurunan jumlah akrilamida yang akan terbentuk secara signifikan. Pada proses perendaman, tidak terdapat aktivitas apapun dengan asam amino lainnya atau residu asparagin. Sifatnya yang tahan panas dimanfaatkan dengan menambahkan enzim sebelum bahan pangan masuk dalam proses pemanasan, terutama pada produk seperti roti, produk pangan panggang, produk pangan goreng dan *flavor* yang reaktif. Asparagin dapat diubah menjadi asam amino, asam aspartat, dan ammonia, sehingga asparagin tidak ikut dalam reaksi Maillard dan akrilamida tidak terbentuk (Christopher dan Kumbalwar, 2015; FDA, 2016a).

Penggunaan asparaginase terbukti mampu menurunkan 70–80 persen akrilamida pada kopi, dan 90 persen pada produk *tortilla chips* (Hendriksen, dkk., 2013). Xu, dkk. (2015) menemukan bahwa 2.600–20.000 ASNU asparaginase dapat menurunkan sebanyak 69–86 persen akrilamida pada kopi. Asparaginase

dari *Bacillus subtilis* yang digunakan pada keripik kentang terbukti mampu menurunkan hingga 80 persen asparaginase (Onishi, dkk., 2015).

Asparaginase dari *Aspergillus oryzae* telah menerima status *Generally Recognized as Safe* (GRAS) oleh JECFA (JECFA, 2007). Penggunaan asparaginase dapat menguntungkan, bergantung pada resep dan proses produksinya (FDE, 2013). Penggunaan asparaginase yang terlalu banyak secara signifikan dapat menyebabkan *off-flavors* dan bau dari produk samping asam aspartat dan ammonia, sehingga menurunkan kualitas organoleptik produk pangan (FDA, 2016b).

IV. POTENSI ASPARAGINASE UNTUK MENGHASILKAN KERIPIK KENTANG DAN SINGKONG RENDAH AKRILAMIDA

Kentang dan singkong merupakan bahan pangan yang berpotensi membentuk akrilamida karena kandungan pati, gula, dan asparagin yang tinggi. Kentang goreng tergolong dalam kategori pangan yang memiliki konsentration akrilamida tertinggi (Krishnakumar dan Visvanathan, 2014). Berbagai penelitian, seperti yang dilakukan oleh Onishi, dkk. (2015), Torang dan Alemzadeh (2016), serta Pedreschi, dkk.

blanched, chilled potato strips, di mana waktu kontak enzim dan asparagin menyebabkan pengikisan asparaginase. Sebanyak 90 persen akrilamida berhasil direduksi pada produk kentang yang diberi asparaginase dengan blansir (Pedreschi, dkk., 2011).

Singkong dan kentang tergolong dalam umbi-umbian atau *root and tuber crops*, sehingga keduanya memiliki berbagai kesamaan, yang terletak pada aplikasi dan proses pengolahan, sifat *perishable*, kandungan nutrisi, serta kandungan asparagin yang tinggi. Singkong dan kentang memiliki kadar air yang tinggi sehingga rentan akan kerusakan pasca panen. Tanpa adanya proses pengolahan, keduanya memiliki umur simpan yang pendek (Lebot, 2009). Beberapa produk pangan dapat dibuat menggunakan singkong dan kentang dengan proses pengolahan yang hampir sama, salah satunya adalah keripik. Singkong dan kentang memiliki kandungan nutrisi yang saling menyerupai, terutama persentase kalori asal karbohidrat, kadar lemak, kadar protein, serta perbandingan komposisi penyusun karbohidrat. Perbandingan kadar air dan kandungan nutrisi antara 100 gram kentang dan singkong dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Kandungan Nutrisi pada 100 Gram Kentang dan Singkong

