



TESIS - TK 142541

**ISOMERISASI ENZIMATIK TEPUNG SORGUM MERAH UNTUK
PEMBUATAN “HIGH FRUCTOSE SYRUP”**

ATIQA RAHMAWATI
NRP 02211650010010

DOSEN PEMBIMBING
Prof.Dr.Ir. Tri Widjaja, M.Eng

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN TEKNOLOGI PROSES
LABORATORIUM TEKNOLOGI BIOKIMIA
JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018



TESIS- TK 142541

**ISOMERISASI ENZIMATIK TEPUNG SORGUM MERAH
UNTUK PEMBUATAN “HIGH FRUCTOSE SYRUP”**

**ATIQA RAHMAWATI
NRP 02211650010010**

Pembimbing

**Prof.Dr.Ir. Tri Widjaja, M.Eng
NIP. 1961 10 21 1986 03 1001**

**PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN TEKNOLOGI PROSES
LABORATORIUM TEKNOLOGI BIOKIMIA
JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

ISOMERISASI ENZIMATIK TEPUNG SORGUM MERAH UNTUK PEMBUATAN "HIGH FRUCTOSE SYRUP"

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Teknik (MT)
di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:


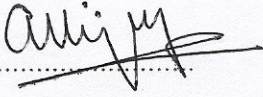
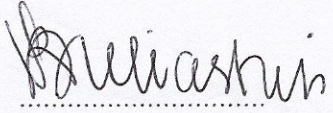
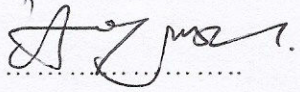
Atiqa Rahmawati


NRP. 02211650010010

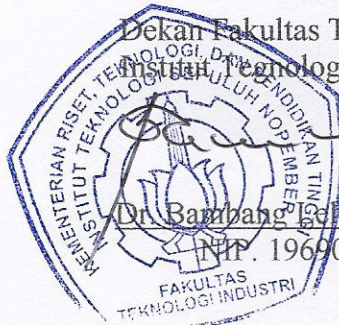
Tanggal Ujian : 12 Juli 2018

Periode Wisuda : September 2018

Disetujui oleh :

- | | | |
|---|----------------|---|
| 1. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng.
NIP. 1961021 198603 1 001 | (Pembimbing 1) |  |
| 2. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng.
NIP. 19660523 199102 1 001 | (Penguji 1) |  |
| 3. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng.
NIP. 19590730 198603 2 001 | (Penguji 2) |  |
| 4. Dr.Eng. R. Darmawan, S.T., M.T.
NIP. 19780506 200912 1 001 | (Penguji 3) |  |

Dekan Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Dr. Bambang Setono Widjiantoro, ST., MT
NIP. 19690507 199512 1 001



ISOMERISASI ENZIMATIK TEPUNG SORGUM MERAH UNTUK PEMBUATAN “*HIGH FRUCTOSE SYRUP*”

Disusun oleh : Atiqa Rahmawati (02211650010010)
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng

ABSTRAK

Sorgum merupakan tanaman serealia yang mempunyai produktivitas besar di Indonesia (4,24 – 6,17 ton/ha). Di Jawa Timur produktivitas sorgum mencapai 1,76 ton/ha. Pemanfaatan sorgum sebagian besar diolah menjadi tepung sorgum, akan tetapi tepung sorgum memiliki beberapa kekurangan seperti masih adanya kandungan asam fitat dan tanin didalam tepung sorgum dimana kandungan bahan ini tidak baik untuk kesehatan, selain itu kandungan gluten dalam tepung sorgum tidak sebaik tepung gandum. Untuk mengoptimalkan peran tepung sorgum yaitu menjadikan tepung sorgum sebagai bahan baku pembuatan *high fructose syrup*, mengingat kandungan pati didalam tepung sorgum cukup tinggi yaitu mencapai 70% sehingga berpotensi untuk dikonversi menjadi *high fructose syrup*. HFS merupakan salah satu gula cair yang banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman, penggunaan HFS dikarenakan HFS mempunyai tingkat kemanisan yang tinggi, tidak mudah mengkristal, dan mudah larut dalam air. Pada penelitian ini pembuatan *high fructose syrup* dilakukan dengan cara hidrolisa enzimatis menggunakan α -amilase, glukoamilase, dan glukoisomerase. Kondisi operasi optimal proses likuifikasi pada suhu 95 °C, pH 7 dan waktu reaksi 150 menit, pada proses sakarifikasi kondisi optimal pada suhu 60 °C, pH 5, dan waktu operasi 48 jam dengan konsentrasi gula reduksi 197,358 g/l dan yield 98,679%, sedangkan proses isomerisasi kondisi optimal pada pH 8, jumlah enzim 500 mg, dan waktu operasi 48 jam dengan konsentrasi fruktosa sebesar 29,80 g/100 ml (metode *resorcinol*), dan 17,47775 %b/v (HPLC). Akan tetapi jika dilihat dari produktivitasnya kondisi optimal dari proses sakarifikasi yaitu pada pH 8, jumlah enzim 500 mg dan waktu reaksi 24 jam, hal ini dikarenakan pada waktu ke 24 jam dapat menghasilkan kandungan sirup fruktosa yang hampir sama dengan waktu 48 jam. Analisa statistik menggunakan metode two-way anova general linier model menghasilkan nilai p value <0,05 pada tiap variabel hidrolisa enzim, dengan r square >90%, sehingga dapat dikatakan bahwa variabel yang digunakan pada

ketiga step proses hidrolisa memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produk yang dihasilkan.

Kata kunci: *high fructose syrup, hidrolisis enzimatis, sirup glukosa, tepung sorgum,*

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkah, rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan Proposal Tesis yang berjudul, “*Isomerisasi enzimatis tepung sorgum merah untuk pembuatan High Fructose Syrup*”. Tugas ini merupakan salah satu prasyarat meraih gelar master di Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (FTI-ITS). Selama penyusunan Laporan Tesis ini, saya banyak mendapat bimbingan, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu saya ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Juwari, ST, M.Eng selaku Ketua Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
2. Bapak Dr. Tantular Nurtono, ST., M.Eng selaku Koordinator Prodi Pascasarjana Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widaja, M.Eng, selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia yang telah memberikan waktu, tenaga dan ilmu dalam penyelesaian tesis ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir Tri Widjaja, M.Eng. selaku Dosen Pembimbing saya atas bimbingan dan saran yang telah diberikan.
5. Ibu Ir. Elly Agustiani, M.Eng selaku dosen pembimbing sewaktu di D3 Teknik Kimia yang telah memberikan waktu, tenaga, dan ilmunya sehingga saya bisa menemupuh Pendidikan S2.
6. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar serta seluruh karyawan jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
7. Orang tua serta saudara-saudara saya atas doa, dukungan dan bimbingan, perhatian dan kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
8. Teman-teman pascasarjana angkatan tahun 2016 (Fibrillian, Safrina, Irwan, Jadid, Dwila, Nur Anggita, Yosita, Ditta, Icha, Via, Intan dll) yang sudah saling memberikan semangat dalam mengerjakan tesis.

9. Teman – teman laboratorium Teknologi Biokimia (Denistira, Dimas, Rizal, Hanggoro, Maktum, Raihan, Azwin, Anas, Richie, Dini dll) yang selalu ada dan membantu disaat – saat kesusahan.
10. Serta teman-teman POLIMER 2010 atas dukungan yang diberikan.

Saya menyadari bahwa penulisan laporan ini masih banyak kekurangan oleh karena itu saya sangat mengharapkan saran dan masukan yang konstruktif untuk kesempurnaan laporan ini.

Surabaya, Juli 2018

Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK.....	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Batasan Masalah.....	4
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.6. Kebaharuan Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pati dan Sorgum	7
2.2. Glukosa	11
2.2. Fruktosa.....	13
2.2. High Fructose Syrup	14
2.3. Enzim	17
2.3.1. α -amilase	17
2.3.2. Glukoamilase.....	18
2.3.3. Glukoisomerase	19
2.4. Hidrolisa Pati	20
2.5. Isomerisasi Glukosa	22
2.6. Penelitian Terdahulu	23
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Tahapan pelaksanaan penelitian.....	31
3.1.1. Tahap Hidrolisa Enzim	31
3.1.2. Proses Pemurnian.....	32

3.1.3. Proses Isomerisasi	32
3.2. Diagram alir penelitian.....	32
3.3. Waktu dan tempat penelitian.....	33
3.4. Alat dan Bahan Penelitian.....	34
3.5. Variabel Penelitian.....	35
3.6. Parameter yang dianalisa.....	35
3.7. Prosedur Penelitian	35
3.7.1. Proses hidrolisa	36
3.7.2. Proses pemurnian gula cair	36
3.7.3. Proses Isomerisasi	37
3.7.4. Uji aktivitas enzim	37
3.8. Analisa Hasil Penelitian	40
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hidrolisa pati secara enzimatik	43
4.1.1. Gelatinasi	43
4.1.2. Liquifikasi	45
4.1.3. Sakarifikasi	51
4.1.4. Isomerisasi	58
4.1.5. Konversi yang dihasilkan proses pembentukan <i>High fructose syrup</i>	63
BAB 5 KESIMPULAN	67
DAFTAR PUSTAKA	xi
LAMPIRAN	
APPENDIKS	xvii
BIODATA PENULIS	xxiv

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur glukosa	12
Gambar 2.2	Perbedaan struktur fruktosa dan glukosa	13
Gambar 2.3	Mekanisme kerja α -amilase	18
Gambar 4.1	Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu (a) 75 °C (b) 85 °C (c) 95 °C	48
Gambar 4.2	Probability plot konsentrasi gula reduksi proses liquifikasi.....	49
Gambar 4.3	Main effect plot variabel dengan gula reduksi yang dihasilkan.....	51
Gambar 4.4	Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu (a) 40 °C (b) 50 °C (c) 60 °C	54
Gambar 4.5	Pengaruh pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu 60 °C dengan waktu reaksi 48 jam	55
Gambar 4.6	Probability plot konsentrasi gula reduksi proses sakarifikasi.....	56
Gambar 4.7	Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada jumlah enzim (a) 250 mg (b) 350 mg dan (c) 500 mg.....	61
Gambar 4.8	Probability plot konsentrasi fruktosa proses isomerisasi.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi nutrisi sorgum dan sereal lain (per 100 g)	8
Tabel 2.2	Kelemahan sebagai anti nutrisi dan kelebihan sorgum sebagai bahan pangan fungsional	10
Tabel 2.3	Sifat amilograf tepung sorgum.....	11
Tabel 2.4	Kemanisan relatif dari larutan gula (5%) dan berbagai Pemanis	16
Tabel 2.5	Kelarutan dari beberapa gula pada 50 °C.....	17
Tabel 4.1	Kandungan gula reduksi dan yield gula reduksi hasil proses liquifikasi	46
Tabel 4.2	Analisa variansi pengaruh parameter liquifikasi terhadap Konsentrasi gula reduksi	50
Tabel 4.3	Kandungan gula reduksi hasil proses sakarifikasi	51
Tabel 4.4	Pengaruh pH terhadap hasil gula reduksi dan yield proses sakarifikasi pada suhu 60 °C selama 48 jam.....	55
Tabel 4.5	Analisa variansi pengaruh parameter sakarifikasi terhadap Konsentrasi gula reduksi	57
Tabel 4.6	Kandungan fruktosa hasil proses isomerisasi dengan analisa resorcinol method.....	59
Tabel 4.7	Analisa variansi pengaruh parameter isomerisasi terhadap Konsentrasi <i>high fructose syrup</i>	62
Tabel 4.8	Kandungan fruktosa dalam sirup hasil isomerisasi dan % konversi.....	65

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gula merupakan salah satu kebutuhan pokok masyarakat Indonesia terutama perannya sebagai pemanis, baik untuk dikonsumsi langsung ataupun untuk kebutuhan industri makanan dan minuman (Triyono, 2010). Permintaan gula nasional pada tahun 2017 mencapai 5,9 juta ton, sedangkan produksi hanya mencapai 2,9 juta ton, sehingga untuk memenuhi kebutuhan gula dalam negeri, diperlukan impor gula sebanyak 3 juta ton (Prasetyo, 2017). Jumlah impor yang cukup tinggi sebagai akibat terperosoknya produksi pabrik gula di Indonesia, sehingga sebagai pengganti gula sukrosa, banyak industri makanan dan minuman yang mulai beralih menggunakan gula cair (Aryanti dkk, 2002). Industri makanan dan minuman memilih menggunakan gula cair dikarenakan beberapa kelebihan gula cair antara lain tidak mengkristal, lebih mudah diproses karena lebih mudah larut, lebih praktis, dan memiliki tampilan yang lebih menarik jika dibandingkan dengan gula pasir pada umumnya (Ratna dan Yulistiani, 2011).

Gula cair seperti sirup glukosa hasil hidrolisa asam dapai mencapai DE (Dextrose equivalen) 56 – 58. Sedangkan hasil hidrolisa dengan amilase dilanjutkan dengan glucoamilase dapat menghasilkan sirup dengan DE 95-98. Sirup glukosa mempunyai kemanisan relative 0,6 sedangkan sukrosa mempunyai kemanisan relative 1,00, sehingga sukrosa belum dapat digantikan oleh sirup glukosa. Akan tetapi apabila glukosa diisomerisasi menjadi fruktosa (kemasnisan relative 1,5) sebanyak 50%, maka akan dihasilkan produk pemanis yang mirip dengan gula invert dan menandingi kemanisan sukrosa. Produk isomerisasi glukosa dikenal sebagai *high fructose syrup (HFS)* yang mulai meluas penggunaannya dalam industri pangan yang membutuhkan pemanis (Natasendjaja, 1983). HFS merupakan produk komersial yang cukup penting dan banyak digunakan oleh industri makanan dan farmasi. Pati, bahan pangan yang menyimpan karbohidrat seperti jagung, kentang, sorgum, gandum dan singkong merupakan bahan baku utama untuk produksi sirup glukosa dan HFS (Aschengreen dkk., 1979).

Salah satu bahan baku pembuatan HFS yaitu tepung sorgum. Sorgum merupakan bahan pangan pendamping beras yang mempunyai keunggulan komparatif terhadap serealia lain seperti jagung, gandum, dan beras. Komoditas ini mempunyai kandungan nutrisi dasar yang tidak kalah penting dibandingkan dengan serealia lainnya, dan mengandung unsur pangan fungsional. Biji sorgum mengandung karbohidrat 73%, lemak 3,5%, dan protein 10%. Usia panen sorgum 3-4 bulan. Kandungan amilosa tepung sorgum termasuk sedang dan sesuai untuk pangan, mendekati terigu (20-25%) (Suarni, 2012). Akan tetapi kekurangan bahan pangan yang berasal dari sorgum adalah kandungan tannin dan asam fitat yang tidak baik untuk kesehatan tubuh. Untuk menghilangkan atau mengurangi kadar tannin dan asam fitat dilakukan proses penepungan dengan metode basah (Firmansyah, 2007). Tepung sorgum juga tidak mengandung gluten yang baik seperti pada terigu, sehingga tidak mampu menggantikan posisi terigu pada olahan yang memerlukan pengembangan yang maksimal seperti roti dan sejenisnya (Suarni, 2012). Produk olahan berbasis tepung sorgum tidak baik bagi penderita autisme, dikarenakan kandungan gluten yang terdapat dalam tepung sorgum. Gluten dianggap sebagai racun karena tubuh tidak menghasilkan enzim untuk mencerna gluten, akibatnya protein yang tidak dicerna diubah menjadi komponen kimia yang disebut opioid, opioid bersifat seperti opium dan heroin yang bekerja seperti racun yang dapat mengganggu fungsi otak dan sistem kekebalan, sehingga menimbulkan gangguan perilaku (Hediger dkk., 2008). Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain untuk mengoptimalkan pemanfaatan tepung sorgum, salah satunya dibuat menjadi gula cair tinggi fruktosa atau biasa disebut *high fructose syrup*.

Beberapa penelitian yang sudah dilakukan dalam pembuatan HFS yaitu pembuatan HFS dari tepung maizena secara enzimatis, pada proses pembuatan HFS menggunakan dua tahapan yaitu hidrolisa asam dengan menggunakan HCl, serta proses isomerisasi menggunakan enzim glukoisomerase, diperoleh konversi produk akhir mencapai 95,58% (Mahreni dan Sulistyowati, 2004). Tomotani dan Vitolo (Tomotani dan Vitolo, 2007), membuat HFS dalam membran bioreaktor menggunakan immobilisasi invertase. HFS terbaik yang diperoleh sebesar 70%. Ramos (Ramos dkk., 2011) membuat HFS dari jus *cashew apple* dimana untuk

meningkatkan jumlah fruktosa dibandingkan glukosanya digunakan resin penukar ion Dowex MTO 99Ca. Fruktosa lebih kuat diserap dari glukosa, dengan selektivitas yang diukur mulai 1,50-2,25. Pembuatan HFS dari tepung singkong, tepung ubi jalar dan pencampuran kedua tepung tersebut dengan tepung sereal dengan proses hidrolisa enzim dan isomerisasi sirup glukosa, diperoleh hasil konversi dari glucose ke fructose sebesar 42 – 43% (Johnson, Moorthy dan Padmaja, 2010). Produksi HFS dari *broken rice* menggunakan proses hidrolisa enzim dan proses isomerisasi pada packed bed column. Kondisi optimal menghasilkan yield glukosa dari starch yaitu sebesar 90,8% dengan kondisi operasi konsentrasi α -amilase 0,12%; tepung beras 20%; suhu 96 °C dan waktu reaksi 90 menit, sedangkan hasil proses isomerisasi mengandung 42% fruktosa, 50% glukosa dan 3% maltose (Chen dan Chang, 1984). Penelitian pembuatan HFS juga dilakukan oleh (Johnson, Padmaja dan Moorthy, 2009) dengan membandingkan produksi sirup glukosa dan HFS dari singkong dan ubi manis dengan menggunakan proses hidrolisa enzim dan isomerisasi, dalam penelitian ini dihasilkan yield fruktosa dan glukosa lebih banyak dihasilkan dari bahan baku tepung singkong. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan bahan baku tepung sorgum belum digunakan untuk pembuatan HFS, akan tetapi tepung sorgum dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan sirup glukosa, seperti penelitian yang dilakukan oleh (Shinde dkk., 2004) yaitu optimisasi kondisi proses untuk pembuatan sirup glukosa dari tepung sorgum dengan immobilisasi enzim α -amilase dan glucoamilase dengan menggunakan proses hidrolisa enzim.

Tujuan penelitian ini akan dibuat gula cair tinggi fruktosa (HFS) dari pati sorgum merah dengan proses hidrolisa enzimatik, dan isomerisasi dengan, pada penelitian ini juga bertujuan untuk menentukan kondisi operasi optimal pada masing – masing tahapan proses, serta pengoptimalan manfaat dari tepung sorgum merah.

1.2 Perumusan Masalah

Gula pasir saat ini penggunaannya cukup banyak digantikan oleh gula cair. Namun produsen gula cair saat ini masih sedikit sehingga untuk memenuhi kebutuhan gula cair di masyarakat negara masih harus melakukan

impor dari luar negeri. Pada dasarnya pembuatan gula cair tinggi fruktosa tidak sulit sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai produksi gula cair agar ke depannya Indonesia dapat memiliki industri gula cair sendiri. Tepung sorgum merah digunakan sebagai bahan baku karena memiliki kadar pati yang cukup tinggi sehingga berpotensi untuk dibuat menjadi gula cair

1.3 Batasan Masalah

1. Bahan baku pada proses pembuatan gula cair tinggi fruktosa yaitu tepung sorgum merah.
2. Pada tahapan hidrolisa dilakukan dengan proses liquifikasi dan sakarifikasi untuk menghasilkan sirup glukosa.
3. Proses liquifikasi dengan menggunakan enzim α – amilase dan variabel berubah waktu reaksi, suhu, dan pH. Proses sakarifikasi menggunakan enzim glukoamilase dan variabel berubah (pH, suhu, dan waktu operasi).
4. Proses pembuatan sirup tinggi fruktosa dengan proses isomerisasi menggunakan enzim glukoisomerase dan variabel berupa suhu operasi, pH, dan waktu operasi.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Membuat gula cair tinggi fruktosa dari tepung sorgum merah secara hidrolisa dan isomerisasi dengan menggunakan enzim α -amilase, glukoamilase, dan glukoisomerase.
2. Mengetahui kadar gula reduksi pada masing – masing tahapan proses (liquifikasi, sakarifikasi, dan isomerisasi).
3. Menentukan kondisi optimum dari setiap tahapan hidrolisa enzim (liquifikasi dan sakarifikasi) dan isomerisasi.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat dari penelitian ini adalah dapat dibuat sumber sirup fruktosa yang lain selain dari gula tebu, yaitu gula cair yang berasal dari pati sorgum merah.
2. Mengetahui kondisi optimal setiap proses tahapan

3. Dapat memanfaatkan potensi tepung sorgum merah

1.6 Kebaharuan Penelitian

Bahan baku pembuatan gula cair pada umumnya terbuat dari pati. Pati, bahan pangan yang menyimpan karbohidrat seperti jagung, kentang, sorgum, gandum dan singkong merupakan bahan baku utama untuk produksi sirup glukosa dan HFS. Pada umumnya untuk bahan baku pembuatan sirup glukosa menggunakan tepung singkong dan tepung jagung. Tepung sorgum tidak mengandung gluten yang baik seperti pada terigu, sehingga tidak mampu menggantikan posisi terigu pada olahan yang memerlukan pengembangan yang maksimal seperti roti dan sejenisnya, sehingga untuk mengoptimalkan pemanfaatan tepung sorgum salah satunya diolah menjadi gula cair tinggi fruktosa atau yang lebih dikenal dengan *high fructose syrup*.

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pati dan Sorgum

Pati

Pati merupakan homopolimer glukosadengan ikatan α - glikosidik. Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai C-nya serta lurus atau bercabang rantai molekulnya. Pati terdiri dari 2 fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi yang tidak larut disebut amilopektin (Risnoyatiningasih, 2011). Secara garsis besar pati dapat dibedakan atas :

a. Amilosa

Amilosa merupakan suatu polimer rantai tunggal tidak bercabang, terbentuk dari 500-20.000 monomer α -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik (Kunamneni, Permaul, dan Singh, 2005). Sifat amilosa dapat larut dalam air. Amilosa mempunyai struktur rantai yang lurus. Apabila kadar amilosa tinggi maka pati akan bersifat kering, kurang lekat dan cenderung meresap air lebih banyak (higroskopis) (Risnoyatiningasih, 2011).

b. Amilopektin

Amilopektin memiliki sifat tidak larut dalam air. Amilopektin adalah suatu polimer rantai bercabang terbentuk dari 100.000 monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik pada rantai utama dan α -1,6 glikosidik pada percabangannya (Kunamneni dkk., 2005).

Sorgum

Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) merupakan tanaman pangan penting kelima setelah padi, gandum, jagung, dan barley, dan menjadi makanan utama lebih dari 750 juta orang di daerah tropis setengah kering di Afrika, Asia, dan Amerika Latin. Di Indonesia sorgum merupakan tanaman sereal pangan ke tiga setelah padi dan jagung. Walaupun potensi sorgum di Indonesia cukup besar dengan beragam varietas, baik lokal maupun introduksi, tetapi pengembangannya

bukan hal mudah. Banyak masalah dihadapi termasuk sosial, budaya, dan psikologis di mana beras merupakan pangan bergengsi (*superior food*) sedang sorgum kurang bergengsi (*inferior food*), sementara gandum adalah bahan pangan impor yang sangat bergengsi (Suarni, 2012).

Sorgum merupakan bahan pangan pendamping beras yang mempunyai keunggulan komparatif terhadap sereal lain seperti jagung, gandum, dan beras. Komoditas ini mempunyai kandungan nutrisi dasar yang tidak kalah penting dibandingkan dengan sereal lainnya, dan mengandung unsur pangan fungsional. Biji sorgum mengandung karbohidrat 73%, lemak 3,5%, dan protein 10% bergantung pada varietas dan lahan pertanaman (Suarni, 2012). Nutrisi dasar sorgum tidak jauh berbeda dengan sereal lainnya. Secara umum kadar protein sorgum lebih tinggi dari jagung, beras kulit pecah dan jawawut, tetapi lebih rendah dari gandum. Kadar lemak sorgum lebih tinggi dibandingkan beras kulit pecah, gandum, jawawut dan lebih rendah dari jagung (Suarni, 2012). Kandungan nutrisi sorgum bisa dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi nutrisi sorgum dan sereal lain (per 100g)

Komoditas	Abu (g)	Lemak (g)	Protein (g)	Karbohidrat (g)	Serat kasar (g)	Energi (kcal)
Sorgum	1,6	3,1	10,4	70,7	2	329
Beras kulit pecah	1,3	2,7	7,9	76,0	1	362
Jagung	1,2	4,6	9,2	73	2,8	358
Gandum	1,6	2,0	11,6	71	2	342
Jawawut	2,6	1,5	7,7	72,6	3,6	336

➤ Antinutrisi Sorgum

Kekurangan mutu bahan pangan asal sorgum adalah kandungan tannin dan asam fitat. Senyawa tersebut merupakan antinutrisi yang merugikan sistem pencernaan manusia (Towo, Matuschek, dan Svanberg, 2006). Tanin adalah salah satu senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa ini dapat mengikat protein dan gelatin. Tanin memiliki peran biologis kompleks, hal ini disebabkan oleh sifat tannin yang sangat kompleks, mulai dari kemampuan mengendapkan protein hingga pengkhelat logam (Suarni, 2012). Tanin pada

sorgum biasanya berikatan dengan karbohidrat dan membentuk jembatan oksigen sehingga dapat dihidrolisis dengan asam sulfat atau asam klorida (Firmansyah, 2007). Asam fitat merupakan bentuk penyimpanan fosfor yang terbesar pada tanaman sereal termasuk sorgum. Senyawa tersebut dapat mengikat mineral dalam bentuk ion sehingga ketersediaan mineral menjadi terganggu dan berpengaruh negatif terhadap defisiensi mineral, terutama zat besi. Pada biji sorgum, asam fitat terdapat dalam sel aleuron dengan kisaran 0,3- 1,0% (Hurrell, Reddy, Juillerat, dan Cook, 2003).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengurangi senyawa tersebut, antara lain dengan memberi perlakuan perkecambahan (Dicko dkk., 2006). Perlakuan perendaman selama 72 jam dan perkecambahan selama 36 jam dapat menghasilkan sorgum dengan kadar tanin dan asam fitat terendah sehingga dapat digunakan untuk berbagai produk pangan. Pada proses penepungan dengan metode basah, melalui perendaman terjadi fermentasi alami spontan. Selain mendapatkan rendemen tepung tinggi, tekstur tepung yang lebih halus diperoleh melalui perlakuan perendaman yang melarutkan senyawa tanin (Firmansyah, 2007). Selama perendaman, proses fermentasi dibantu oleh beberapa jenis bakteri penghasil asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum*, *Candida crusei*, dan *Lactobacillus delbruecki* (Ohenhen dan Ikenebomeh, 2007). Fermentasi tersebut memberi efek positif karena menurunkan konsentrasi asam fitat dan tanin.

➤ **Komponen Pangan fungsional dan manfaat bagi kesehatan**

Pemanfaatan sorgum sebagai sumber pangan fungsional belum banyak diketahui, selama ini masih terbatas pada peranannya dalam diversifikasi pangan sebagai sumber karbohidrat. Padahal sorgum mengandung serat pangan yang dibutuhkan tubuh (*dietary fiber*) yang dapat memberi efek positif terhadap kesehatan. Manfaat terhadap kesehatan terutama untuk pencegahan penyakit jantung, obesitas, penurunan hipertensi, menjaga kadar gula darah, dan pencegahan kanker usus. Pada penyakit cardio vaskuler (penyakit jantung koroner/PJK), serat pangan berfungsi dalam mengikat asam empedu sehingga menurunkan kadar kolesterol darah (Suarni, 2012). Sorgum mengandung mineral Fe yang tinggi dan serat pangan yang dibutuhkan oleh tubuh yang kurang dimiliki

gandum, unsur mineral Fe sangat membantu dalam pembentukan sel darah merah. Selain itu sorgum kaya akan kalsium, phosphor dan magnesium. Kalsium berfungsi untuk membentuk tulang normal, posfor berfungsi untuk pertumbuhan, dan magnesium berfungsi mempertahankan denyut jantung normal dan kekuatan tulang (Suarni, 2012)

Kelemahan dan kelebihan sorgum serta interaksi dengan komponen lain sebagai bahan pangan fungsional dapat dilihat pada tabel 2.2

Tabel 2.2 Kelemahan sebagai anti nutrisi dan kelebihan sorgum sebagai bahan pangan fungsional.

Kelemahan (Antinutrisi)	Keunggulan (Pangan fungsional)
<ul style="list-style-type: none"> • Tanin Antinutrisi, komponen fenolik dapat berinteraksi dengan ptotein, terbentuk komplaks yang tidak larut dan dapat menurunkan daya cerna. Menghambat aktivitas enzim pencernaan. Memiliki rasa sepat, warna kusam pada produk akhir olahan. • Asam fitat Antinutrisi, dapat mengikat mineral dalam bentuk ion sehingga dapat menyebabkan pengabsorbsian mineral rendah. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tanin (konsentrasi rendah) berfungsi sebagai antioksidan. • Asam fitat (konsentrasi rendah) dapat encegah penyakit degenerative seperti kanker. • Antosianin merupakan antioksidan yang lebih stabil dibandingkan yang terdapat pada buah atau sayuran. • Selulosa, β-glukan, hemiselulosa, merupakan serat pangan yang dibutuhkan tubuh.

(Karainova dkk, 1990; Waniska, 2000; Awika dan Ronney, 2004; Manach dkk, 2005; Dicko dkk, 2005)

➤ **Pemanfaatan sorgum sebagai bahan pangan**

Berbagai teknologi pengolahan biji sorgum menjadi bahan pangan setengah jadi (sorgum sosoh, tepung, dan pati) bertujuan untuk menurunkan kadar tannin pada sorgum. Untuk memanfaatkan sorgum sebagai bahan pangan, karakteristik fisikokimia pati setiap varietas sangat penting agar pemilihan varietas lebih sesuai dengan produk yang diinginkan. Pemanfaatan sorgum untuk berbagai produk olahan umumnya dalam bentuk tepung.

Kandungan amilosa tepung varietas sorgum termasuk sedang dan sesuai untuk pangan, mendekati terigu (20-25%). Rasio amilosa dan amilopektin sangat menentukan produk akhir dari suatu bahan makanan. Sifat amilograf bahan pangan memberikan petunjuk dalam pemilihan varietas yang sesuai dengan produk yang diinginkan. Pada awal gelatinisasi, waktu yang dibutuhkan berkisar antara 29,0-29,5 menit. Sementara suhu awal gelatinisasi berkisar antara 72,5-76,5°C. Berikut adalah sifat amilograf dari beberapa varietas tepung sorgum.

Tabel 2.3. Sifat Amilograf tepung sorgum.

Varietas	Awal gelatinasi		Granul pati pecah		Viskositas		
	Waktu (menit)	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Suhu (°C)	Viskositas (BU)	Dingin (BU)	Balik (BU)
Kawali	29,5	76,5	42,5	92	360	650	600
Numbu	29,0	74,5	40	93	270	720	640
Span	29,5	72,5	42	92,5	380	650	600

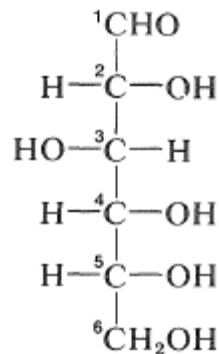
Sumber: Suarni dan Firmansyah, 2005

Sorgum sebagai sumber pati, yaitu memiliki komposisi pati sekitar 70% (Firmansyah, 2007) dapat dijadikan bahan baku industri dekstrin, gula, bioethanol, farmasi, dan kosmetik.

2.2. Glukosa

Glukosa atau dextrosa merupakan gula sederhana atau monosakarida, glukosa melimpah keberadaannya seperti yang terdapat pada buah, tanaman, dan di dalam darah. Glukosa memiliki rumus kimia $C_6H_{12}O_6$ dan merupakan aldoheksosa yang memiliki enam rantai karbon dengan grup aldehyd (gambar 2.1) (Neuman, 1999). Glukosa merupakan sumber energi, glukosa dari makanan dapat memberikan 3,8 kalori per gram (Food And Agriculture Organization Of The United Nations, 2003). Glukosa juga digunakan untuk makanan yaitu sebagai pemanis, dimana nama dagangnya glukosa atau dextrosa. Glukosa sebagai pemanis makanan dapat ditemukan dalam buah kaleng, minuman ringan, selai,

produk susu, kue kering, es krim, permen, saus, dan juga untuk obat – obatan dalam bentuk sirup.



Gambar 2.1 Struktur glukosa

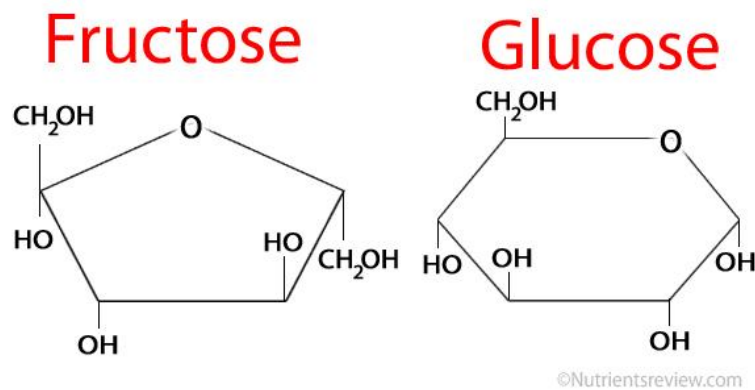
Glukosa sebagai pemanis dapat diproduksi dari *starch* atau tepung, di United states produksi glukosa berasal dari bahan baku tepung jagung (Nutritive sweeteners from corn, 2006) dan di negara lain produksi glukosa dapat berasal dari tepung gandum, sorgum, beras, kentang, singkong, dan juga sagu. Glukosa di pasaran tersedia dalam bentuk liquid dan juga dalam bentuk powder atau biasa disebut dextrose, gula anggur atau gula jagung. Glukosa powder mempunyai warna putih, tidak berbau, mempunyai tingkat kemanisan 74 – 82 % (White, 2008).

Manfaat glukosa selain sebagai sumber energi yaitu glukosa berperan dalam memperbaiki ingatan. Dalam beberapa penelitian glukosa dalam jumlah sampai 50 gram yang dikonsumsi sebelum melakukan kegiatan (*memory task*) dapat memperbaiki ingatan jangka pendek pada anak – anak (Benton D dkk, 1987), orang dewasa dan tua dengan kondisi sehat (Sünram-Lea SI dkk, 2004)(Korol DL dkk 1998)(Gonder-Frederik L dkk, 1997)(Hall JL dkk, 1989)(Smith MA dkk, 2009). Glukosa juga dapat berakibat buruk untuk kesehatan. Glukosa dapat meningkatkan karies gigi (Utreja D dkk, 2010), dan penyakit diabetes, dalam diabetes dibedakan menjadi 2 tipe yaitu diabetes mellitus tipe 1 dimana pankreas tidak menghasilkan hormon insulin yang cukup sehingga glukosa tidak dapat masuk ke sel otot dan lemak yang berakibat glukosa terakumulasi dalam darah dan menyebabkan *hiperglikemia* (American diabetes association), sedangkan diabetes tipe 2 sel – sel tubuh sebagian resisten terhadap insulin, sehingga

mengurangi kemampuan untuk mengambil glukosa dan berakibat glukosa terakumulasi dalam darah (American diabetes association).

2.3. Fruktosa

Fruktosa atau gula buah adalah gula sederhana yang termasuk dalam karbohidrat sederhana. Fruktosa disebut gula buah dikarenakan fruktosa merupakan kandungan utamanya, akan tetapi buah juga mengandung gula lainnya seperti glukosa dan sukrosa. Fruktosa mempunyai rumus kimia yang sama seperti glukosa $C_6H_{12}O_6$ tetapi perbedaannya terletak pada susunan atomnya.



Gambar 2.2 Perbedaan struktur pada fruktosa dan glukosa

Sumber utama dari fruktosa terdapat dalam buah – buahan, madu, softdrink yang menggunakan HFCS (*high fructose corn syrup*) sebagai pemanis, fruktosa juga terdapat pada multivitamin sirup yang menggunakan pemanis fruktosa. Fruktosa juga merupakan sumber energi yang menyediakan 3,6 kalori per gram (Food And Agriculture Organization Of The United Nations, 2003). Fruktosa sebagai pemanis dapat diproduksi dari tepung jagung atau sukrosa yang dihasilkan dari tebu atau gula bit. Dipasaran fruktosa tersedia dalam bentuk powder dan sirup. Fruktosa powder berwarna putih, tidak berbau, mempunyai tingkat kemanisan 120 – 190 % (White JS, 2008)(Rowe RC dkk, 2009), bersifat higroskopis (Rowe RC dkk, 2009), fruktosa mempunyai kelarutan dalam air 400 g/100 ml pada suhu 25 °C (68) dan 6 g/100 ml dalam etanol 95% pada suhu 20 °C (Rowe RC dkk, 2009).

Seperti kebanyakan nutrisi lain, fruktosa diserap di usus halus. Orang dewasa normal dapat menyerap 25 – 50 gram fruktosa dari larutan fruktosa dalam satu hari (Gibson PR dkk, 2007)(Latulippe ME dkk, 2011). Efek samping dari konsumsi fruktosa yang berlebihan dapat menyebabkan beberapa gangguan kesehatan seperti diare (Mitchell H, 2006), encok dikarenakan asupan fruktosa yang tinggi dapat meningkatkan kadar asam urat dalam darah sehingga dapat meningkatkan resiko encok (Tappy L dkk, 2010)(Gao X dkk, 2007). Asupan fruktosa yang tinggi juga dikaitkan dengan resiko peningkatan batu ginjal (Taylor EN dkk, 2008). Akan tetapi dari beberapa studi yang dilakukan belum menemukan hubungan yang konsisten antara asupan fruktosa dengan resistensi insulin dan diabetes (Tappy L dkk, 2010), dan juga asupan fruktosa yang tinggi tidak terkait dengan tekanan darah tinggi (Ha V dkk, 2012), penyakit jantung koroner (Tappy L dkk, 2010), dan *fatty liver* (Chung M dkk, 2014).

2.4. High Fructose Syrup (HFS)

Sejarah sirup tinggi fruktosa (dengan bahan baku jagung) banyak dikaitkan dengan gula. Permintaan akan HFS dikarenakan gangguan periodik dari pasokan gula. Pada saat itu disebabkan oleh cuaca atau ketidakstabilan politik di daerah penghasil tebu, pasokan gula menjadi langka dan harganya mengalami kenaikan sehingga menyebabkan kesulitan bagi produsen makanan dan minuman. Pada pertengahan abad 20 merupakan waktu yang sangat kacau untuk industri gula, harga gula naik hingga enam kali lipat. Hal ini menciptakan peluang bagi industri penggilingan jagung yang mempunyai kesempatan untuk menjadikan jagung sebagai *raw material* pembuatan sirup jagung dan dextrose. Akan tetapi sirup jagung dan dextrose tidak cukup manis untuk bersaing dengan gula. Serangkaian pencapaian teknis dilakukan untuk menanggulangi krisis gula yang sedang terjadi, sehingga dikembangkanlah produk yang manisnya dan fungsinya dapat menandingi gula yaitu sirup jagung tinggi fruktosa atau high fructose corn syrup (White, 2008).