Parameter	Kentang (100 g)	Singkong (100 g)
Kalori (KJ)	77	160
Kalori dari Karbohidrat (%)	91,69	96,25
Kalori dari Lemak (%)	1,04	1,44
Kalori dari Protein (%)	7,27	2,38
Karbohidrat (g)	18,4	38,1
Pati (g)	15,4	34,6
Gula (g)	0,8	1,7
Karbohidrat dari pati (%)	83,7	90,81
Karbohidrat dari gula (%)	4,35	4,46
Protein (g)	2	1,4
Lemak (g)	0,1	0,3
Lemak jenuh (g)	0	0,1
Lemak tak jenuh tunggal (g)	0	0,1
Lemak tak jenuh jamak (g)	0	0
Air (g)	79,3	59,7

Sumber: SND (2014a) dan SND (2014b).

(2011) menunjukkan bahwa penggunaan asparaginase terbukti efektif dalam menghambat pembentukan akrilamida pada kentang goreng, sehingga dapat menghasilkan produk kentang goreng yang rendah akrilamida. Asparaginase efektif dalam menurunkan akrilamida pada produk akhir ketika digunakan pada *non-parfried*

Kadar karbohidrat dan kadar pati singkong lebih tinggi dibandingkan kentang, akan tetapi, keduanya memiliki kemiripan dari segi perbandingan komposisi pati dan gula sebagai penyusun karbohidrat (Tabel 2). Reaksi Maillard yang menghasilkan akrilamida

terbentuk akibat adanya gula pereduksi. Kadar gula pada singkong lebih tinggi dibandingkan kadar gula pada kentang, sehingga terdapat kemungkinan bahwa kadar gula pereduksi singkong juga lebih tinggi dibandingkan kentang yang mengakibatkan singkong lebih berpotensi mengalami reaksi Maillard yang menghasilkan akrilamida.

Singkong juga memiliki kandungan asparagin yang tinggi akibat adanya aktivitas β -cyanoalanine synthase dan nitrilase pembentuk asparagin yang tinggi pada umbi singkong (Zidenga, dkk., 2017). Keripik singkong dan kentang juga memiliki tahapan pengolahan yang sama, meliputi pencucian, pengupasan, pengirisan, perendaman, penggorengan, penirisan, dan pengemasan.

Proses pengolahan keripik kentang dan singkong rendah akrilamida dengan penggunaan asparaginase meliputi tahapan pencucian awal, pengupasan, pencucian setelah pengupasan, pengirisan dengan ketebalan 0,5 cm, blansir dengan suhu 85°C selama 3 menit, pendinginan, perendaman dalam larutan asparaginase dengan suhu 50°C selama 30 menit, penggorengan pada suhu 175°C, penirisan dan sortasi, penambahan bumbu, serta pengemasan. Proses pengolahan keripik kentang dan singkong rendah akrilamida dilakukan seperti pengolahan keripik kentang dan singkong pada umumnya, namun dengan beberapa perlakuan tambahan, meliputi penambahan asparaginase dan modifikasi perlakuan. Modifikasi kondisi perlakuan diterapkan pada berbagai proses, meliputi proses pengupasan, pengirisan, blansir, penggorengan, serta sortasi akhir. Modifikasi perlakuan dilakukan guna mengurangi kadar akrilamida (Torang dan Alemzadeh (2016)).

Penelitian yang dilakukan oleh Torang dan Alemzadeh (2016) lebih lanjut menunjukkan bahwa pengurangan kadar akrilamida pada produk akhir keripik kentang akibat modifikasi berbagai perlakuan ini tergolong kurang efektif dibandingkan penggunaan asparaginase, akan tetapi pengkombinasian antara penggunaan asparaginase dengan modifikasi perlakuan dapat memaksimalkan penekanan kadar akrilamida pada keripik kentang dan singkong. Pengupasan dilakukan secara lebih tebal guna memisahkan lebih banyak daging umbi singkong

yang dekat pada kulit. Hal ini dikarenakan umbi yang dekat pada kulit singkong memiliki kandungan gula pereduksi yang lebih tinggi, sehingga berpotensi meningkatkan kadar akrilamida. Pengirisan dilakukan secara lebih tipis, karena menurut (FDA, 2016b) semakin tipis suatu bahan pangan, semakin rendah tingkat kelembapan dan suhu penggorengan yang dibutuhkan, sehingga dapat meminimalkan pembentukan akrilamida.