High fructose syrup atau HFS merupakan pemanis cair yang terbuat dari pati dengan menggunakan enzim (α -amilase dan glukoamilase) untuk menghidrolisis pati menjadi sirup glukosa, serta menggunakan *enzyme* glucose

isomerase untuk proses isomerisasi sirup glukosa menjadi sirup tinggi fruktosa (HFS). Tiga kategori HFS yang sudah umum digunakan yaitu HFCS-90 (90% fruktosa dan 10% glukosa) dimana biasa digunakan untuk penggunaan khusus, akan tetapi yang lebih penting yaitu HFCS-90 dicampur dengan sirup glukosa sehingga menghasilkan HFCS-42 dan HFCS-55) (Parker, Salas, dan Nwosu, 2010).

➤ **Proses Manufaktur *High Fructose Syrup***

Cara pembuatan high fructose syrup yaitu dengan menggunakan starch yang mengandung molekul glukosa, yang terdiri dari amilosa dan amilopektin. Untuk memecah pati menjadi sirup glukosa dan dari sirup glukosa menghasilkan HFS maka dibutuhkan pemanasan, kaustik soda/ asam klorida dan tiga aktivitas dari enzim yang berbeda (α -amilase, glucoamilase dan glucose isomerase). α -amilase diprosuksi dari *Bacillus spp.*, berfungsi untuk menghidrolisa starch menjadi dextrin rantai pendek dan oligosakarida. Enzim yang kedua, glucoamilase dihasilkan dari jamur seperti *Apergillus*, memecah dextrin dan oligosakarida menjadi glukosa sederhana. Produk dari kedua enzyme ini biasa disebut sirup glukosa. Enzim ketiga yang digunakan dalam proses pembuatan HFS yaitu glucose isomerase, yang berfungsi mengkonversi glukosa menjadi fruktosa (Parker dkk., 2010).

Proses manufaktur HFS di inudtsri yaitu pertama pemanenan dan pengiriman raw material untuk diproses lebih lanjut di industri. Salah satu contoh produksi HFS di Industri yaitu proses untuk produksi HFS 42% yaitu dengan pembuatan larutan starch dengan 35% solid dan pH 6,5 dialirkan ke steam jet pada 180 °F. Slurry didinginkan hingga suhu 95 °C pada reaktor kedua kemudian ditambahkan enzym alpha-amylase dengan waktu tinggal 120 menit sehingga menghasilkan larutan dengan kadar 12 DE. Proses selanjutnya pH disesuaikan sekitar 4,3 dan ditambahkan enzim glucoamilase. Kemudian produk dipompa ke tanki sakarifikasi dimana enzim bereaksi selama 24 – 90 jam. Reaksi glucoamilase menghasilkan liquor yang mengandung 94% dextrosa, liquor ini kemudian di filtrasi untuk

menghilangkan residu protein dan lemak sebelum melewati bed karbon aktif. Setelah pemurnian dengan karbon aktif proses selanjutnya yaitu produk di demineralisasi melawati *anion-kation exchange* sebelum diisomerisasi. Tahapan konversi menjadi high-fructose syrup dilakukan pada reaktor yang mengandung glukosa isomerase yang diimobilisasi. Dengan menggunakan enzim ini kondisi operasi optimal yaitu dengan range pH 6,5 – 8,5 dan suhu 40 oC – 80 oC. Waktu tinggal dalam reaktor kurang dari 4 jam. High fructose syrup 42% yang diproduksi dengan metode ini digunakan dalam berbagai aplikasi sebagai pengganti sukrosa (Hobbs, 2009).

➤ **Penggunaan *High Fructose Syrup***

Penggunaan high fructose syrup meningkat sejak diperkenalkan sebagai pemanis, hal ini menjadikan HFS sebagai lawan dari sukrosa sebagai pemanis utama dalam industri makanan hal ini dikarenakan HFS mempunyai kelebihan fungsional dibandingkan sukrosa. Kelebihan dari HFS yaitu harganya lebih murah, mempunyai tingkat kemanisan yang lebih tinggi dari fruktosa (Tabel 2.2), mempunyai kelarutan yang lebih baik dari sukrosa (Tabel 2.3), dan mempunyai kemampuan untuk tetap dalam keadaan larutan dan tidak mengkristal sukrosa pada keadaan tertentu (Parker et al., 2010).

Table 2.4 Kemanisan relative dari larutan gula (5%) dan berbagai pemanis. Kemanisan diukur dengan menggunakan sukrosa sebagai reference dengan indeks kemanisa 1.0.

Gula atau pemanis	Kemanisan Relatif
Sukrosa	1,0
Gula invert	0,85 – 1,0
Fruktosa	1,3
Glukosa	0,56
Galaktosa	0,4 – 0,6
Maltosa	0,3 – 0,5
Laktosa	0,2 – 0,3

Gula atau pemanis	Kemanisan Relatif
Xylitol	1,01
Siklamat	30 – 80
Acesulfame K	200
Aspartame	100 – 200
Sakarín	200 – 300
Stevioside	300
Sucralose	600
Thaumatín	2000 – 3000

Sumber : Godshall (1997)

Table 2.5 Kelarutan dari beberapa gula pada 50 °C. Kelarutan diukur sebagai gram gula dilarutkan dalam 100 ml air.

Sugar	Gram dari gula dilarutkan dalam 100 ml air
Fruktosa	86,9
Sucrosa	72,2
Glukosa	65,0
Maltosa	58,3
Laktosa	29,8

Sumber : McWilliams (2008)

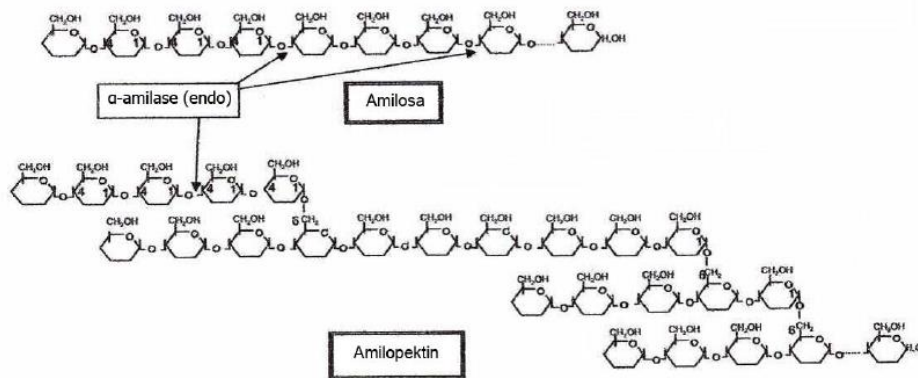
Penggunaan akan HFS meningkat dikarenakan kelebihan fungsionalnya, penggunaan HFS banyak ditemukan dalam makanan yang dipanggang seperti roti, biskuit, kue kering; minuman ringan (jus, minuman berkarbonasi, selai dan jeli); Produk kaleng siap makan; produk susu; termasuk juga saus dan bumbu. Sebagian makanan olahan di AS mengandung HFS untuk memenuhi fungsionalitas dalam makanan (Parker dkk., 2010).

2.5. Enzim

2.3.1. α -amilase

α -amilase (α -1,4- glukán 4- glukánohidrolase, E.C 3.2.1.1) merupakan endoenzim yang menghidrolisis ikatan α -(1,4)-glikosida dari bagian dalam secara

acak baik pada amilosa maupun amilopektin. Enzim α -amilase disebut juga dengan *α -retaining double displacement*. α -amilase dibedakan menjadi dua golongan yaitu termostabil (tahan panas) dan termolabil (tidak tahan panas). α -amilase yang termostabil dapat diperoleh dari *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus* dan *Bacillus amyloliquefaciens*, sedangkan yang termasuk termolabil dihasilkan dari jamur seperti *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger*. α -amilase termodifikasi dapat bekerja pada suhu hingga 105-110°C dengan kisaran pH 5.1-5.6 selama 60-180 menit (Sivaramakrishnan, Gangadharan, Madhavan, Soccol, dan Pandey, 2006). Aktivitas enzim α -amilase dipengaruhi oleh beberapa faktor yang diantaranya adalah pH dan suhu. Enzim α -amilase mempunyai kondisi optimum pada suhu 90-105°C dengan pH 5.6-6.0. Suhu yang terlampaui tinggi dari kondisi optimum akan mengganggu dan merusak enzim, sedangkan pemberian suhu yang terlampaui rendah dari kondisi optimum akan menyebabkan gelatinisasi pati tidak sempurna (Richardson dkk., 2002). Mekanisme kerja enzim α -amilase dalam memecah pati amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.3 Mekanisme kerja α -amilase

2.3.2. Glukoamilase

Glukoamilase (EC 3.2.1.3) dikenal juga dengan amiloglukosidase atau α -(1,4)-D- glukon glukohidrolase. Glukoamilase dapat dihasilkan dari jamur : *Aspergillus spp*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus niveus*, dari yeast : *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomyces diasticus*, dan dari bakteri : *Clostridium acetobutylicum* (23). Glukoamilase yang dihasilkan dari *aspergillus awanori* dan

Aspergillus niger tergolong thermostabil dan mempunyai kisaran pH yang lebih optimal. Kedua mikroba tersebut sekarang secara universal digunakan untuk sakarifikasi pati. Glukoamilase murni banyak digunakan untuk pembuatan sirup glukosa dari maltodekstrin yang diproduksi oleh α -amilase dari pemurnian pati.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim glukoamilase diantaranya adalah:

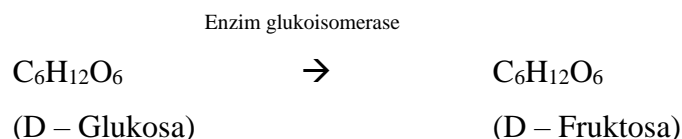
1. Suhu, kondisi suhu optimum untuk enzim ini adalah 40-60°C.
2. Nilai pH optimum untuk aktivitas enzim ini adalah 4.5.
3. Waktu reaksi yang diperlukan untuk hidrolisa pati sekitar 48-96 jam

(Rahmawati dan Sutrisno, 2015)

2.3.3. Glukoisomerase

Glukoisomerase adalah enzim yang dikenal dalam proses pembuatan sirup fruktosa (HFS) sebagai katalis pembentukan fruktosa dalam medium glukosa. Enzim yang umum digunakan secara komersial adalah D-xilosa ketol-isomerase (EC. 5.1.1.5). Enzim ini terdapat intraselular pada mikroba penghasilnya; terbentuk dengan induksi xilosa. Berdasarkan kebutuhan ion metal sebagai aktivator, enzim ini dapat dibagi menjadi enzim yang membutuhkan ion Mg^{2+} , ion Mn^{2+} , ion Co^{2+} , enzim yang tidak membutuhkan ion (Natasendjaja, 1983).

Isomerisasi glukosa menjadi fruktosa terjadi pada suhu 60°C dan pH 8,2 dengan bantuan enzim glukoisomerase:



Produktivitas enzim glukoisomerase, dipengaruhi faktor-faktor sebagai berikut (Mahreni dan Sulistyowati, 2004):

- **Suhu operasi:** Semakin tinggi suhu operasi, makin besar aktifitas enzim, tetapi menurunkan stabilitasnya, serta pembentukan warna makin banyak pula. Suhu operasi yang dianjurkan adalah sekitar 60°C
- **pH:** pH dari bahan yang akan diolah juga akan mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim. Aktivitas enzim glukoisomerase maksimum dicapai pada pH sekitar 7,8 – 8,3, dan aktivitas menurun dengan cepat pada pH dibawah 7.

Enzim menjadi tidak aktif pada pH di bawah 5 dan di atas 9. Stabilitas enzim tertinggi dicapai pada pH sekitar 7 – 8. Stabilitas turun dengan cepat pada pH di atas 8,5 dan di bawah 6,5. Meskipun pada pH tinggi pembentukan warna makin banyak, namun karena waktu tinggal yang relative pendek, serta dapat dihilangkan dengan pemberian karbon aktif, maka pH pemasukan sebaiknya diatur sekitar $8,2 \pm 0,1$, agar pH keluaran sekitar 7-8 (pH disini diukur pada 25°C)

- **Waktu kontak:** Agar pembentukan hasil samping, misalnya zat warna dapat ditekan seminimal mungkin, waktu kontak diatur secepat mungkin, biasanya sekitar 1-2 jam
- **Aktivator:** Aktivitas enzim akan meningkat dengan penambahan *activator* yang sesuai. Ion magnesium adalah aktivator yang baik untuk enzim glukoisomerase. Jumlah ion magnesium yang dibutuhkan biasanya sekitar 1×10^{-3} sampai 5×10^{-3} mol / L
- **Konsentrasi substrat:** Untuk larutan dekstrosa dari hasil hidrolisis pati, konsentrasi dekstrosa dalam larutan normalnya berkisar antara 93-96%.

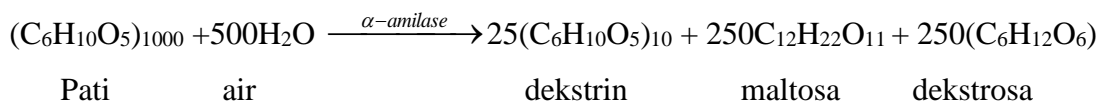
2.6. Hidrolisis Pati

Hidrolisis pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi komponen sederhana penyusunnya seperti dekstrin, maltotriosa, maltosa dan glukosa. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatis dan asam. Hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibandingkan dengan hidrolisis asam, karena enzim akan memutus ikatan glikosida secara spesifik, kerusakan warna dapat diminimalkan dan tidak menyisakan residu (Rahmawati dan Sutrisno, 2015). Produk hasil hidrolisis pati umumnya dikarakterisasi berdasarkan tingkat derajat hidrolisisnya dan dinyatakan dengan nilai DE (Dekstrosa Equivalen) yang menunjukkan prosentase dekstrosa murni dalam total padatan substrat yang dihidrolisis. Hidrolisis pati menjadi sirup glukosa melalui tiga tahapan, yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi (Rahmawati dan Sutrisno, 2015).

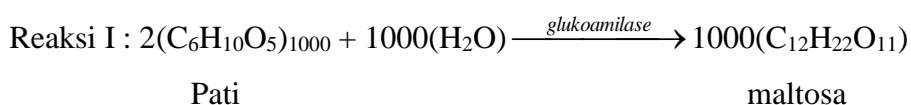
Gelatinisasi merupakan proses awalan sebelum likuifikasi. Gelatinisasi adalah proses pembengkakan granula pati akibat pemanasan yang memutus ikatan hidrogen pada ikatan glikosida pati. Pembengkakan granula tersebut bersifat

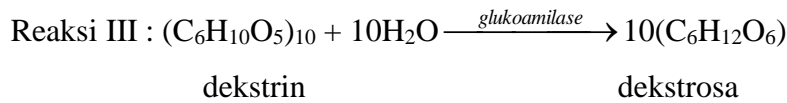
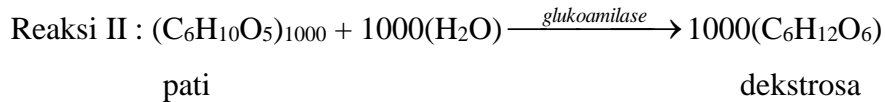
irreversible atau tidak bisa lembali lagi ke bentuk semula. Likuifikasi yang dilakukan tanpa gelatinisasi terlebih dahulu akan membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan substrat yang telah mengalami gelatinisasi (Mitsuiki dkk., 2005).

Likuifikasi merupakan proses hidrolisis pati menjadi molekul-molekul yang lebih kecil seperti maltosa, glukosa, dan dekstrin dengan menggunakan enzim α -amilase. Likuifikasi pati umumnya dilakukan hingga dekstroza ekuivalen mencapai 15-20% atau sampai larutan berwarna merah bata jika direaksikan dengan larutan iodin (Dekker, Fox, Whitaker, Voragen, dan Wong, 2003) Aktivitas enzim α -amilase menentukan cepat lambatnya proses likuifikasi. Enzim ini akan bekerja lebih cepat jika menggunakan substrat yang berbentuk gel atau yang sebelumnya telah digelatinisasi. Likuifikasi dapat dilakukan pada suhu 105°C, pH 6 selama 5 menit atau pada suhu 95-97°C, pH 6 selama 1-3 jam dengan menggunakan α -amilase termostabil. Enzim α -amilase ini memecah ikatan α -(1,4) glikosidik secara acak pada bagian dalam substrat dan menghasilkan gula reduksi dan dekstrin dengan rantai glukosa jumlah kecil (Norman, 2001). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Sakarifikasi merupakan tahap hidrolisis lanjutan dari tahap likuifikasi dengan menggunakan enzim glukoamilase. Enzim glukoamilase merupakan salah satu eksoenzim yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4 dan sedikit pada ikatan α -1,6 pada titik percabangan. Enzim ini akan menghidrolisis pati menjadi oligosakarida, matotriosa menjadi maltosa dan menghidrolisa maltosa menjadi glukosa. Sakarifikasi dapat dilakukan pada suhu antara 55-60°C dengan pH 4.5 yang mana proses tersebut membutuhkan waktu antara 24-72 jam (Rahmawati & Sutrisno, 2015). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :

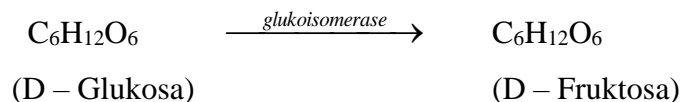




Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses hidrolisis pati antara lain yaitu konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH dan lama proses hidrolisis. Enzim mempunyai spesifitas yang tinggi, sehingga kinerja enzim akan optimal jika substrat yang digunakan cocok dan dalam konsentrasi yang tepat. Selain itu konsentrasi enzim juga berpengaruh terhadap likuifikasi sebab efektifitas kerja enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, sehingga semakin optimal kerja enzim, maka proses hidrolisis juga akan semakin cepat (Jariyah, Nurismanto, dan Sudaryati, 2011).

2.7. Isomerisasi Glukosa

Isomerisasi merupakan mengubah sirup glukosa menjadi HFS dengan bantuan enzim glukoisomerase. Setelah proses sakarifikasi sirup glukosa difilter sehingga konsentrasinya menjadi 40 – 50 %, pH dari larutan sirup ditetapkan 7,5 – 8 dan suhu dijaga pada 60 – 65 °C untuk proses isomerisasi glukosa menjadi fruktosa. Proses isomerisasi dilakukan di incubator selama 48 jam. Reaksi yang terjadi sebagai berikut :



Isomerisasi glukosa menjadi fruktosa dapat juga dilakukan dengan katalis hidrogen dalam pelarut organik. Pada penelitian yang dilakukan (Despax et al., 2013) menggunakan katalis sodium alumina dan pelarut dimethylsulfoxide, glyserol, propylene glycol, dan ethylen glicol. Proses isomerisasi dilakukan pada suhu 55 °C selama 3 jam.

2.8. Penelitian Terdahulu

Judul Penelitian dan Peneliti	Ringkasan
Optimization of process condition for preparation of glucose syrup from shorgum bicolor L Monech starch using immobilized α -amilase and glucoamylase enzyme (Shinde et al., 2004)	Pembuatan sirup glukosa dengan menggunakan bahan baku sorgum dengan genotype CHS-18. Proses liquifikasi dari tepung sorgum menggunakan alfa amilase. Konsentrasi starch 25%; 30%; 35% (w/v), Konsentrasi alfa amilase 55; 60; dan 65 unit; Temperatur 75; 85; 95; 105; dan 110 ($^{\circ}$ C) ; Waktu reaksi 15, 30, 60, 90, 120 dan 150 menit; Variasi pH 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7. Saccharification dari dextrinasi menggunakan glucoamilase Imobilisasi glucoamilase dalam DEAE-cellulose. Standarisasi untuk memproduksi sirup glukosa dari dextrin sirup dengan beberapa konsentrasi yang berbeda: 20, 30, 40% (w/v); Konsentrasi glucoamilase 110, 115, 120 unit; Temperature 50, 60, 70,80, dan 90 $^{\circ}$ C; Waktu reaksi 6, 12, 24, 36, 48, dan 72 jam ; Variasi pH 4; 4,4; 4,8; 5; 6; 7. Hasil optimal pada proses liquifikasi yaitu pada konsentrasi starch 30%; konsentrasi enzim 110 unit; suhu 90 $^{\circ}$ C; pH 6, dan waktu reaksi selama 90 menit. Sedangkan pada proses sakarifikasi diperoleh variabel optimal pada konsentrasi dextrin 30%; konsentrasi enzim 115 unit; pH 4,8; waktu reaksi 48 jam; serta suhu 60 $^{\circ}$ C.
Production of High Fructose Syrup from Cassava and Sweet Potato Flours and their Blends with Cereal Flours (Johnson, Moorthy, & Padmaja, 2010)	Pembuatan HFS dari tepung singkong, tepung ubi jalar dan pencampuran kedua tepung tersebut dengan tepung sereal dengan menggunakan metode liquifikasi, sakarifikasi, dan isomerisasi. Pada proses liquifikasi menggunakan enzim alfa amilase (thermostable alfa amilse EC 3.2.1.1) dengan aktivitas 200 kilo novo unit. 25%(w/v) suspense dari singkong dan ubi manis dicampur dengan air

Judul Penelitian dan Peneliti	Ringkasan
	<p>distillate, dan pH dikondisikan pada 6,5. enzim alfa amilase ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 90 C selama 1 jam. Proses sakarifikasi dengan Slurry dari liquifikasi, didinginkan hingga suhu 60°C dan pH dikondisikan pada pH 4. Enzim glukoamilase (dextrozyme GA) ditambahkan 0,05 ml dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 60 C. Proses isomerisasi sirup glukosa yaitu dnegan mengkondisikan pH 7,5 dengan suhu 60 oC dan diinkubasi selama 48 jam. Hasil penelitian yaitu konversi tepung singkong menjadi gula reduksi sebesar 956%, sedangkan konversi dari tepug campuran 90 – 92 %.Konversi dari glukosa ke fruktosa yang dihasilkan yaitu sebesar 42 – 43%.</p>
<p>Production High fructose rice syrup and high protein rice fluor from broken rice (Chen & Chang, 1984)</p>	<p>Tepung beras diperoleh dari <i>broken rice</i> dengan menggunakan metode <i>dry</i> atau <i>wet milling method</i>. Proses likuifikasi menggunakan orthogonal array tabel untuk mengetahui factor efek pada proses likuifikasi yang menghasilkan kondisi optimal. 50 gram slurry mengnadung beberapa konsentrasi dari tepung beras dan 70 mg/kg kalsium kloride dikondisika pH 6,5 dan dilikuifikasi dengan alfa amilse. Setelah likuifikasi slurry disentrifugasi untuk menghilangkan residu. Pada proses sakrifikasi pH dikondikasian pada pH 4,4 kemudian proses ini menggunakan konsentrasi enzim 0,015; 0,030; dan 0,06% pada 60 °C. Selanjutnya masuk pada proses purifikasi sirup glukosa, purifikasi menggunakan 2% karbon aktif dengan pemansan pada 60 °C selama 30 menit. Kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtart dilewatkan anion kation</p>

Judul Penelitian dan Peneliti**Ringkasan**

exchange resin. Perurnian glukosa akan menghasilkan sirup glukosa dengan konsentrasi 40%. Selanjutnya menuju proses isomerisasi sirup glukosa. pH dikondisikan pada 8,2 dengan menggunakan larutan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1%, kemudian dipompa pada packed kolom dengan penambahan enzim glucose isomerase, proses isomerisasi dilakukan pada suhu 60 °C . Hasil proses isomerisasi dimurnikan dan diharapkan konsentrasi sirup mencapai 71%. Proses pembuatan tepung beras tinggi protein yaitu sulrry hasil *centrifugasi*, dikeringkan menggunakan spray drying atau drum drying. Kondisi optimal dengan menghasilkan yield glukosa yang berasal dari *starch* yaitu 90,8% dengan kondisi operasi alfa amilase 0,12%; tepung beras 20%; suhu 96°C, dan waktu 90 menit. Filtrat dari liquifikasi, disakrifikasi pada suhu 60°C. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin sedikit waktu yang diperlukan untuk mencapai yield optimal. Pada proses isomerisasi yang dilakukan pada *packed column* setelah pemurnian hfs yang dihasilkan mengandung 50% glukosa, 42% fruktosa dan 3% maltose.

Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques (Johnson, Padmaja, & Moorthy, 2009)

Tujuan penelitian ini yaitu comparative produksi glukosa dan fruktosa dari singkong dan sweet potato dengan menggunakan enzyme tambahan stargen 001. Raw material menggunakan singkong dan ubi manis. Enzym yang digunakan yaitu alfa amilase, glucoamilase, glucose isomerase, dan stargen 001(menghidrolisis granular yang terdiri campuran dari alfa amilase dan glucoamilase)dan

Judul Penelitian dan Peneliti	Ringkasan
-------------------------------	-----------

spezyme. Proses hidrolisa dibagi menjadi 6 perlakuan dengan enzim, dan kondisi operasi yang berbeda, yaitu T1 : slurry singkong atau ubi manis dengan 50% w/v dikondisikan pH nya 6,5 Setelah itu ditambahkan enzim alfa amilase 0,025% untuk cassava dan 0,02% untuk ubi manis) dicampur dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 90 °C. Suhu likuifikasi diturunkan menjadi 60 °C dan pH dikondisikan 4 menggunakan asam klorida. Ditambahkan enzim glucoamilase (0,05% v/w untuk singkong dan 0,04 % untuk ubi manis) inkubasi dilanjutkan pada suhu 60 °C selama 48 jam. T2 : slurry singkong atau ubi manis dengan 50% w/v dikondisikan pH nya 4,5 ditempatkan pada thermostatic waterbath pada suhu 95°C selama 15 menit. Suhu diturunkan menjadi 30°C dan stargen ditambahkan dengan konsentrasi 0,2% v/w. dicampur dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. T3 : cassava/sweet potato slurry 50% dikondisikan pada pH 4,5 ditambahkan stargen 0,1% v/w. dicampur dan diinkubasi pada suhu 80°C selama 15 menit, suhu diturunkan hingga 30°C dan ditambahkan stargen lagi dengan konsentrasi 0,1% dan diinkubasi selama 48 jam. T4 : cassava/sweet potato slurry 50% dikondisikan pada pH 5,4, ditambahkan spezyme dengan konsentrasi 0,025% untuk cassava dan 0,02 % untuk sweet potato. *Slurry* dicampur dan diinkubasi selama 30 menit dgn suhu 90°C. Kemudian suhu diturunkan hingga 30°C dan ditambahkan stargen dengan konsentrasi 0,2% untuk cassva dan 0,16% untuk sweet potato,

Judul Penelitian dan Peneliti Ringkasan

diinkubasi lagi selama 48 jam. T5 : cassava/sweet potato slurry 50% dikondikasn pada pH 5 digelatinasi selama 15 menit dengan suhu 95°C. slurry didinginkan pada suhu 60°C dan ditambahkan stargen 0,2 % untuk cassava dan 0,16% untuk sweet potato dan diinkubasi selama 48 jam. T6: cassava/sweet potato slurry 50% dikondikasan pada pH 5,4, ditambahkan enzyme spezyme 0,025% untuk cassava dan 0,02% untuk sweet potato, diinkubasi pada suhu 90°C selama 30 menit. Suhu diturunkan sampai 60°C dan ditambahkan stargen 0,2% untuk cassva dan 0,16% untuk sweet potato. Diinkubasi selama 48 jam. Proses isomerisasi, pada proses ini sirup glukosa difiltarsi dan di evaporasi pada oven dengan suhu 60°C untuk memberikan konsentrasi glukosa 30-40% (w/v). Glukosa sirup dikondikasan pada pH 7,5 dan ditempatkan pada thermostatic water bath pada suhu 60 °C, setelah mencapai kesetimbangan ditambahkan enzyme glucose isomerase sebesar 500 mg untuk cassava dan 300 mg untuk sweet potato, selajutnya diinkubasi pada suhu 60 °C selama 48 jam. Kandungan fruktosa dianalisa dengan menggunakan metode *cysteine-carbozole*. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu Casava dan sweet potato dan dihidrolisa dengan menngunakan stargen 001 pada suhu ruang dan pH 4,5, dimana dapat secara efektif disimerasi menjadi fruktosa. Yield glukosa dan fruktosa lebih banyak dari cassava dibandingkan sweet potato dikarnekan initial starch content. Prosentase konversi ke glukosa oleh stargen and

Judul Penelitian dan Peneliti	Ringkasan
	fruktosa oleh glukosaisomerase tidak mempengaruhi tipe dari umbi.
On the production of glucose and fructose syrup from cashew apple juice derivatives (Ramos dkk., 2011)	Penelitian ini focus pada 2 aspek yaitu menghasilkan sirup foodgrade dari cashew apple dan studying fixed bed adsorption untuk memisahkan fruktosa dari glukosa. membuat HFS dari jus cashew apple dimana untuk meningkatkan jumlah fruktosa dibandingkan glukosanya digunakan resin penukar ion Dowex MTO 99Ca. Fruktosa lebih kuat diserap dari glukosa, dengan selektivitas yang diukur mulai 1,50-2,25. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu dua aspek yang berhubungan dengan issue produksi food grade syrup dari cashew apple, memberikan alternatif ekonomi untuk proses produksi dalam skala industry. Evaporation pada 60°C dalam keadaan vakum menghasilkan brix yang lebih rendah dari 80 dan sesuai dengan karakteristik sirup komersial. Adsorption isothermis dari fruktosa dan glukosa menghasilkan konsentrasi tinggi pada 120 g/l.
Production of high-fructose syrup from date by-products in a packed bed bioreactor using a novel thermostable invertase from <i>Aspergillus awamori</i> (Smaali dkk., 2011)	Produksi HFS dari by-produk kurma yang dilakukan pada packed bed reactor menggunakan novel thermostable invertase from <i>Aspergillus awamori</i> menghasilkan factor konversi 0,5 dengan konten fruktosa dalam sirup 69 g/l
Comparative Studies on the Production of Glucose and High Fructose Syrup from Tuber Starches	Akar and akar umbi merupakan salah bahan baku yang dapat digunakan untuk pembuatan maltodextrin, HFS, sirup glukosa, bioethanol dan lain sebagainya. Produksi sirup gula dengan

Judul Penelitian dan Peneliti	Ringkasan
(Johnson dan Padmaja, 2013)	<p>menggunakan metode enzimatis merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam teknologi pangan, dengan karakteristik menghasilkan yield tinggi dan kualitas produk yang baik. Pada penelitian ini digunakan bahan baku berupa arrowroot, singkong, curcuma, greater yam, sweet potato dan tannia. Metode yang digunakan dengan hidrolisa enzim menggunakan enzim alfa amilase dan glukosamilase, proses isomerisasi glukosa menjadi fruktosa menggunakan enzim glukoisomerase. Hasil dari penelitian ini umbi yang menghasilkan sirup glukosa paling tinggi yaitu arrowroot dengan konsentrasi 98,84% glukosa, 1,03% maltosa, 0,05% maltotriose. Sedangkan fruktosa tertinggi yang terbentuk yaitu sebesar 17,40% juga dari tepung arrowroot dengan konversi 44,09%.</p>

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Penelitian pembuatan sirup gula cair ini tinggi fruktosa ini ini dilaksanakan dengan metode eksperimen secara hidrolisa enzimatis yang meliputi proses likuifikasi menggunakan α -amilase, sakarifikasi menggunakan glukoamilase, dan isomerasi menggunakan glukoisomerase. Analisa dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer dan HPLC.

Indikator keberhasilan yang ingin dicapai adalah terbentuknya gula cair tinggi fruktosa dengan kondisi optimal pada tiap tahapan proses.

3.1.1. Tahap Hidrolisa Enzim

Tahap hidrolisa enzim dibagi menjadi dua tahapan yaitu proses likuifikasi dan proses sakarifikasi.

- **Liquifikasi**

Proses likuifikasi dilakukan dengan penambahan enzim α -amilase untuk memecah pati menjadi molekul-molekul yang lebih kecil seperti maltosa, glukosa, dan dekstrin. Kondisi operasi proses likuifikasi yaitu menggunakan variasi antara suhu, waktu dan pH. Dari proses ini akan dianalisa kandungan gula reduksi menggunakan metode DNS (Miller, 1959), dan hasil terbaik akan dilanjutkan ke proses sakrifikasi.

- **Sakarifikasi**

Pada proses sakrifikasi merupakan tahap hidrolisis lanjutan dari tahap likuifikasi dengan menggunakan enzim glukoamilase. Enzim ini akan menghidrolisis pati menjadi oligosakarida, matotriosa menjadi maltosa dan menghidrolisa maltosa menjadi glukosa. Kondisi operasi pada proses sakarifikasi yaitu mengkombinasikan suhu, waktu, dan pH. Hasil utama proses sakrifikasi yaitu berupa sirup glukosa, akan dianalisa kandungan gula reduksi dengan metode DNS (Miller, 1959) dan analisa kadar glukosa dengan analisa HPLC. Hasil terbaik dari proses ini akan dilanjutkan ke proses isomerisasi.

3.1.2. Proses Pemurnian

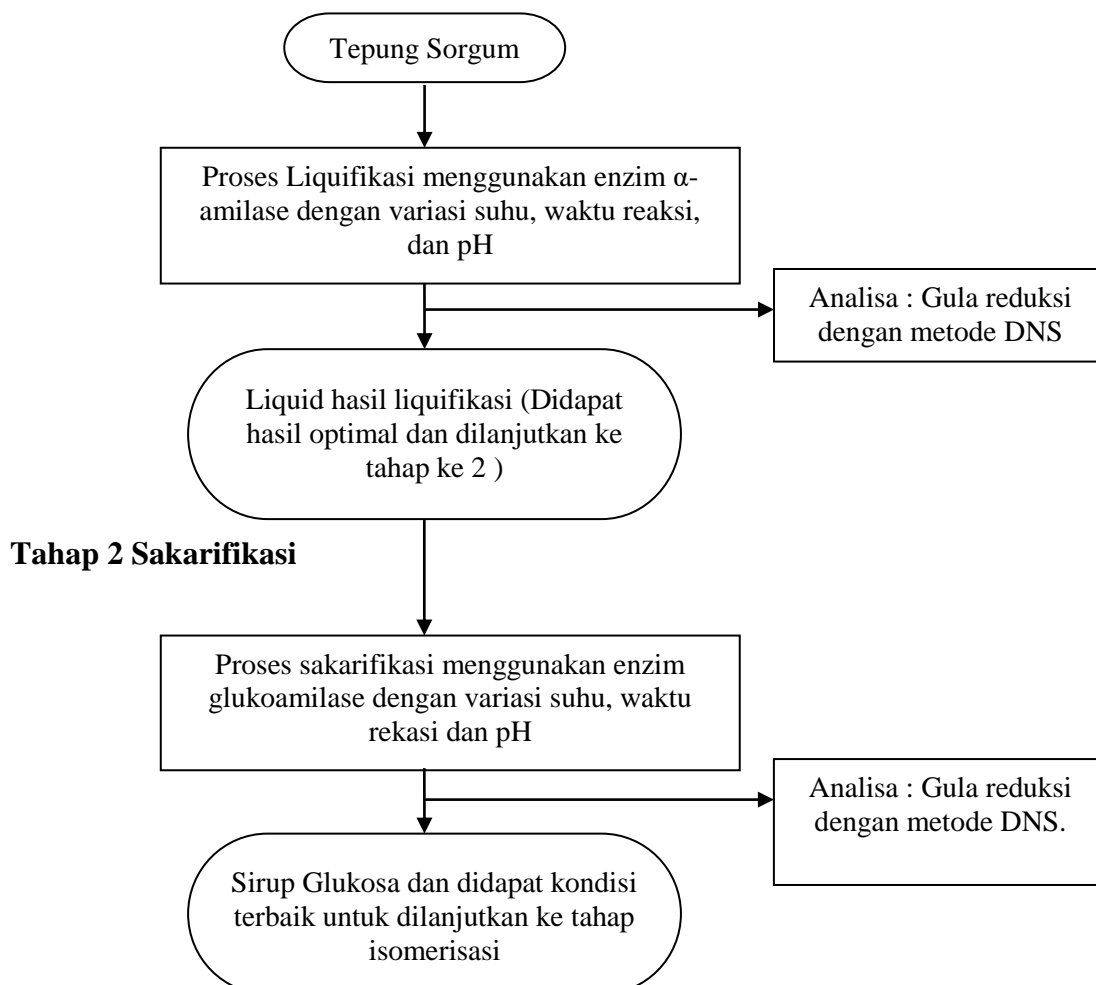
Proses pemurnian dilakukan dengan menggunakan arang aktif (0,2 %b/v) dan dipanaskan hingga suhu 80°C selama 15 menit, sehingga diperoleh filtrat yang lebih jernih dan kental.

3.1.3. Proses Isomerisasi

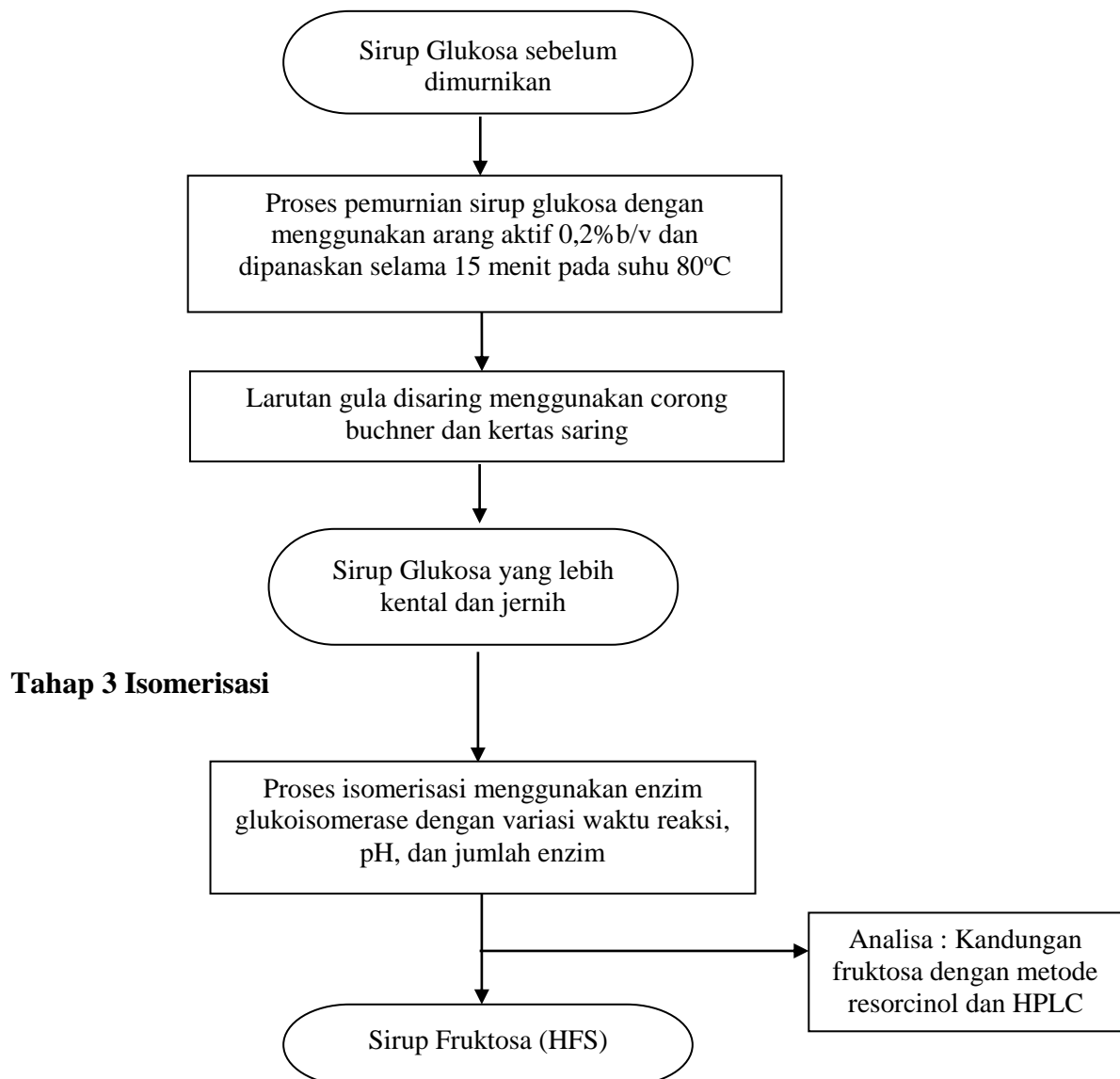
Proses isomerisasi dilakukan dengan penambahan enzim glukoisomerase untuk mengisomer sirup glukosa menjadi HFS. Kondisi operasi proses isomerisasi terdapat tiga variabel yaitu pH, waktu operasi, dan jumlah enzim. Dari proses ini akan dihasilkan produk akhir berupa sirup tinggi fruktosa atau HFS. Kandungan sirup fruktosa akan dianalisa dengan metode resorcinol (Roe, Epstein, dan Goldstein, 1949) dan HPLC.