Menurut Torang dan Alemzadeh (2016) adanya *pretreatment* berupa perendaman dan blansir sebelum penggorengan keripik kentang dapat menurunkan kadar akrilamida pada produk akhir. Irisan kentang lebih dulu diblansir dengan air panas bersuhu 85°C selama 3 menit. Rasio kentang:air (g/g) untuk blansir adalah sebesar 1:2. Irisan kentang kemudian direndam dalam larutan asparaginase pada suhu 50°C selama 30 menit dengan perbandingan rasio kentang:larutan enzim (g/g) sebesar 1:2. Metode ini terbukti menghasilkan produk keripik kentang dengan kadar akrilamida yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan keripik kentang yang terbuat dengan proses perendaman dalam air selama 1 menit (tanpa diberikan *pre-treatment* lainnya (kontrol) ataupun dalam larutan asparaginase bersuhu 50°C selama 30 menit (tanpa diblansir). Keripik kentang yang direndam dalam larutan asparaginase tanpa diblansir memiliki kadar akrilamida 39-58 persen lebih rendah dibandingkan keripik kentang kontrol yang hanya direndam air selama 1 menit, sedangkan keripik kentang yang diberikan kombinasi perlakuan blansir dan perendaman dalam larutan asparaginase memiliki kadar akrilamida 93-95 persen lebih rendah dibandingkan keripik kentang kontrol. Perlakuan blansir dapat diterapkan pula dalam pembuatan keripik singkong. Singkong yang telah diiris kemudian diblansir pada suhu 85°C selama 3 menit dengan rasio singkong:air sebesar 1:2. Air dapat mengekstraksi perkursor akrilamida dari singkong. Blansir membuat dinding sel merenggang, sehingga asparaginase yang ditambahkan dapat dengan mudah berdifusi ke dalam sel untuk melakukan reaksi hidrolisis yang mengubah asparagin. Semakin lama proses blansir dan semakin tinggi suhu air yang digunakan, maka semakin efektif proses ekstraksi yang mengakibatkan penurunan kadar

akrilamida yang terbentuk. Namun, proses blansir yang terlalu lama dalam suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan penurunan kualitas organoleptik kentang dan singkong. Selain blansir, untuk meregangkan dinding sel juga dapat dilakukan melalui penambahan asidulan (FDA, 2016b).

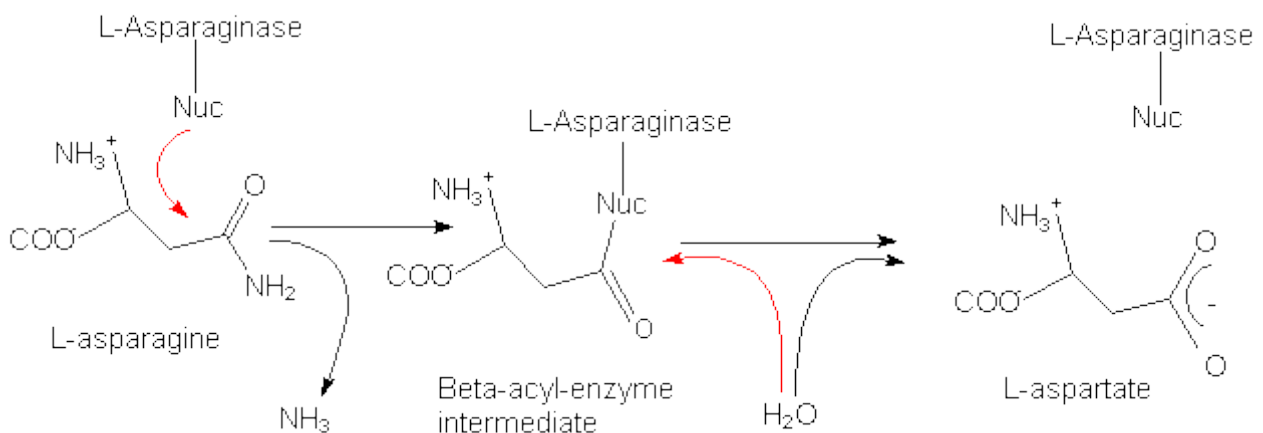
Enzim asparaginase inaktif pada suhu 80°C (Sinha, dkk., 2013), sehingga irisan kentang dan singkong yang telah diblansir perlu didiamkan hingga dingin sebelum direndam dalam larutan asparaginase. Perendaman dikondisikan pada suhu 50°C selama 30 menit dengan rasio singkong:air sebesar 1:2. Asparaginase komersial umumnya tersedia dalam bentuk *lyophilized powder* yang dikemas dalam *vial*. Larutan asparaginase dapat dibuat dengan melarutkan bubuk enzim dalam air hingga mencapai konsentrasi 10.000 ASNU/L (Pedreschi, dkk., 2011). ASNU (Asparaginase Unit) dapat didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 mikromol amonia per menit dalam kondisi spesifik. Enzim asparaginase dapat mengonversi asparagin yang terdapat pada singkong menjadi asam aspartat dan ammonia (Whitehurst dan Oort, 2009). Asparaginase menempel pada asparagin dan membentuk kompleks substrat-enzim yang disebut *beta-acyl-enzyme intermediate*, pembentukan kompleks ini mengakibatkan NH₂ terlepas dan menjadi NH₃ bebas. H₂O yang berasal dari larutan enzim berikatan dengan kompleks substrat-enzim dan mengakibatkan terlepasnya asparaginase dan membentuk senyawa asam aspartat. Mekanisme

pembentukan asam aspartat dari asparagin oleh asparaginase dapat dilihat pada Gambar 1.

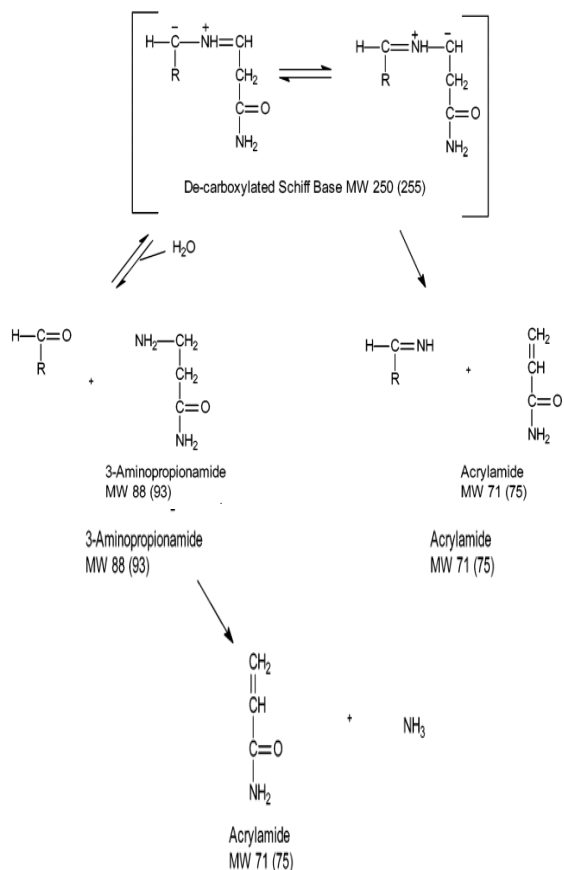
Proses selanjutnya adalah penggorengan. Semakin tinggi suhu penggorengan dan semakin lama waktu penggorengan dapat meningkatkan terbentuknya akrilamida pada keripik kentang dan singkong. Berdasarkan rekomendasi oleh FDA (2016b), suhu penggorengan yang sesuai untuk keripik kentang adalah 175°C atau dibawahnya guna mengurangi pembentukan akrilamida, akan tetapi penggunaan suhu penggorengan di bawah 170°C dapat mengakibatkan peningkatan penyerapan minyak dan penurunan tingkat kerenyahan.