3.2. Diagram Alir Penelitian

Tahap 1 Liquifikasi



Pemurnian sirup glukosa sebelum masuk ke tahap 3



3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam kurun waktu satu tahun. Penelitian dilakukan di laboratorium teknologi biokimia, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

Alat Penelitian

1. Hot plate dan stirrer (Cimarec, USA)
2. Spectrofotometer (Cecil CE 1011, Inggris)
3. Analytical balance (Ohaus, Cina)
4. Inkubator shaker (Carbolite, Inggris)
5. Thermocouple
6. Gelas ukur 100 mL
7. Erlenmeyer 100 ml
8. Batang pengaduk
9. Pipet ukur 1 ml, 10 ml, 25 ml
10. Pipet tetes
11. Corong kaca
12. Kaca arloji
13. Tabung reaksi
14. Spatula
15. Penangas air
16. Botol vial
17. Kertas saring
18. pH meter
19. Vortex
20. Karet penghisap
21. Rak kayu
22. Corong buchner

Bahan penelitian

1. Tepung sorgum
2. Enzim α -amylase
3. Enzim glucoamilase
4. Enzim glukoisomerase
5. Aquades
6. Karbon aktif serbuk
7. Kapur tohor (CaO)
8. Amylum
9. Natrium sitrat
10. Asam Sitrat
11. DNS (dinitrosalicylic acid)
12. NaOH
13. Sodium potassium tartrate
14. Sodium metabisulfite
15. D-glukosa
16. Resorcinol
17. Thiourea
18. Asama asetat glasial
19. HCl
20. Fructosa

3.5. Variabel Penelitian

Pada penelitian ini tepung sorgum yang digunakan yaitu jenis tepung sorgum merah yang didapat dari Toko Alu Lumpang Jogjakarta, dan ukuran partikel tepung yang digunakan yaitu 74 μm (200 mesh).

- **Variabel proses hidrolisa enzim**

Liquifikasi

Pada proses ini dilakukan dengan menggunakan variabel tetap konsentrasi starch 20% w/v, dan enzim 0,333 % (v/v). Sedangkan untuk variabel berubah proses liquifikasi yaitu pada suhu 75, 85, 95 °C; waktu reaksi 50, 100, 150 menit, dan pH 5,7,9.

Sakarifikasi

Pada proses sakarifikasi menggunakan variabel tetap berupa enzim 0,333 % (v/v). Sedangkan untuk variabel berubah yaitu pada suhu 40, 50, dan 60 °C, pH 4, 6, 8, dan waktu reaksi diamati setiap 12 jam sekali selama 48 jam.

- **Variabel proses isomerisasi**

Pada proses isomerisasi variabel tetap yang digunakan berupa suhu pada 60 °C. Sedangkan variabel berubah yaitu pH 6, 8, 10, jumlah enzim 250 mg, 350 mg, dan 500 mg, dan waktu reaksi selama 48 jam dengan pengatan berupa analisa kadar gula reduksi setiap 12 jam.

3.6. Parameter yang dianalisa

- Produk akhir proses liquifikasi dianalisa dengan uji gula reduksi dengan metode spektrofotometri dengan reagen DNS
- Produk akhir proses sakarifikasi dianalisa dengan uji gula reduksi dengan metode spektrofotometri dengan reagen DNS
- Kadar fruktosa dianalisa dengan menggunakan metode spektrofotometri dengan reagen resorcinol dan HPLC.

3.7. Prosedur Penelitian

Proses pembuatan gula cair ini ada 2 tahapan utama yaitu proses hidrolisis pati dan pemurnian gula cair. Hidrolisis pati yang meliputi proses gelatinasi, likuifikasi, sakarifikasi, sedangkan pemurnian gula cair, meliputi pemucatan, penyaringan, serta penguapan atau pemekatan.

3.7.1. Proses Hidrolisis

- **Proses Likuifikasi**

Membuat suspensi pati sebagai substrat dengan konsentrasi yaitu 20% (w/v). Substrat (larutan pati sorgum) dipanaskan hingga suhu 50 – 70 °C sebagai proses gelatinasi. Pada proses gelatinasi larutan pati akan mengental sehingga diperlukan penambahan enzim α -amilase untuk memulai proses likuifikasi, enzim yang ditambahkan yaitu sebesar 0,333% v/v (Permanasari, Yulistiani, dan Djenar, 2017). Kondisi operasi diatur pada variabel suhu, pH dan waktu reaksi sesuai dengan variabel yang telah ditentukan. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan CaO dan penurunan pH dengan penambahan asam sitrat. Pada tahapan ini substrat akan menjadi encer dan produk akhir akan berwarna coklat gelap. Proses likuifikasi dihentikan pada variabel waktu yang telah ditentukan. Proses likuifikasi dilakukan pada waterbath dengan pengukuran suhu menggunakan thermocouple. Hasil likuifikasi diambil yang paling optimal dan dilanjutkan ke tahap sakarifikasi.

- **Proses Sakarifikasi**

Substrat dari likuifikasi didinginkan sampai suhu 60 °C, kemudian ditambahkan enzim glukoamilase dengan perbandingan yang sama terhadap enzim α -amilase, kemudian pH disesuaikan dengan variabel pH, dan diinkubasi dalam inkubator shaker sesuai dengan suhu pada variabel yang telah ditentukan. Proses ini dilakukan selama sampai 48 jam dengan pengamatan setiap 12 jam sekali. Hasil proses sakarifikasi dianalisa kandungan gula reduksi dengan menggunakan metode DNS. Hasil terbaik akan digunakan ke tahap selanjutnya yaitu isomerisasi.

3.7.2. Proses Pemurnian Gula Cair

Proses pemurnian gula cair ada 3 tahapan, yang pertama yaitu pemucatan, penyaringan, dan penguapan. Proses pemucatan dilakukan dengan larutan hidrolisat dicampurkan dengan sedikit arang aktif dan dipanaskan hingga suhu 80°C selama 15 menit. Campuran substrat dan arang aktif selanjutnya disaring hingga diperoleh filtrat berwarna kuning muda. Proses penguapan filtrat dengan cara memanaskan hingga suhu 60°C dan diperoleh filtrat atau gula cair yang lebih kental. Kadar gula dianalisa dengan menggunakan metode resorcinol pada panjang gelombang 520 nm.

3.7.3. Isomerisasi Glukosa Menjadi Fruktosa

Sirup glukosa (gula cair) hasil pemekatan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan dengan CaO untuk pengaturan pH sesuai dengan variabel yang telah ditentukan (6, 8, dan 10). Kemudian ditambahkan enzim glukoisomerase sesuai dengan variabel (250 mg, 350 mg, dan 500 mg). Menutup Erlenmeyer rapat dan diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu 60 °C selama 48 jam dan dilakukan pengamatan setiap 12 jam. Kandungan fruktosa dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer dengan reagen resorcinol dan HPLC di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Hasil terbaik pada proses ini merupakan kondisi optimal pembentukan *high fructose syrup*.

3.7.4. Prosedur uji aktivitas enzim

3.7.4.1. Pembuatan larutan amylum

Amylum ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambahkan buffer sitrat pH 6 (untuk pengujian aktivitas enzim α -amylase) dan pH 4,5 (untuk pengujian aktivitas enzim glucoamylase) hingga 100 ml dan diaduk menggunakan stirrer selama 16 jam.

3.7.4.2. Pembuatan kurva standar Glukosa untuk Mengukur keaktifan enzim α -amylase dan glucoamylase

Larutan induk glukosa dibuat dengan cara menimbang glukosa 0,367 gram ditambahkan buffer sitrat pH 4,5 dan pH 6 hingga volume 100 ml ke dalam labu ukur. Larutan induk glukosa diencerkan pada berbagai macam konsentrasi (0:5; 1:4; 2:3; 3:2; 4:1; 5:0) dengan larutan induk glukosa berturut – turut 0 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml dan buffer sitrat sebanyak 5 ml, 4 ml, 3 ml, 2 ml, 1 ml, 0 ml. Selanjutnya sebanyak 0,2 ml dari tiap – tiap konsentrasi larutan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,8 ml larutan amylum pH 6 dan larutan amylum pH 4,5 ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 35 oC selama 10 menit dan ditambahkan 3 ml DNS ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran dohomogenkan menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit, kemudian absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm. Kurva kalibrasi larutan standar glukosa dibuat dengan mengplot konsentrasi glukosa terhadap absorbansi.

3.7.4.3. Uji Aktivitas Enzim

- **Uji Aktivitas enzim α -amylase sebelum koreksi**

Larutan enzim α -amylase sebanyak 0,2 ml dan 1,8 larutan amylum pH 6 dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada 35°C.

Kemudian ditambahkan 3 ml DNS ke dalam larutan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya masing – masing tabung reaksi yang berisi larutan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit, dan didinginkan pada air es selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

- **Uji Aktivitas enzim α -amilase larutan koreksi**

Larutan enzim α -amilase sebanyak 0,2 ml ditambahkan 3 ml DNS dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 1,8 ml larutan amylum pH 6 selanjutnya masing – masing larutan dipanaskan kembali pada air mendidih selama 10 menit, didinginkan di air es selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung selisih absorbansi larutan enzim α -amilase sebelum koreksi dan larutan koreksi enzim, kemudian nilainya dikalikan dengan slope kurva standar glukosa.

- **Uji Aktivitas enzim glucomylase sebelum koreksi**

Larutan enzim glucoamilase sebanyak 0,2 ml dan 1,8 larutan amylum pH 4,5 dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada 35°C. Kemudian ditambahkan 3 ml DNS ke dalam larutan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya masing – masing tabung reaksi yang berisi larutan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit, dan didinginkan pada air es selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

- **Uji Aktivitas enzim glucomylas larutan koreksi**

Larutan enzim glucoamilase sebanyak 0,2 ml ditambahkan 3 ml DNS dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 1,8 ml larutan amylum pH 4,5 selanjutnya masing – masing larutan dipanaskan kembali pada air mendidih selama 10 menit, didinginkan di air es selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung selisih absorbansi larutan enzim

α -amylase sebelum koreksi dan larutan koreksi enzim, kemudian nilainya dikalikan dengan slope kurva standar glukosa.

3.7.4.4. Pembuatan kurva standar Fruktosa untuk Mengukur keaktifan enzim glukoisomerase

Larutan induk glukosa dibuat dengan cara menimbang fruktosa 50 mg ditambahkan buffer fosfat pH 7,5 volume 50 ml ke dalam labu ukur. Ambil sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml larutan masukkan dalam tabung reaksi dan masing – masing larutan fruktosa ditambahkan aquadest hingga volumenya 1 ml. Ditambahkan reagen resorcinol 0,5 ml dan 3,5 ml HCl (5:1). Panaskan semua tabung pada suhu 80 °C selama 10 menit, dan didinginkan di dalam air es selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. Kurva standar fruktosa dibuat dengan mengplot konsentrasi fruktosa terhadap absorbansi.

3.7.4.5. Uji Aktivitas enzim glukoisomerase

- **Pembuatan larutan glukosa**

Glukosa ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambahkan buffer fosfat pH 7,5 hingga 100 ml dan diaduk menggunakan stirrer selama 16 jam.

- **Pembuatan larutan enzim glukoisomerase**

Enzim glukoisomerase 1 gram dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7,5 sampai tepat 100 ml dan dipastikan enzim terlarut sempurna.

- **Uji Aktivitas enzim glukoisomerase sebelum koreksi**

Larutan enzim glukoisomerase sebanyak 0,2 ml dan 1,8 larutan glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada 35°C. Kemudian ditambahkan 0,5 ml resorcinol dan 3,5 HCl ke dalam larutan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya masing – masing tabung reaksi yang berisi larutan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit, dan didinginkan pada air es selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.

- **Uji Aktivitas enzim glukoisomerase larutan koreksi**

Larutan enzim glukoisomerase sebanyak 0,2 ml ditambahkan 0,5 ml resorcinol dan 3,5 ml HCl dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 1,8 ml larutan glukosa selanjutnya

masing – masing larutan dipanaskan kembali pada air mendidih selama 10 menit, didinginkan di air es selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung selisih absorbansi larutan enzim α -amylase sebelum koreksi dan larutan koreksi enzim, kemudian nilainya dikalikan dengan slope kurva standar glukosa.

3.8. Analisa Hasil penelitian

Analisa Kadar Glukosa menggunakan DNS

- Pembuatan buffer sitrat 0,1 M pH 5,5

Asam sitrat sebanyak 5,7 gram dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan 20,67 gram sodium sitrat. Larutan asam sitrat dan sodium sitrat ditambahkan dengan akuades hingga 1000ml. pH larutan buffer diatur dengan menambah 0,1 M NaOH atau 0,1 M asam sitrat hingga pH larutan buffer menjadi 5,5.

- Pembuatan Larutan Reagen DNS (Asam Dinitrosalisilat) (Widjaja,2009)

NaOH sebanyak 16 gram dilarutkan dengan akuades hingga volume 200 mL. Kemudian sodium potassium tartrate sebanyak 30 gram dan sodium metabisulfit sebanyak 8 gram dilarutkan dengan akuades sampai volume 500 mL. Sepuluh gram DNS dilarutkan menggunakan larutan NaOH sebanyak 200 mL. Kemudian larutan DNS ditambahkan kedalam larutan sodium potassium tartrate dan sodium metabisulfit, setelah itu dilarutkan sempurna dengan akuades hingga volume 1000 mL.

- Pembuatan Kurva Standar Glukosa (Widjaja, 2009)

Larutan induk glukosa dibuat dengan cara, glukosa 0,367 gram ditambahkan 0,1 M buffer sitrat dengan pH 5,5 hingga 100 mL ke dalam labu ukur. Larutan induk glukosa diencerkan pada berbagai macam konsentrasi (0:5: 1:4;2.3: 3:2, 4:1:5:0) dengan larutan induk glukosa berturut-turut 0 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL dan 0,1 M buffer sitrat pH 5,5 sebanyak 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL, 1 mL, 0 mL. Selanjutnya sebanyak 0,2 mL dari tiap konsentrasi larutan diambil dan dimasukkan ke dalam larutan standar glukosa dan ditambahkan 1,8 mL akuades ke dalam tabung reaksi. Setelah itu diinkubasi pada temperatur 35°C selama 10 menit dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex kemudian dipanaskan pada air mendidih selama

10 menit dan didinginkan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kurva kalibrasi larutan standar glukosa dibuat dengan mengplot konsentrasi glukosa terhadap absorbansi.

- Pembuatan Larutan Blanko (Widjaja, 2009)

Buffer sitrat 0.1 M dengan pH 5,5 sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada temperatur 35°C dan ditambahkan 3 mL DNS ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Setelah itu didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm.

- Analisa Konsentrasi Glukosa dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sampel hasil proses liquifikasi dan sakarifikasi diencerkan 100 kali (0,1 ml dari sampel dan ditambahkan aquadest 9,9 ml) dari pengenceran diambil 2 ml sampel, ditambahkan 3 mL larutan DNS dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya, dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan air es selama 10 menit. Kemudian setelah temperatur larutan normal (25°C), diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Larutan standarnya menggunakan larutan blanko. Konsentrasi gula reduksi dihitung berdasarkan kurva standar.

Analisa Kadar Fruktosa menggunakan Resorcinol Method (Roe et al., 1949)

- **Pembuatan Resorcinol reagent**

Menimbang 1 gram resorcinol dan 0,25 gram thiourea, kemudian dilarutkan dengan asam asetat glasial sampai volume 100 ml.

- **Pembuatan larutan HCl**

Pembuatan larutan HCl yaitu dengan membuat larutan HCl 5:1. Campur 5 bagian dari HCl dan 1 bagian Aquadest.

- **Pembuatan kurva standar fruktosa**

Ambil sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml larutan standar fruktosa masukkan dalam tabung reaksi dan masing – masing ditambahkan aquadest hingga volumenya 1 ml. Ditambahkan reagen resorcinol 0,5 ml dan 3,5 ml HCl (5:1). Panaskan semua tabung pada suhu 80 °C selama 10 menit, dan didinginkan di dalam air es selama 10

menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. Kurva standar fruktosa dibuat dengan mengplot konsentrasi fruktosa terhadap absorbansi.

- **Pembuatan larutan blanko**

Aquadest 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan reagen resorcinol 0,5 ml dan HCl 3,5 ml. Kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Setelah itu didinginkan dengan menggunakan air es selama 10 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 520 nm.

- **Analisa Konsentrasi Fruktosa dengan Metode Resorcinol (Roe et al., 1949)**

Sampel hasil proses isomerisasi diencerkan 100 kali (0,1 ml dari sampel dan ditambahkan aquadest 9,9 ml) dari pengenceran diambil 1 ml sampel, ditambahkan 0,5 reagen resorcinol dan 3,5 ml larutan HCl, dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya, dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit dan didinginkan dengan air es selama 10 menit. Kemudian setelah temperatur larutan normal (25°C), diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan pembuatan sirup fruktosa dari tepung sorgum merah terdiri dari tiga tahapan yaitu hidrolisa pati secara enzimatik yang terdiri dari proses liquifikasi dan sakarifikasi, serta proses pembentukan sirup fruktosa dengan proses isomerisasi.

4.1. Hidrolisa pati secara enzimatik

Hidrolisa pati untuk memproduksi sirup glukosa dapat dilakukan dengan dua cara yaitu hidrolisa secara asam, hidrolisa enzim, dan gabungan dari keduanya. Hidrolisa enzim memiliki perbedaan yang mendasar dibandingkan dengan hidrolisa asam. Hidrolisa asam memecah rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisa enzim akan memotong rantai pati pada bagian cabang yang spesifik. Hidrolisa enzim memiliki beberapa keuntungan yaitu prosesnya lebih spesifik, kondisi operasi dapat dikontrol, biaya untuk purifikasi relatif rendah, abu dan produk samping lebih sedikit, dan kerusakan warna dapat diminimalisir (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017). Pada penelitian ini menggunakan proses hidrolisa enzimatik untuk pembentukan sirup glukosa, pada proses ini terdapat 3 tahapan proses yaitu gelatinasi, liquifikasi dan sakarifikasi. Gelatinasi merupakan tahapan yang penting dalam proses hidrolisa enzim, tahapan ini tahap dimana granula pati dipanaskan dengan air yang berlebih untuk menaikkan bagian amorf amilopektin sebagai tempat masuknya enzim pada starch. Proses selanjutnya yaitu proses liquifikasi, proses liquifikasi menggunakan enzim α -amylase yang menghidrolisa ikatan α -(1,4) dari starch, pada proses ini menghasilkan dextrin, maltose, maltotriose, dan maltopentose (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017). Sedangkan sakarifikasi merupakan tahap lanjutan dari tahap liquifikasi, pada proses sakarifikasi enzim glucoamilase akan menghidrolisis pati menjadi oligosakarida, maltotriosa menjadi maltose, dan maltose menjadi glukosa (Rahmawati dan Sutrisno, 2015).