Pada proses penggorengan suhu tinggi, terjadi pembentukan akrilamida via reaksi Maillard yang dapat dilihat pada Gambar 2. Ketika rantai gula menjadi lebih pendek, molekul menjadi tegang dan membentuk struktur siklik hemiasetal, sehingga karbonil dapat diserang nukleofilik dari α-amino pada asparagin. Semakin pendek rantai gula maka akan semakin reaktif. Reaksi antara gugus karbonil dengan gugus α-amino dari asparagin bebas membentuk basa Schiff. Pada saat pemanasan, basa Schiff terdekarboksilasi, membentuk produk yang dapat bereaksi dalam 2 jalur. Produk tersebut dapat terhidrolisis membentuk 3-aminopropionamide, yang lebih lanjut dapat terdegradasi melalui eliminasi ammonia, sehingga membentuk akrilamida. Jalur lainnya adalah basa Schiff yang terdekarboksilasi dapat terdekomposisi secara langsung membentuk akrilamida melalui eliminasi imine (Zyzak, dkk., 2003).

Gambar 1. Mekanisme Konversi Asparagin menjadi Aspartat oleh Asparaginase.



Sumber: Yadav, dkk. (2014)



Gambar 2. Reaksi Pembentukan Akrilamida pada Reaksi Maillard

Sumber: Zyzak, dkk. (2003).

Reaksi pembentukan akrilamida membutuhkan asparagin sebagai prekursor. Penambahan asparaginase mengakibatkan konversi asparagin menjadi asam aspartat. Ketidakterdediaan asparagin membuat akrilamida tidak mungkin terbentuk selama reaksi Maillard. Penggunaan suhu tinggi pada proses penggorengan berlangsung dapat menginaktivasi enzim asparaginase, namun, tidak mempengaruhi hasil pembentukan akrilamida karena kerja enzim ini sudah selesai ketika produk memasuki tahap pemanasan (penggorengan). Sortasi akhir dilakukan untuk memisahkan keripik yang terlalu coklat, gosong, ataupun terbuat dari kentang yang memiliki *defect*. Ketiga karakteristik ini merupakan indikasi kadar akrilamida yang tinggi. Keripik kentang dan singkong yang baik memiliki warna kuning ataupun kuning kecoklatan (FDA, 2016b). Sortasi dilakukan secara singkat sembari keripik kentang dan singkong ditiriskan. Keripik kemudian diberi bumbu ataupun garam selagi keripik panas

agar bumbu dapat menempel dengan baik pada keripik. Ketika suhu keripik dirasa sudah lebih dingin (sama dengan suhu ruang), maka keripik siap dikemas dalam kemasan plastik.

V. METODE ANALISIS KANDUNGAN AKRILAMIDA PADA PRODUK PANGAN BERBASIS PATI

5.1. Metode *Liquid Chromatography*

Kandungan akrilamida pada keripik kentang dan singkong dapat dianalisis dengan *Liquid Chromatography* (LC) seperti yang telah dilakukan oleh Torang dan Alemzadeh (2016). Instrumen HPLC dengan detektor UV digunakan untuk mengidentifikasi akrilamida pada sampel. Sampel kemudian dianalisis menggunakan sinar UV untuk mengetahui tingkat absorpsi sampel pada panjang gelombang 202 nm pada kolom C18 dan suhu 22°C.

5.2. Metode *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS)

Akrilamida pada keripik kentang dan singkong dapat dianalisis menggunakan GC-MS dengan kolom GC (Khan, dkk., 2013). Kolom GC yang digunakan adalah polietilen glikol. Kurva standar kalibrasi yang digunakan untuk mengestimasi akrilamida pada kentang adalah pada 450 ng/g.

5.3. Metode *Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri*

Akrilamida pada produk ubi jalar dapat dianalisis dengan metode lain yang lebih sederhana, seperti kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. Pelarut yang paling optimum adalah etanol 70 persen, eluen menggunakan methanol, panjang gelombang 200 nm dan konsentrasi uji analit 100 ppm serta menggunakan lempeng silika gel F254 (Hendarti, 2009).

VI. KESIMPULAN

Asparaginase berperan dalam menghambat pembentukan akrilamida pada produk pangan berbasis pati dengan mengubah prekursor pembentuk akrilamida, yakni asparagin menjadi aspartat. Asparaginase pada produk pangan menghasilkan senyawa residu berupa ammonia, yang dapat mengganggu kualitas organoleptik jika asparaginase yang digunakan berlebihan. Enzim ini terbukti efektif menghambat akrilamida

pada keripik kentang, terlebih dengan kombinasi perlakuan blansir. Kemiripan karakteristik antara keripik kentang dan singkong mengakibatkan asparaginase mampu menurunkan kadar akrilamida pada keripik singkong dengan tingkat efektivitas yang serupa dengan keripik kentang.

Penelitian lebih lanjut juga diperlukan untuk mengetahui apakah penggunaan asparaginase dapat secara konsisten mengurangi akrilamida pada produk keripik kentang dan singkong. Selain itu, faktor-faktor mempengaruhi aktivitas asparaginase dalam mengurangi akrilamida pada proses produksi keripik kentang dan singkong perlu dikaji. Penggunaan asparaginase dalam pembuatan keripik berbasis pati, seperti keripik singkong, kentang, ubi, dan talas perlu dilakukan dengan mempertimbangkan faktor-faktor lain seperti ketersediaan enzim, biaya, serta kualitas organoleptik produk akhir.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrein T.M., S. Bachmann, A. Noti, M. Biedermann, M.F. Barbosa, S. Biedermann-Brem, K. Grob, A. Keiser, P. Realini, F. Escher and R. Amado. 2003. Potential of Acrylamide Formation, Sugars, and Free Asparagine in Potatoes: A Comparison of Cultivars and Farming Systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 51. Aug: 555–5560.
- Amrein, T., Schönbacher, B., Escher, F. and Amadò, R. 2004. Acrylamide in Gingerbread: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13):4282–4288.
- Becalski A., B.P.Y. Lau, D. Lewis and S.W. Seaman. 2003. Acrylamide in Foods: Occurrence, Source, and Modeling. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 51. Jan, pp.802–808.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2016. *Acrylamide*. <https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0012.html> [diakses 18 Mei 2017].