4.1.1 Gelatinasi

Proses gelatinasi dibutuhkan sebelum proses likuifikasi starch terjadi, proses gelatinasi merupakan keadaan struktur kristal dari granula

menjadi tidak teratur akibat pemanasan (Tester, 2016), selama proses gelatinasi granula tepung akan membengkak dan struktur kristalnya menjadi tidak beraturan (Li dkk., 2015). Pada proses gelatinasi granula pati akan tergelatinasi dalam air selama proses liquifikasi dan sebagian lainnya akan dihidrolisa oleh enzim α -amylase. Dalam proses likuifikasi konvensional, slurry pati akan dipanaskan hingga suhu 105°C selama 5 menit, kemudian slurry didinginkan hingga suhu 90 – 95 °C dan ditambahkan enzim α -amylase. Proses ini dilakukan didalam reaktor hingga proses liquifikasi selesai (Johnson dan Padmaja, 2013). Akan tetapi pada penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013) proses gelatinasi dan liquifikasi akan dilakukan secara bersamaan pada suhu 90 – 95 °C.

Pada penelitian ini digunakan tepung sorgum merah dengan konsentrasi tepung, konsentrasi enzim, dan ukuran partikel tepung sorgum sebagai variabel tetap proses hidrolisa enzim. Tepung yang digunakan yaitu tepung sorgum merah dengan konsentrasi 20% b/v, digunakannya konsentrasi ini dikarenakan konsentrasi starch mempengaruhi nilai DE, slurry dengan konsentrasi awal yang tinggi menghasilkan nilai DE yang rendah, konsentrasi starch antara 10 – 30 % menghasilkan nilai DE yang tinggi. Sedangkan untuk konsentrasi starch diatas 55% b/v starch sulit untuk diaduk selama proses gelatinasi sehingga menyebabkan nilai DE yang rendah selama proses hidrolisa (Li dkk., 2015). Ukuran partikel tepung sorgum yaitu sebsar 74 μm (200 mesh). Ukuran partikel yang tidak seragam akan menyebabkan pengaruh signifikan terhadap physicochemical properties dari tepung dengan meningkatnya luas permukaan per volume unit, ukuran partikel tepung mempunyai pengaruh terhadap kapasitas absorpsi (De, Gomez dan Rosell, 2013). Ukuran partikel juga mempunyai pengaruh terhadap proses hidrolisa, semakin meningkat ukuran partikel maka proses hidrolisa berjalan semakin lambat, pada tepung sorgum dengan ukuran partikel >100 μm tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap proses hidrolisa (Mahasukhonthachat, Sopade dan Gidley, 2010) sehingga dalam penelitian ini digunakan ukuran tepung

sorgum 74 μm (200 mesh). Sedangkan konsentrasi enzim didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017) di Poltikenik Negeri Bandung dengan perbandingan enzim pada proses liquifikasi dan sakarifikasi 1:1. Konsentrasi enzim terbaik yaitu dengan dosis 0,5 ml enzim dalam 150 ml larutan atau 0,333% v/v dengan aktivitas enzim α -amylase 2,1 unit, dan *glucoamylase* 2,8 unit.

Proses gelatinasi tepung sorgum terjadi pada suhu 60 – 70 °C, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Zainab, Modu dan Falmata, 2011) menyebutkan bahwa proses gelatinasi pada tepung sorgum berlangsung pada suhu 59,25 – 75 °C. Setiap tepung (starch) mempunyai suhu gelatinasi yang berbeda seperti pada tepung singkong suhu gelatinasi terjadi pada suhu 62 – 84 °C, *xanthosoma* (talas) 74 – 87 °C; *arrowroot* atau tepung garut yaitu pada suhu 68 – 85°C (Johnson dan Padmaja, 2013) perbedaan suhu pada proses gelatinasi disebabkan oleh perbedaan sifat ikatan intramolekule pada tepung, dan semakin tinggi suhu gelatinasi mengindikasikan bahwa tingginya stabilitas dari struktur kristal dalam molekul tepung (Johnson dan Padmaja, 2013).

4.1.2 Liquifikasi

Setelah proses gelatinasi berakhir, dilakukan penambahan enzim α -amylase, proses liquifikasi menggunakan enzim α -amylase yang menghidrolisa ikatan α -(1,4) dari starch, pada proses ini menghasilkan dextrin, maltose, maltotriose, dan maltopentose (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017). Pada penelitian ini proses liquifikasi dilakukan dengan variable tetap berupa konsentrasi enzim α -amylase 0,333% v/v (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017) dengan aktivitas enzim sebesar 2,029 unit/ml. Variabel berubah yaitu pada kondisi pH 5, 7, dan 9, waktu reaksi 50, 100, 150 menit, dan suhu 75, 85, dan 95 °C, pengambilan variabel pH, suhu, dan waktu reaksi berdasarkan penelitian yang telah lebih dulu dilakukan yang menyebutkan bahwa variabel yang memberikan efek signifikan pada proses hidrolisa enzim yaitu pH, suhu, dan waktu reaksi (Ramachandran *e dkk.*, 2013). Analisa yang dilakukan pada tahapan

ini yaitu analisa kandungan gula reduksi dengan metode DNS. Data yield kandungan gula reduksi hasil liquifikasi terhadap perubahan pH, waktu reaksi dan suhu dapat dilihat pada tabel berikut.

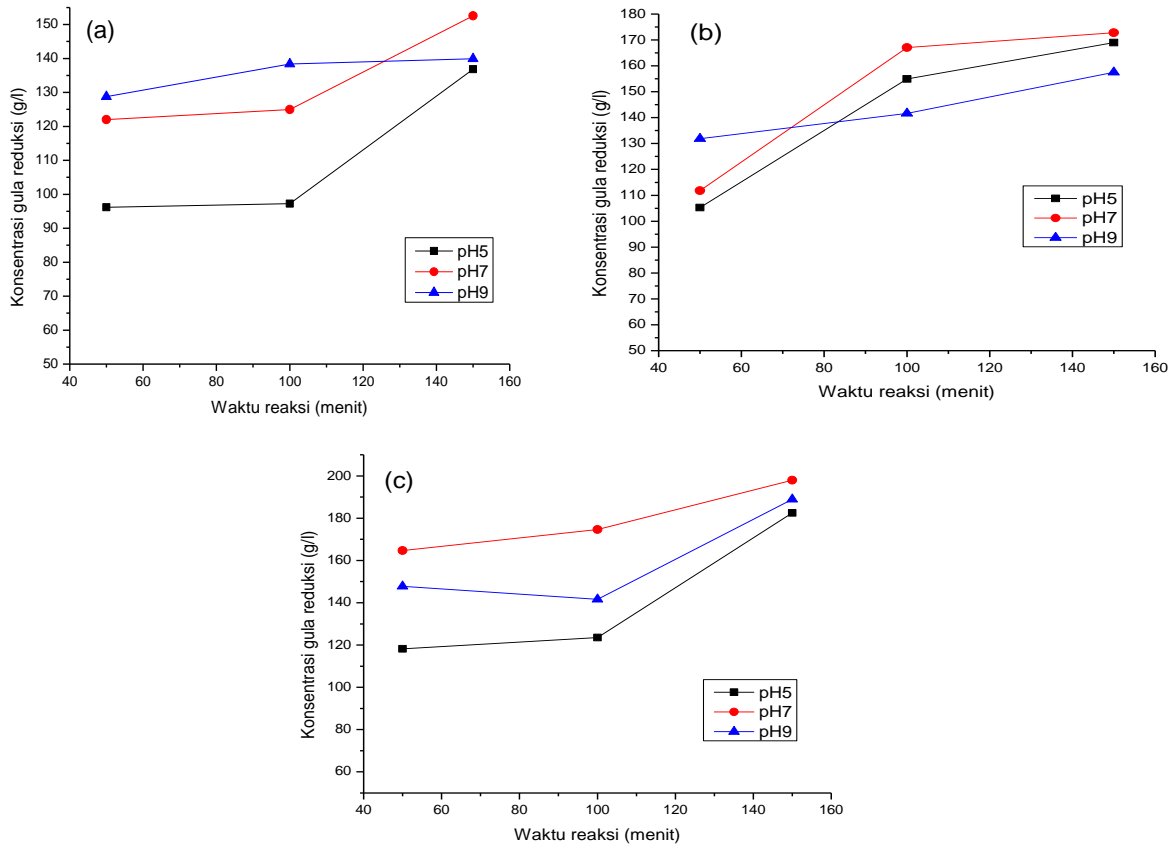
Tabel 4.1. Kandungan gula reduksi dan yield gula reduksi hasil proses liquifikasi

Suhu (°C)	Waktu reaksi (menit)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)	Yield gula reduksi (%)
75	50	5	96,182	48,091
		7	118,180	59,090
		9	124,744	62,372
	100	5	97,219	48,609
		7	121,059	60,529
		9	134,073	67,037
	150	5	132,576	66,288
		7	147,778	73,889
		9	135,570	67,785
85	50	5	101,941	50,970
		7	108,275	54,138
		9	127,739	63,869
	100	5	150,082	75,041
		7	161,829	80,915
		9	137,183	68,591
	150	5	163,672	81,836
		7	167,357	83,679
		9	152,616	76,308
95	50	5	114,494	57,247
		7	159,526	79,763
		9	143,172	71,586
	100	5	119,677	59,838
		7	169,200	84,600
		9	137,183	68,591
	150	5	176,801	88,401
		7	191,773	95,887
		9	183,020	91,510

4.1.2.1. Pengaruh variasi pH, waktu reaksi dan suhu pada proses liquifikasi

Pada gambar 4.1 menjelaskan pengaruh suhu, waktu reaksi dan pH pada hasil gula reduksi. Pada grafik tersebut dapat dilihat peran suhu dan waktu terhadap hasil gula reduksi. Dari grafik menunjukkan tren meningkatnya kandungan gula reduksi dengan seiring meningkatnya suhu dan waktu reaksi. Pada suhu 95 °C dapat dilihat pada grafik terjadi peningkatan kandungan gula reduksi dari waktu ke 50 menit sampai ke 150 pada pH 5 dan 7, akan tetapi pada

saat waktu 50 ke 100 menit pada pH 9 terjadi penurunan gula reduksi hal ini terjadi karena kinerja *enzyme* pada pH yang terlalu tinggi kurang efektif dan mempengaruhi stabilitas enzim, enzim α -amilase akan bekerja efektif pada pH 6 – 7, beberapa penelitian menyebutkan bahwa pH optimal yang digunakan pada proses liquifikasi menggunakan enzim α -*amylase* yaitu pada pH 6 (Shinde dkk., 2004), penelitian lain menyebutkan pH optimal pada proses liquifikasi pada pH 6,5 – 7 (Lindroos dkk ,980)(Novo, 2000), dan penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013) menggunakan pH 7 sebagai pH optimal proses liquifikasi dengan enzim α -amilase. Dari gambar 4.1 (a) pada pH 9 pada waktu 50 sampai 100 menit dapat dilihat konsentrasi gula reduksi paling tinggi diantara variasi pH yang lain, akan tetapi setelah 100 menit konsentrasi gula reduksi pada pH 9 menurun, hal ini disebabkan karena reaksi yang terjadi pada pH 9 dan pada suhu 75 °C kurang stabil, sehingga menyebabkan konsentrasi gula reduksi mengalami kenaikan diawal dan kemudian turun setelah 100 menit. Hal ini disebabkan pH dan suhu sangatlah berpengaruh pada reaksi enzimatik. pH merupakan karakteristik dari setiap enzim, perubahan pH akan mempengaruhi aktivitas, stabilitas, dan kelarutan enzim. Perubahan pH juga mempengaruhi produk yang dihasilkan, pH yang terlalu ekstrim juga akan mengakibatkan denaturasi enzim. Sedangkan suhu juga mempengaruhi keaktifan enzim, pada suhu tertentu enzim akan mengalami denaturasi, perubahan konformasi dalam enzim pada suhu yang tidak optimal akan menghancurkan sisi aktif enzim (Chaplin and Bucke, 1990). Hasil proses likuifikasi yang dilakukan dalam penelitian ini didapatkan yield sebesar 95,887%, sedangkan berdasarkan literatur konversi pada proses liquifikasi yaitu 18,7 DE untuk tepung jagung (Denault and Underkofler, 1963). Literatur lain menyebutkan bahwa konversi proses liquifikasi yaitu sebesar 8,33 – 11,34 DE (Komaki, 2015). Pada proses liquifikasi diharapkan nilai DE yang tidak terlalu tinggi, dengan nilai DE yang tidak terlalu tinggi maka diharapkan waktu liquifikasi tidak membutuhkan waktu yang terlalu lama, sehingga pada penelitian ini proses liquifikasi perlu ditinjau kembali untuk menghasilkan konversi yang diinginkan.

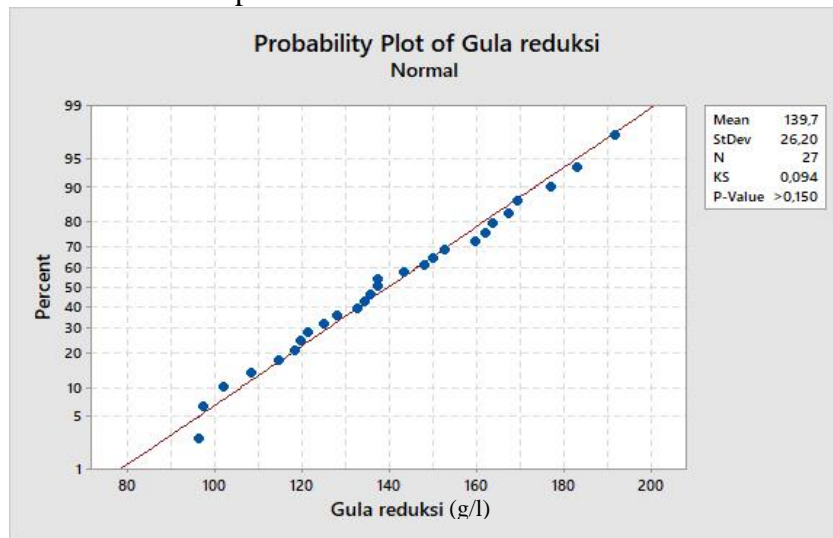


Gambar 4.1. Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu (a) 75 °C (b) 85 °C (c) 95 °C.

4.1.2.2. Analisa statistik pada proses liquifikasi dengan menggunakan ANOVA

Dilakukan analisa statistika untuk membuktikan apakah variabel yang digunakan untuk proses hidrolisa enzimatik benar mempengaruhi produk yang dihasilkan, dan variabel bisa dikatakan signifikan apabila nilai p-value dari metode analisis ANOVA mempunyai nilai kurang dari nilai α (5%). Sebelum melakukan analisa menggunakan metode Two-Way ANOVA general linier model, dilakukan analisa distribusi normal. Distribusi normal merupakan salah satu asumsi sebelum melakukan pengujian Two-Way ANOVA. Dimana *probability plot* pada ANOVA harus berdistribusi normal. Berikut ini adalah hasil pengujian asumsi distribusi normal menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, nilai distribusi dikatakan normal apabila nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus. Pada gambar 4.2 nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus sehingga asumsi distribusi normal dapat diterima. Pada gambar 4.2 dapat dilihat

bahwa nilai p-value $>0,05$ dan plot membentuk garis lurus, sehingga asumsi data berdistribusi normal dapat diterima.



Gambar 4.2 Probability plot konsentrasi gula reduksi proses liquifikasi

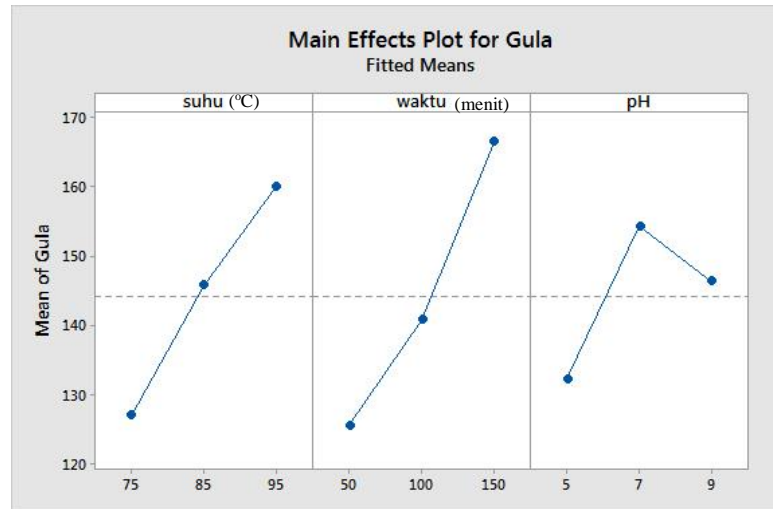
Analisa statistik metode general linier model dilakukan setelah data dinyatakan berdistribusi normal. Dari analisa statistik general linier model dapat diketahui bahwa variable suhu, waktu reaksi dan pH mempunyai p value 0,000; 0,000; 0,004 dengan r square sebesar 97,69% sehingga dapat dikatakan variabel suhu, waktu reaksi, dan pH memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil gula reduksi proses liquifikasi (p-value $<0,05$). Dapat dilihat dari tabel 4.1 bahwa gula reduksi yang dihasilkan dari proses likuifikasi dipengaruhi oleh variabel pH, suhu, dan waktu reaksi, misal pada suhu 95°C dengan waktu reaksi 150 menit pada pH 5, 7, dan 9 menghasilkan kadar gula reduksi sebesar 176,801 g/l; 191,773 g/l; dan 183,020 g/l. Untuk suhu dibawah 95°C dan waktu reaksi dibawah 150 menit juga akan menghasilkan kandungan gula reduksi yang berbeda pula sesuai dengan kombinasi variabel.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ramachandran dkk., 2013) menyebutkan bahwa suhu, waktu, dan pH merupakan variabel – variabel yang berpengaruh terhadap proses pembuatan sirup glukosa dengan menggunakan proses hidrolisa enzim.

Tabel 4.2. Analisa variansi pengaruh parameter liquifikasi terhadap konsentrasi gula reduksi

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
suhu	2	4619,3	2309,63	26,75	0,000
waktu	2	7228,4	3614,18	41,86	0,000
pH	2	2107,1	1053,55	12,20	0,004
suhu*waktu	4	1526,2	381,56	4,42	0,035
suhu*pH	4	930,6	232,66	2,69	0,109
waktu*pH	4	744,4	186,10	2,16	0,165
Error	8	690,7	86,34		
Total	26	17846,7			

Dari analisa anova juga didapat main effect plot dari respon berupa konsentrasi gula reduksi. Dari gambar 4.2 dapat dilihat konsentrasi rata – rata gula reduksi terhadap variabel suhu, waktu reaksi dan pH. Pada variabel suhu menunjukkan pada suhu 95 °C menghasilkan rata – rata gula reduksi yang paling tinggi, pada variabel pH, pH 7 mempunyai rata – rata konsentrasi gula reduksi paling tinggi, dan pada variabel waktu reaksi, rata – rata gula reduksi tertinggi terjadi pada waktu reaksi 150 menit. Sehingga variable yang paling berpengaruh terhadap hasil gula reduksi yaitu pada suhu 95 °C, waktu reaksi 150 menit, dan pH 7 (gambar 4.2), hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu suhu optimal pada proses liquifikasi terjadi pada suhu 95 °C (Shinde dkk., 2004), untuk variabel pH penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013) pada proses liquifikasi diatur pada pH 7, adapun penelitian lain yang menyebutkan bahwa pH optimal untuk proses liquifikasi yaitu pada pH 6,5 – 7 (Lindroos dkk, 1980)(Novo 2000). Sedangkan waktu reaksi selama 150 menit juga sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Baskar, Muthukumaran dan Renganathan, 2008) yang menyebutkan waktu optimal pada proses hidrolisa enzim dengan menggunakan enzim α -amylase yaitu pada 150 menit.