- Christopher, N. and Kumbalwar, M. 2015. Enzymes used in Food Industry A Systematic Review. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. Vol. 4. Feb:9830–9836.
- Ebrahiminezhad, A., S.R. Amini and Y. Ghasemi. 2011. L-Asparaginase Production by Boderate Halophilic Bacteria Isolated from Maharloo Salt Lake. *Indian Journal of Microbiology*. Vol. 51. Feb:307–311.
- Food and Drug Administration (FDA). 2016a. *Chemical contaminants: Acrylamide Questions and Answer*. <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm053569.htm> [diakses 16 Mei 2017].
- Food and Drug Administration (FDA). 2016b. *Guidance for Industry Acrylamide in Foods*. Food and Drug Administration: Rockville, Maryland.
- Food Drink Europe (FDE), 2013. *Acrylamide toolbox 2013*. http://www.fooddrinkeurope.eu/uploads/publications_documents/AcrylamideToolbox_2013.pdf [diakses 1 Juni 2017].
- Hendarti, A. 2009. *Pengembangan dan validasi metode KLT-Densitometri untuk penetapan Kadar Akrilamida pada Ubi Jalar Berumbi Putih Goreng*. [Thesis] Universitas Jember.
- Hendriksen, H.V., G. Budolfson dan M.J. Baumann. 2013. Asparaginase for Acrylamide Mitigation in Food. *Aspects of Applied Biology* 116: 41–50.
- IARC. 2017. *List of Classifications*, Volume 1-118. http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php [diakses 19 Mei 2017]
- JECFA. 2007. *Compendium of Food Additive Specifications*. Monograph No. 4. Rome :FAO. <http://www.fao.org/3/a-a1447e/>. [diakses 1 Juni 2017].
- Khan, M.R., M. Azfaal, N. Saeed dan M. Shabbir. 2013. Protective Potential of Methanol Extract of *Digera muricata* on Acrylamide Induced Hepatotoxicity in Rats. *African Journal of Biotechnology* 10: 8456–8464.
- Kiloes, A.M., A.L. Sayekti dan S.M.J. Anwarudin. 2015. Evaluasi daya saing komoditas kentang di Sentra Produksi Pangalengan Kabupaten Bandung. *Jurnal Hortikultura* 25(1): 88–96.
- Krishnakumar, T. and R. Visvanathan. 2014. Acrylamide in Food Products: A Review. *Journal of Food Processing and Technology*. Vol. 5. Jun: 1–9.
- Lebot, V. 2009. *Tropical root and tuber crops*. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI.
- Michalak, J., E. Gujska and J. Kepacka. 2011. The Effect of Domestic Preparation of Some Potato Products on Arylamide Content. *Plant Foods for Human Nutrition Journal*. Vol. 66. Nov:307–312.
- Media Manufaktur Indonesia (MMI). 2017. *Indonesia Tigas Besar Penghasil Singkong*. <http://www.mmindustri.co.id/indonesia-tiga-besar-penghasil-singkong/> [diakses 18 Mei 2017].
- Moharam, M.E., A.M.G. Eldeen and S.T. El-Sayed. 2010. Production, Immobilization and Anti-tumor Activity of L-asparaginase of *Bacillus* spp R36. *Journal of American Science*, 6(8): 131–140.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI).