Gambar 4.3. Main effect plot variabel dengan gula reduksi yang dihasilkan.

4.1.3 Sakarifikasi

Proses sakarifikasi merupakan proses lanjutan dari liqifikasi dan merupakan tahapan akhir untuk menghasilkan produk akhir berupa sirup glukosa, pada proses sakarifikasi enzim glucoamilase akan menghidrolisis pati menjadi oligosakarida, maltotriosa menjadi maltose, dan maltose menjadi glukosa (Rahmawati dan Sutrisno, 2015). Proses sakarifikasi akan dilakukan dengan variable kondisi pH 4, 6, dan 8, waktu reaksi 0 – 48 jam dengan pengamatan per 12 jam, dan suhu 40, 50, dan 60 °C, pengambilan variabel pH, suhu, dan waktu reaksi berdasarkan penelitian yang telah lebih dulu dilakukan yang menyebutkan bahwa variabel yang memberikan efek signifikan pada proses hidrolisa enzim yaitu pH, suhu, dan waktu reaksi (Ramachandran dkk., 2013).

Tabel 4.3. Kandungan gula reduksi hasil proses sakarifikasi

Suhu (°C)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)
40	12	4	177,236
		6	174,011
		8	164,357
	24	4	169,231
		6	159,410
		8	154,370

Suhu (°C)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)
	48	4	168,934
		6	158,965
		8	149,255
50	12	4	168,860
		6	167,804
		8	160,596
	24	4	176,328
		6	174,345
		8	170,064
	48	4	164,746
		6	149,404
		8	148,811
60	12	4	166,377
		6	168,897
		8	157,668
	24	4	169,749
		6	178,459
		8	169,675
	48	4	183,684
		6	180,497
		8	175,420

4.1.3.1. Pengaruh pH, waktu reaksi dan suhu proses sakarifikasi

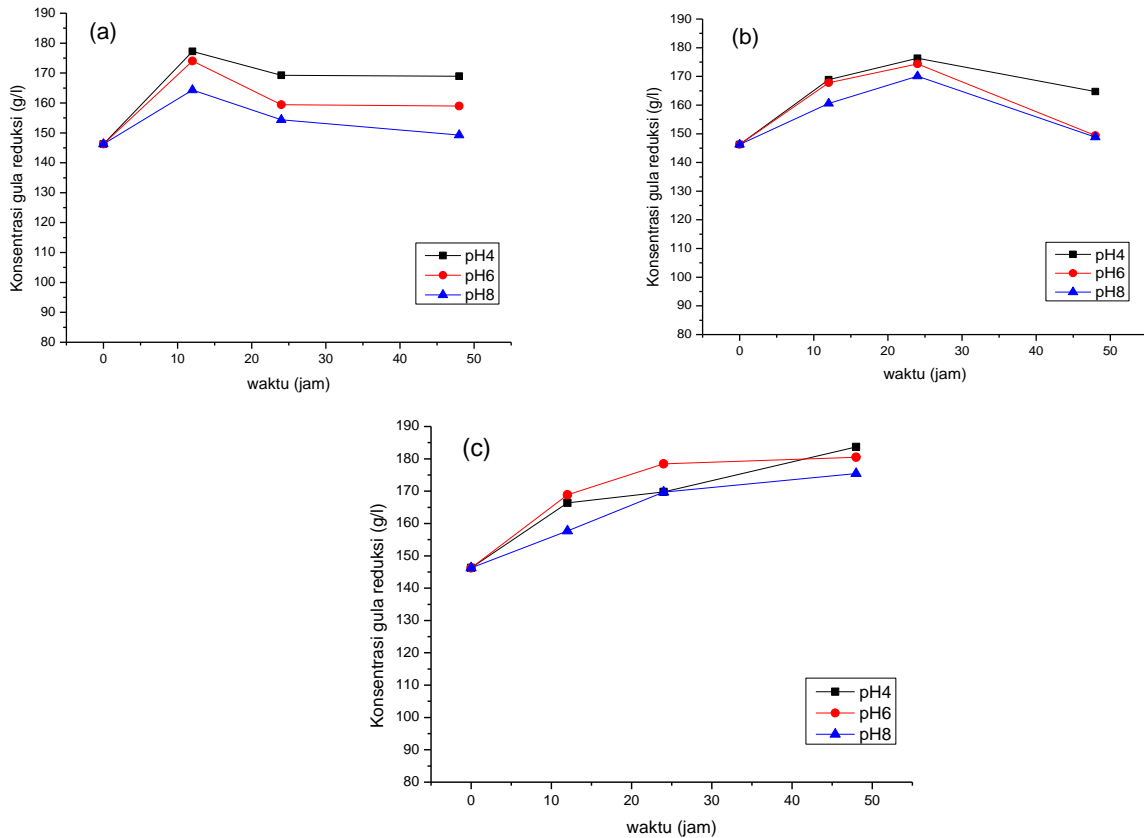
- **Pengaruh waktu reaksi, suhu dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi**

Pengaruh waktu reaksi terhadap gula reduksi dapat dilihat pada gambar 4.4. Dari gambar 4.4 (c) pada suhu reaksi 60 °C dapat dilihat terjadi kecenderungan peningkatan gula reduksi terhadap waktu reaksi pada pH 4, 6,

dan 8 seiring dengan bertambahnya waktu reaksi, kadar gula reduksi tertinggi terdapat pada pH 4 dengan waktu reaksi 48 jam, sedangkan kadar gula reduksi terendah yaitu pada pH 8, rendahnya kandungan gula reduksi pada pH basa disebabkan oleh ketidakstabilan enzim glucoamilase selama reaksi berlangsung dan enzim glucoamilase lebih stabil bekerja pada pH asam (Bednarska, 2015).

Pada gambar 4.4 (a) dan (b) yaitu pada suhu reaksi 40 dan 50 °C dapat dilihat pada waktu 0 sampai 12 jam terjadi kenaikan konsentrasi gula reduksi, dan setelah 12 jam sampai 48 jam terjadi penurunan konsentrasi gula reduksi. Tren menurunnya kandungan gula reduksi pada saat proses sakarifikasi berlangsung dapat disebabkan selama proses sakarifikasi reaksi yang terjadi merupakan reaksi bolak balik (Beschkov, 1983), pada konsentrasi produk yang diinginkan yaitu glukosa, glucoamilase mulai memproduksi maltosa dan isomaltosa, sehingga menyebabkan konversi terhadap glukosa menurun (Bednarska, 2015). Penyebab lain penurunan konsentrasi gula reduksi yaitu menurunnya kinerja dari enzim glucoamilase, enzim glucoamilase akan bekerja efektif dan lebih stabil pada pH asam (Bednarska, 2015), pH optimal pada proses sakarifikasi dengan menggunakan enzim glucoamilase yaitu pada pH 4 – 4,5 (Silva *dkk.*, 2009) sehingga pada pH netral atau basa kinerja enzim glucoamilase tidak lagi seefektif pada pH asam dan menyebabkan turunnya kandungan gula reduksi seiring dengan berjalannya waktu reaksi pada proses sakarifikasi. Penentuan kondisi operasi selama proses hidrolisa enzim juga dapat mempengaruhi produk yang diinginkan (Bednarska, 2015). Penurunan kandungan gula reduksi juga dapat disebabkan pada saat terjadi hidrolisa (tepung sebagai substrat menggunakan glucoamilase), tidak ada jaminan bahwa glukosa yang terbentuk hanya dari aktivitas glucoamilase, enzim seperti α -amilase juga bisa menghidrolisa pati dan memberikan pengaruh pada peran glucoamilase, faktanya bahwa glucoamilase hadir sebagai substrat dan produk inhibisi, serta rentan terhadap deaktivasi termal, dan pengaruh ini akan semakin besar ketika rasio enzim dengan substrat kecil. Peningkatan efisiensi total gula dan dibandingkan dengan efisiensi gula reduksi berpengaruh pada banyaknya campuran α -amilase dengan

glucoamylase, yang berakibat kemungkinan besar enzyme α -*amylase* akan lebih stabil dibandingkan *glucoamylase* (Lopez,2004).



Gambar 4.4. Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu (a) 40 °C (b) 50 °C (c) 60 °C.

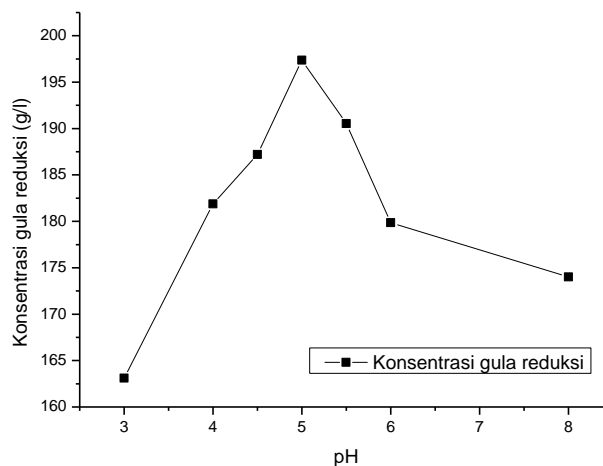
- **Pengaruh pH terhadap konsentrasi gula reduksi**

pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses hidrolisa enzimatik, pada proses sakarifikasi dilakukan pengamatan pada pH 3; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; dan 8. Pada tabel 4.4 dan gambar 4.5 dapat dilihat pengaruh pH terhadap konsentrasi gula reduksi dengan waktu inkubasi 48 jam pada suhu 60 °C, pada pengamatan ini dilakukan pada suhu dan waktu inkubasi yang paling optimal, sehingga dengan merapatkan variabel pH akan didapatkan pH optimal pada proses sakarifikasi. Dari gambar 4.4 dapat dilihat bahwa dari pH 3 ke pH 5 mengalami kenaikan dan pada pH 5 memiliki konsentrasi gula reduksi yang paling tinggi, dan pada pH 5,5 sampai pH 8 mengalami penurunan konsentrasi gula reduksi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Silva dkk., 2009) aktivitas enzim

glucoamylase berada pada kondisi optimal pada pH 4 – 4,5. Penelitian lain menyebutkan pH optimal glucoamylase berada pada range 4,5 – 5 (James dan Lee, 1997). Dari Tabel 4.4 juga dapat dilihat pH memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Dengan rentang pH yang cukup rapat, pada pH 5 memberikan nilai gula reduksi yang paling tinggi yaitu mencapai 197,359 g/l dengan yield sebesar 98,679%.

Tabel 4.4. Pengaruh pH terhadap hasil gula reduksi dan yield proses sakarifikasi pada suhu 60 °C selama 48 jam

Suhu (°C)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)	Yield gula reduksi (%)
60	48	3	163,116	81,55786
		4	183,684	90,93404
		4,5	187,205	93,60236
		5	197,359	98,67958
		5,5	190,540	95,27006
		6	180,497	89,93342
		8	175,420	87,00568

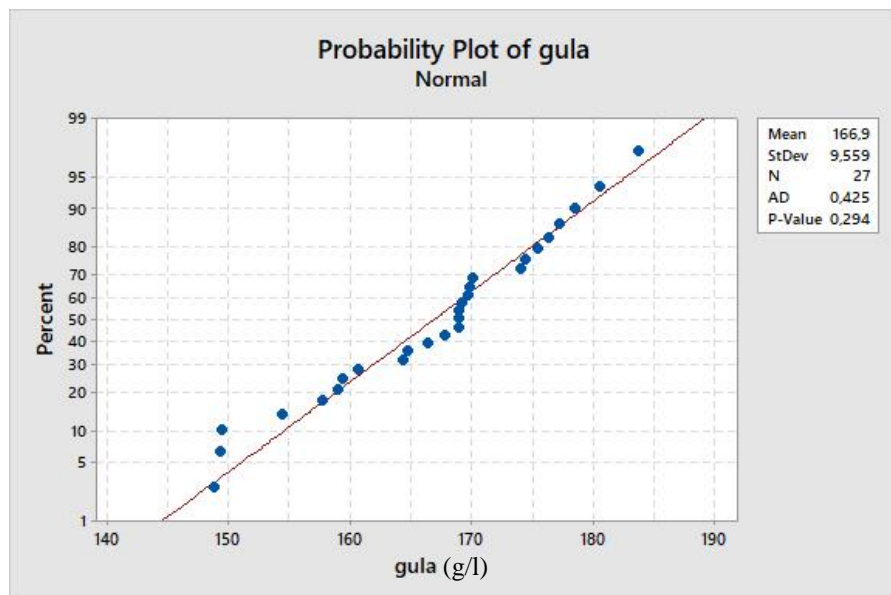


Gambar 4.5 Pengaruh pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada suhu 60 °C dengan waktu reaksi 48 jam

4.1.2.3. Analisa statistik pada proses sakarifikasi dengan menggunakan ANOVA

Dilakukan analisa statistika untuk membuktikan apakah variabel yang digunakan untuk proses hidrolisa enzimatik benar mempengaruhi produk yang dihasilkan, dan variabel bisa dikatakan signifikan apabila nilai p-value dari metode analisis ANOVA mempunyai nilai kurang dari nilai α (5%). Sebelum

melakukan analisa menggunakan metode Two-Way ANOVA general linier model, dilakukan analisa distribusi normal. Distribusi normal merupakan salah satu asumsi sebelum melakukan pengujian Two-Way ANOVA. Dimana *probability plot* pada ANOVA harus berdistribusi normal. Berikut ini adalah hasil pengujian asumsi distribusi normal menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, nilai distribusi dikatakan normal apabila nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus. Pada gambar 4.6 nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus sehingga asumsi distribusi normal dapat diterima. Pada gambar 4.6 dapat dilihat bahwa nilai p-value $0,294 > 0,05$ dan plot membentuk garis lurus, sehingga asumsi data distribusi normal dapat diterima.



Gambar 4.6 Probability plot konsentrasi gula reduksi proses sakarifikasi

Selanjutnya dilakukan analisa statistik dengan menggunakan analisa variansi two-way anova) dengan metode general linier model dari analisa ini dapat diketahui bahwa variable suhu, waktu reaksi dan pH memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil gula reduksi ($p < 0,05$). Pada variabel suhu, waktu, dan pH mempunyai p value 0,000; 0,010; dan 0,000, dengan r square 98,05%. Pengaruh signifikan dalam proses sakarifikasi dapat dilihat pada variabel pH 4, 6 dan 8 pada semua variasi suhu dan waktu reaksi, hasil kandungan gula reduksi dipengaruhi oleh pH, suhu dan waktu reaksi. Seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.3 hasil kandungan gula reduksi dipengaruhi oleh variasi pH, suhu dan waktu reaksi,

seperti pada waktu 24 jam pada suhu 50 °C dengan pH 4 menghasilkan kandungan gula reduksi sebesar 176,328 g/l, sedangkan pada suhu 60 °C pada waktu reaksi 24 jam pada pH 4 menghasilkan kandungan gula reduksi 169,749 g/l. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ramachandran dkk., 2013) menyebutkan bahwa suhu, waktu, dan pH merupakan variabel – variabel yang berpengaruh terhadap proses pembuatan sirup glukosa dengan menggunakan proses hidrolisa enzim.

Tabel 4.5. Analisa variansi pengaruh parameter sakarifikasi terhadap konsentrasi gula reduksi

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
suhu	2	386,17	193,085	33,30	0,000
waktu	2	99,55	49,777	8,58	0,010
pH	2	515,39	257,695	44,44	0,000
suhu*waktu	4	1112,84	278,209	47,98	0,000
suhu*pH	4	125,76	31,440	5,42	0,021
waktu*pH	4	89,52	22,379	3,86	0,049
Error	8	46,39	5,798		
Total	26	2375,62			

Kondisi optimal pada proses sakarifikasi yaitu pada variabel suhu yaitu pada suhu 60 °C hal sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (James dan Lee, 1997), (Bednarska, 2015) dan (Shinde dkk., 2004) yang menyatakan suhu optimal untuk proses sakarifikasi dengan menggunakan glucoamylase terjadi pada suhu 60 °C, adapun beberapa penelitian yang dilakukan oleh (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017), (Chen dan Chang, 1984), (Johnson, Moorthy, & Padmaja, 2010), (Johnson, Padmaja, & Moorthy, 2009), dan (Johnson & Padmaja, 2013) menggunakan suhu 60 °C sebagai suhu optimal proses sakarifikasi. Selanjutnya yaitu variabel pH optimal yaitu pada pH 4, akan tetapi dilakukan pengamatan lebih lanjut dengan merapatkan variabel pH, sehingga didapatkan pH optimal pada pH 5, penelitian yang dilakukan oleh (Bednarska, 2015) menyakatan bahwa enzyme glucoamylase akan cenderung stabil pada pH asam, penelitian lain menyebutkan pH optimal untuk proses sakarifikasi yaitu pada pH 4 – 4,5 (Silva dkk., 2009), penelitian yang dilakukan oleh (Shinde dkk., 2004) menyatakan pada

pH 4 sampai 4,8 terjadi peningkatan prosentrase sakarifikasi dan pada pH 4,8 merupakan prosentase optimal sakarifikasi dengan nilai sebesar 94,8 %, penelitian yang dilakukan (James dan Lee, 1997) menyatakan bahwa pH optimal proses sakarifikasi menggunakan glucoamilase terjadi pada pH 4,5 – 5, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada proses sakarifikasi pH optimal yaitu antara rentang 4 – 5. Waktu reaksi 48 jam merupakan waktu reaksi optimal dalam proses sakarifikasi menggunakan enzim glucoamilase, hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan (Shinde dkk., 2004) menunjukkan waktu terbaik pada 48 jam, adapun penelitian yang dilakukan oleh (Silva dkk., 2009) menunjukkan rate dari hidrolisis starch mulai konstan pada waktu 48 jam.

Apabila dilihat dari segi ekonomi kondisi optimal proses pembentukan sirup glukosa dari proses likuifikasi hingga proses sakarifikasi yaitu pada variabel pH 5, suhu 60 °C dan waktu reaksi 48 jam diperoleh kandungan gula reduksi sebesar 197,359 g/l dengan yield mencapai 98,68%. Dalam proses ini diharapkan dihasilkan kandungan gula glukosa yang setinggi – tinggi untuk diproses lebih lanjut ke proses isomerisasi. Produktivitas proses pembentukan sirup glukosa sebesar 0,1145 per jam.

4.1.4 Isomerisasi

Sirup glukosa terbentuk pada proses sakarifikasi, setelah terbentuknya sirup glukosa proses selanjutnya yaitu proses isomerisasi. Proses isomerisasi merupakan proses pembentukan fruktosa yang berasal dari glukosa dengan bantuan enzim glucose isomerase. Reaksi yang berjalan pada proses ini yaitu reaksi bolak balik. Isomerisasi glukosa menjadi fruktosa diawali dengan protonasi dari C2-OH dan pembentukan furanose aldehyde intermediate. Fruktoda diproduksi dari transfer hidrida dari C2 ke C1 pada cabang furanos aldehyde yang diikuti rehidrasi dari carbon C2 (Gaily, Sulieman dan Abasaeed, 2013). Pada penelitian ini proses isomerisasi dilakukan dengan variabel kondisi operasi pada pH 6;8;10, jumlah enzim 250 mg; 350 mg, dan 500 mg (Johnson, Padmaja dan Moorthy, 2009)(Johnson, Moorthy dan Padmaja, 2010) dengan aktivitas enzim glukoisomerase sebesar 2,358 unit/ml , dan dilakukan sampling untuk analisa kadar fruktosa setiap 12 jam dengan menggunakan metode resorcinol (Roe, Epstein

dan Goldstein, 1949) proses isomerisasi dilakukan di inkubator shaker dengan suhu 60 °C (Lima dkk., 2011) selama 48 jam. Pengambilan beberapa variabel diatas bertujuan untuk mengetahui kondisi isomerisasi yang optimal.