2013. *Acrylamide*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/acrylamide#section=Top> [diakses 28 Mei 2017].
- Onishi, Y., A.A. Prihanto, S. Yano, K. Tkagi, M. Umekawa and M. Wakayama. 2015. Effective Treatment for Suppression of Acrylamide Formation in Fried Potato Chips Using L-asparaginase from *Bacillus subtilis*. *3 Biotech*, 5: 783–789.
- Onyenwoke, C.A. and K.J. Simonyan. 2014. Cassava Post-Harvest Processing and Storage in Nigeria: A review. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 9. Dec: 3853–3863.
- Pedreschi, F., S. Mariotti, K. Granby and J. Risum. 2011. Acrylamide Reduction in Potato Chips by Using Commercial Asparaginase in Combination With Conventional Blanching. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 44. Jun:1473–1476.
- Pedreschi, F., M.S. Mariotti and K. Granby. 2014. Current Issues in Dietary Acrylamide: Formation, Mitigation and Risk Assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 94. Jan:9–20.
- Robin, L.P. 2007. Regulatory report: Acrylamide, Furan, and the FDA, *Food Safety magazine*, Juli 2007.
- Rommens, C.M., H. Yan, K. Swords, C. Richael and J. Ye. 2008. Low-acrylamide French Fries and Potato Chips. *Plant Biotechnology Journal*. Vol. 6. Oct:843–853.
- Sanghvi, G., K. Bhimani, D. Vaishnav, T. Oza, G. Dave, P. Kunjadia and N. Sheth. 2016. Mitigation of Acrylamide by L-asparaginase from *Bacillus subtilis* KDPS1 and Analysis of Degradation Products by HPLC and HPTLC. *Springerplus*. Vol. 5. Apr: 533.
- Sloan, A.E. 2015. *The Top Ten Food Trends*.: <http://www.ift.org/food-technology/past-issues/2015/april/features/the-top-ten-foodtrends.aspx?page=viewall>. [diakses 31 Mei 2017].
- Sinha, R., H.R. Singh and S.K. Jha. 2013. Microbial L-asparaginase: Present and Future Prospective. *International Journal of Innovative Research in Science*. Vol. 2. Nov:7031–7051.
- Self Nutrition Data (SND). 2014a. *Potato, Flesh, and Skin, Raw Nutrition Facts & Calories*. <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2546/2>. [diakses 18 Mei 2017].
- Self Nutrition Data (SND). 2014b. *Cassava, Raw Nutrition Facts & Calories*. <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2389/2>. [diakses 18 Mei 2017].
- Tareke, E., P. Rydber, P. Karlsson, S. Eriksson and M. Törnqvist. 2002. Analysis of Acrylamide, A Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 50. Aug:4998–5006.
- Torang, A. and I. Alemzadeh. 2016. Acrylamide reduction in potato crisps using: Asparaginase from *Candida utilis*, commercial asparaginase, salt immersion, and pH treatment. *International journal of engineering*. Vol. 29. Jul:879–886.
- Whitehurst, R.J. and M.V. Oort. 2009. *Enzymes in Food Technology*. Wiley-Blackwell. West Sussex.
- World Health Organization (z). 2011. *Safety Evaluation of Certain Contaminants in Food: Acrylamide (63rd)*. Roma: World Health Organization.
- Wyatt, S.L. 2014. The State of the Snack Food Industry. Dipresentasikan pada SNAXPO Snack Food Association Annual Meeting, Dallas, Maret: 1–4.
- Xu, F., P. Khalid, M.J. Oruna-Concha dan J.S. Elmore. 2015. *Effect of Asparaginase on Flavour Formation in Roasted Coffee*. In A. Taylor, J. dan D.S. Mottram (Eds.), *Flavour Science* (pp. 563–566). Packington, United Kingdom: Context Products Ltd.
- Yadav, S., S.K. Verma, J. Singh and A. Kumar. 2014. Industrial Production and Clinical Application of L-Asparaginase: A Chemotherapeutic Agent. *International Journal of Medical, Pharmaceutical Science and Engineering*. Vol. 8:54-60.
- Zhang, Y., Y. Ren and Y. Zhang. 2009. New Research Developments on Acrylamide: Analytical Chemistry, Formation Mechanism, and Mitigation Recipes. *American Chemical Society*. Vol. 109. Aug:437–4397.
- Zidenga T, D. Siritunga and R.T. Sayre. 2017. Cyanogen Metabolism in Cassava Roots: Impact on Protein Synthesis and Root Development. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 8. Feb:1–12.
- Zyzak, D.V., R.A. Sanders, M. Stojanovic, D.H. Tallmade, B.L. Eberhart, D.K. Ewald, C. Gruber, T.R. Morsch, M.A. Strothers, G.P. Rizzi and M.D. Villagran. 2003. Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 51. Jul: 4782–4787.

BIODATA PENULIS

Kezia Janice Harimadi dilahirkan di Jakarta 23 Januari 1997. Menyelesaikan pendidikan S1 Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Surya tahun 2018.

Milka dilahirkan di Jakarta 28 Mei 1996. Menyelesaikan pendidikan S1 Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Surya tahun 2018.

Warsono El Kiyat dilahirkan di Cirebon tanggal 12 Januari 1991. Menyelesaikan pendidikan S1 Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Jenderal Soedirman tahun 2013 dan pendidikan S2 Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor tahun 2017.

Slamet Budijanto dilahirkan di Madiun tanggal 2 Mei 1961. Menyelesaikan pendidikan S1 Teknologi Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor tahun 1985, pendidikan S2 *Food Chemistry, Tohoku University*, Jepang tahun 1990 dan S3 *Food Chemistry, Tohoku University* Jepang tahun 1993.

Halaman ini sengaja dikosongkan