Tabel 4.6. Kandungan fruktosa hasil proses isomerisasi dengan analisa resorcinol method

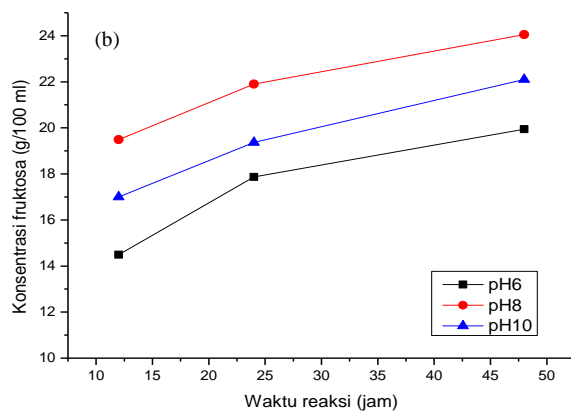
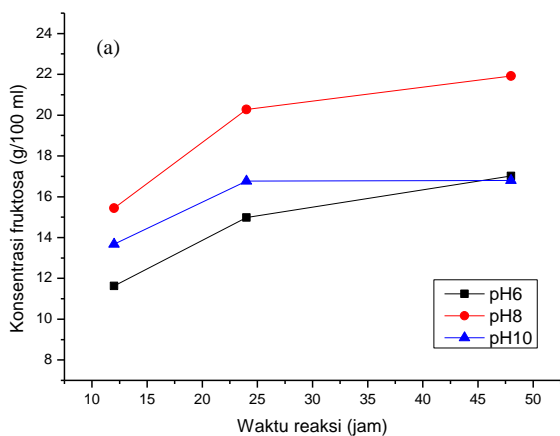
Jumlah Enzim (mg)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan fruktosa (g/100 ml)
250	12	6	11,62676
		8	15,43712
		10	13,67432
	24	6	14,9806
		8	20,27352
		10	16,77052
	48	6	17,01912
		8	21,9188
		10	16,80216
350	12	6	14,48792
		8	19,48704
		10	16,99652
	24	6	17,86888
		8	21,90072
		10	19,365
	48	6	19,93904
		8	24,05224
		10	22,0996
500	12	6	17,71068
		8	24,24208
		10	23,42848
	24	6	22,84992
		8	29,70224
		10	26,74616
	48	6	23,20248
		8	29,80168
		10	25,8964

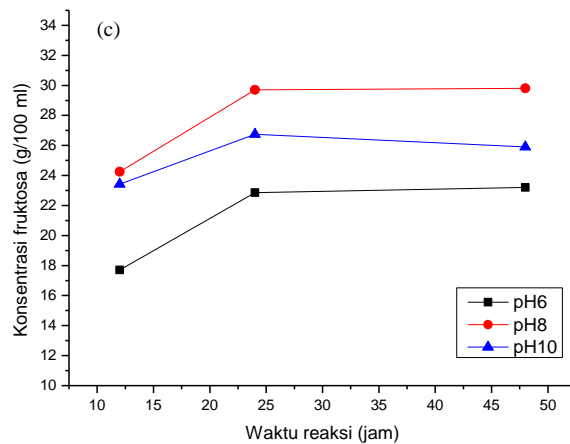
4.1.4.1. Pengaruh pH, waktu reaksi dan jumlah enzim pada proses isomerasi

□ Pengaruh waktu reaksi, pH dan jumlah enzim terhadap kadar fruktosa

Pengaruh waktu reaksi, pH dan jumlah enzim secara overall terhadap kadar fruktosa dapat dilihat pada gambar 4.7. Pada gambar 4.7 dapat dilihat pada jumlah enzim 250 mg, konsentrasi fruktosa pada pH 6, 8 dan 10 cenderung mengalami kenaikan dari waktu 0 sampai 48 jam, hal serupa terjadi pada jumlah enzim 350 mg dan 500 mg yaitu terjadi kecenderungan peningkatan

kadar fruktosa dari waktu ke 0 sampai 48 jam. Pada jumlah 350 mg dan 500 mg kenaikan konsentrasi fruktosa cenderung konstan dari waktu 24 ke 48 jam, akan tetapi pada pH 10 dengan jumlah enzim 500 mg terjadi sedikit penurunan kadar fruktosa hal ini kemungkinan disebabkan reaksi bolak balik yang terjadi pada proses isomerisasi sehingga dengan adanya reaksi bolak balik memungkinkan terjadinya penurunan kadar fruktosa (Gaily, Sulieman dan Abasaed, 2013), penurunan kadar fruktosa dapat disebabkan reaksi tidak berjalan pada pH optimalnya, pH optimal untuk proses isomerisasi glukosa menjadi fruktosa yaitu antara 7,5 – 8,2 (Lima dkk., 2011). Pada gambar 4.7 juga dapat dilihat bahwa pada waktu reaksi antara 24 dan 48 jam menghasilkan kadar fruktosa yang tertinggi pada setiap variabel pH dan konsentrasi enzim, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Johnson, Padmaja dan Moorthy, 2009)(Johnson dan Padmaja, 2013) waktu terbaik proses isomerisasi antara 24 sampai 48 jam. Kadar fruktosa tertinggi yaitu pada pH 8 dengan jumlah enzim 500 mg dengan kadar fruktosa sebesar 29,802 g/100ml. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Lima dkk., 2011) yang menyatakan bahwa pH untuk proses isomerisasi diatur pada pH 7,5 – 8,2. Sedangkan konsentrasi enzim didapat konsentrasi terbaik pada jumlah enzim 500 mg dengan aktivitas enzim sebesar 2,358 unit/ml.

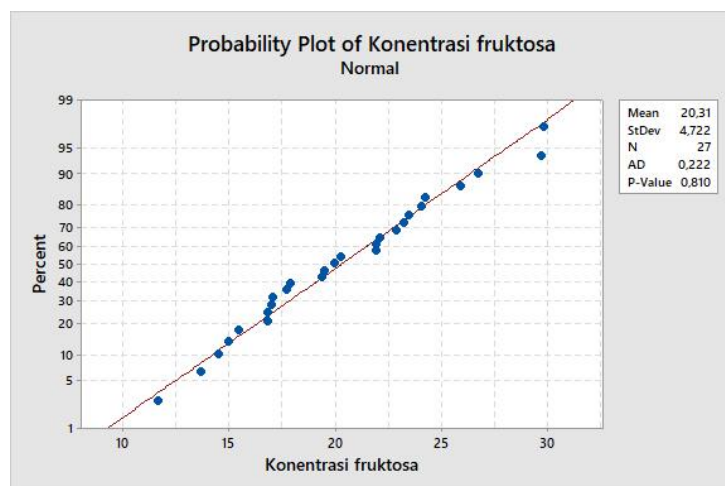




Gambar 4.7. Grafik pengaruh waktu reaksi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada jumlah enzyme (a) 250 mg (b) 350 mg dan (c) 500 mg

4.1.2.4. Analisa statistik pada proses isomerisasi dengan menggunakan ANOVA

Dilakukan analisa statistika untuk membuktikan apakah variabel yang digunakan untuk proses hidrolisa enzimatik benar mempengaruhi produk yang dihasilkan, dan variabel bisa dikatakan signifikan apabila nilai p-value dari metode analisis ANOVA mempunyai nilai kurang dari nilai α (5%). Sebelum melakukan analisa menggunakan metode Two-Way ANOVA general linier model, dilakukan analisa distribusi normal. Distribusi normal merupakan salah satu asumsi sebelum melakukan pengujian Two-Way ANOVA. Dimana *probability plot* pada ANOVA harus berdistribusi normal. Berikut ini adalah hasil pengujian asumsi distribusi normal menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, nilai distribusi dikatakan normal apabila nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus. Pada gambar 4.7 nilai p-value $> 0,05$ dan plot membentuk garis lurus sehingga asumsi distribusi normal dapat diterima. Pada gambar 4.5 dapat dilihat bahwa nilai p-value $0,810 > 0,05$ dan plot membentuk garis lurus, sehingga asumsi data distribusi normal dapat diterima.



Gambar 4.8 Probability plot konsentrasi fruktosa proses isomerisasi

Selanjutnya dilakukan analisa statistik dengan menggunakan analisa variansi two-way anova) dengan metode general linier model dari analisa ini dapat diketahui bahwa variable waktu reaksi, jumlah enzim dan pH memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil *high fructose syrup* ($p < 0,05$). Pada variabel waktu reaksi, jumlah enzim, dan pH mempunyai p value 0,000, dengan r square 99,46%. Seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.6 hasil kandungan fruktosa dipengaruhi oleh pH, jumlah enzim dan waktu reaksi, misalnya pada variabel jumlah enzim 500 mg dan 350 mg dengan varibel pH 8 dan waktu reaksi 48 jam menghasilkan kandungan fruktosa 29,801 g/100ml dan 24,052 g/100ml. Hasil yang berbeda juga akan terjadi sesuai dengan kombinasi variabel yang digunakan sesuai dengan kondisi optimal enzim dalam menghidrolisa substrat.

Tabel 4.7. Analisa variansi pengaruh parameter isomerisasi terhadap konsentrasi high fructose syrup

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
enzyme	2	320,323	160,161	406,97	0,000
waktu	2	115,681	57,841	146,97	0,000
pH	2	123,563	61,781	156,99	0,000
enzyme*waktu	4	5,039	1,260	3,20	0,076
enzyme*pH	4	8,235	2,059	5,23	0,023
waktu*pH	4	3,820	0,955	2,43	0,133
Error	8	3,148	0,394		
Total	26	579,809			

Kondisi optimal pada proses isomerisasi yaitu pada pH 8, yang sejalan dengan penelitian (Lima dkk., 2011) yang menyatakan pada proses isomerisasi kondisi pH optimal pada pH 7,5 – 8,2, waktu reaksi optimal didapat pada 48 jam, akan tetapi pada waktu reaksi 24 jam sampai 48 jam kadar fruktosa sudah mulai konstan. Penelitian (Johnson, Padmaja and Moorthy, 2009; Johnson and Padmaja, 2013) menyatakan waktu optimal pada proses isomerisasi yaitu pada waktu 24 – 48 jam. Akan tetapi jika dilihat dari segi ekonomi waktu reaksi terbaik yang diambil yaitu pada 24 jam karena dengan waktu yang lebih singkat dapat menghasilkan kandungan fruktosa yang hampir sama dengan waktu reaksi 48 jam. Sedangkan jumlah enzim optimal yaitu menggunakan 500 mg enzim glukoisomerase. Penggunaan komposisi 500 mg enzim sejalan dengan penelitian oleh (Johnson, Padmaja and Moorthy, 2009) yang menggunakan jumlah kombinasi enzim 250 mg dan 500 mg.

Apabila dilihat dari segi ekonomi dengan menghitung produktivitasnya, maka didapat kondisi optimal proses isomerisasi pada pH 8, waktu reaksi 24 jam dan jumlah enzim 500 mg dengan nilai produktivitas sebesar 0,3502 per jam, sedangkan jika waktu reaksi diteruskan ke 48 jam produktivitasnya sebesar 0,3417 per jam. Menurunnya produktivitas pada waktu reaksi 48 jam disebabkan dengan waktu yang lebih singkat yaitu 24 jam dapat menghasilkan produk yang memiliki spesifikasi hampir sama dengan waktu reaksi 48 jam.

4.1.5 Konversi yang dihasilkan proses pembentukan *high fructose syrup*

Dalam proses pembentukan sirup fruktosa, hal yang mengambil peranan penting salah satunya yaitu kandungan starch yang terdapat dalam bahan baku. Didalam starch terdapat amyloza dan amylopectin. Amyloza merupakan polimer rantai tunggal yang tidak bercabang, dibentuk dari 500 – 20000 monomer α -D-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan α -1,4 glikosidik, sedangkan amylopectin merupakan rantai polimer bercabang, terbentuk dari 100.000 monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik di rantai utama dan α -1,6 glikosidik pada rantai cabang (Permanasari, Yulistiani dan Djenar, 2017). Kandungan amyloza dan amylopectin di dalam tepung sorgum merah yaitu sebesar 18,57% dan 34,13% (Permanasari, Yulistiani and Djenar, 2017).

Kandungan *amyloza* dan *amylopectin* dalam tepung sorgum merah cukup tinggi dapat dikonversi menjadi sirup glukosa atau gula cair.

Proses pembentukan sirup glukosa

Proses pembentukan sirup glukosa melalui dua tahapan proses yaitu liquifikasi dan sakarifikasi. Sirup glukosa akan terbentuk setelah melalui proses sakarifikasi. Kandungan gula reduksi tertinggi yang dapat terbentuk setelah proses sakarifikasi yaitu sebesar 197,36 g/l slurry dengan yield sebesar 98,68%. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013) membandingkan beberapa bahan baku yang dapat digunakan untuk menghasilkan high fructose syrup, dari penelitian yang dilakukan didapatkan konsentrasi gula reduksi dari bahan baku arrowroot (tepung garut), singkong, *curcuma sp*, *dioscorea sp*, *sweet potato*, *xanthosama sp* (talas), dan jagung yaitu sebagai berikut secara berturut – turut 18,27; 18,24; 17,75; 17,81; 18,14; 18,02; 17,52 g/100ml. Kandungan gula reduksi yang dihasilkan oleh beberapa bahan baku umbi – umbian didasarkan pada kandungan starch yang terdapat dalam tepung, akan tetapi kandungan starch tertinggi belum tentu menghasilkan kandungan gula reduksi yang tinggi, hal ini disebabkan perbedaan properties dari tepung yang digunakan. Kandungan gula reduksi tertinggi dihasilkan dari tepung sorgum jika dibandingkan dengan beberapa sumber pati hasil penelitian yang dilakukan oleh (Johnson and Padmaja, 2013) dengan kandungan gula reduksi 197,36 g/l atau 19,736 g/100 ml hal ini terjadi dikarenakan kandungan amyloza dan amylopektin yang cukup tinggi yaitu 18,57% dan 34,13%, sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Eriksson, 2013) kandungan amyloza dalam tepung singkong yaitu berkisar 9,3 – 11,9 %; dan berdasarkan (Defloor dkk, 1998) kandungan amyloza tepung singkong yaitu berkisar 12,05 – 13,88%.

- **Proses isomerisasi sirup glukosa menjadi sirup fruktosa**

Hasil proses isomerisasi sirup glukosa menjadi sirup fruktosa, pada tabel 4.10 dapat dilihat hasil analisa HPLC high fructose syrup yang dilakukan di ULPPF Universitas Airlangga Surabaya pada beberapa

konsentrasi enzim dengan waktu reaksi 48 jam dari tabel dapat dilihat bahwa dari analisa HPLC kandungan high fructose syrup tertinggi yaitu 174,7775 g/l (17,47775 g/100ml) pada kondisi operasi jumlah enzim 500 mg, pH 8, dan waktu reaksi 48 jam, dengan kandungan gula reduksi awal yaitu 197,4 g/l (19,74 g/100ml) dan konversi sebesar 88,858%.

Sedangkan hasil sirup fruktosa dari beberapa bahan baku (sumber pati) yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013) menghasilkan sirup fruktosa sebagai berikut. Tepung *arrowroot* (tepung garut), tepung singkong, *curcuma sp*, *dioscorea sp.*, *sweet potato*, *xanthosama sp*, dan tepung jagung menghasilkan sirup fruktosa sebesar 17,4 g/100ml; 17,22 g/100ml; 16,84g/100ml; 16,73 g/100ml; 17,2g/100 ml; 16,64 g/100ml; dan 16,27 g/100ml berturut – turut. Dari hasil yang didapat dapat dilihat bahwa sorgum memiliki kandungan sirup fruktosa tertinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2013), hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Johnson dan Padmaja, 2011) menyebutkan bahwa produksi *high fructose syrup* dari tepung singkong mengindikasikan bahwa yield dari fruktosa dan glukosa tergantung dari kandungan starch (amylosa dan amylopectin) dalam *raw material* yang digunakan dimana kandungan amylosa dan amylopectin tepung sorgum cukup besar jika dibandingkan dengan beberapa bahan baku lain yang digunakan. Penelitian yang dilakukan oleh (Dziedzic S, 1981) menyatakan prosentase hasil isomerisasi tidak proporsional terhadap dextrose equivalent (DE) dari sirup glukosa.

Tabel 4.8 Kandungan fruktosa dalam sirup hasil isomerisasi dan % konversi

Jumlah Enzim (mg)	waktu isomerisasi	pH	Avg Kadar fruktosa (%b/v)	Konsentrasi fruktosa (g/l)	Kons awal gula reduksi (g/l)	Konversi (%)
250	48	6	16,4655	164,655	197,359	83,42918
250	48	8	15,499	154,99	197,359	78,53202
250	48	10	16,15325	161,5325	197,359	81,84704
350	48	6	16,25475	162,5475	197,359	82,36133
350	48	8	16,6725	166,725	197,359	84,47803
350	48	10	15,84225	158,4225	197,359	80,27123
500	48	6	17,30075	173,0075	197,359	87,66132
500	48	8	17,47775	174,7775	197,359	88,55816
500	48	10	16,09325	160,9325	197,359	81,54303

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 5

KESIMPULAN

Kesimpulan sementara dari penelitian yang telah dilakukan yaitu :

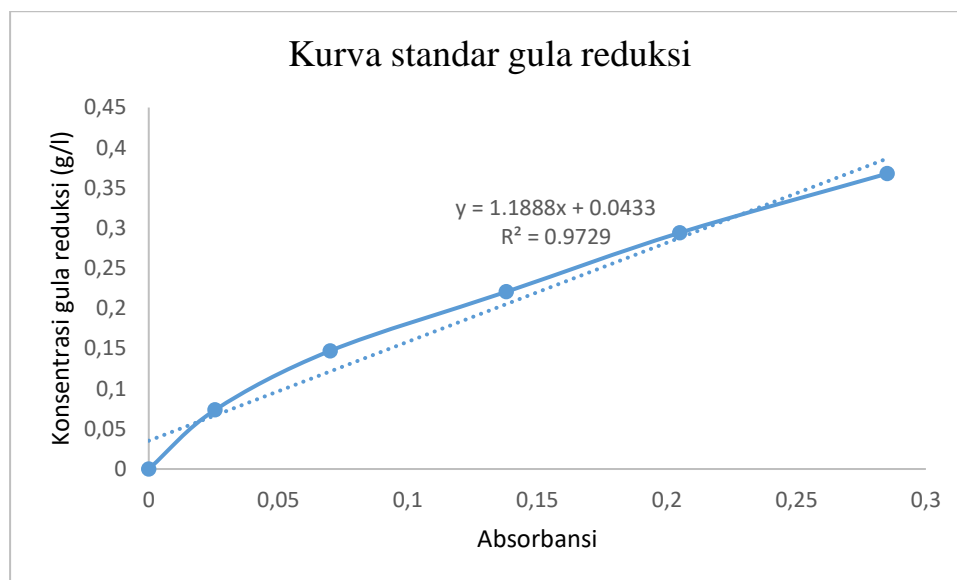
1. Kondisi optimal pada proses liquifikasi terjadi pada variable pH 7, suhu operasi 95 °C, dan waktu operasi 150 menit dengan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan sebesar 191,773 g/l dengan yield sebesar 95,887%.
2. Untuk meninjau kondisi optimal dari proses pembentukan sirup glukosa, harus dilihat dari proses keseluruhan yaitu pada proses liquifikasi yang dilanjutkan dengan proses sakarifikasi. Pada proses liquifikasi diharapkan nilai DE yang tidak terlalu tinggi yaitu dibawah 20 DE sehingga pada proses liquifikasi dibutuhkan waktu yang lebih pendek dan dapat mempengaruhi waktu reaksi total untuk proses pembentukan sirup glukosa. Dalam penelitian ini proses liquifikasi dan sakarifikasi perlu dibandingkan dan perlu untuk ditinjau kembali untuk mendapatkan kondisi optimal.
3. Pada proses sakarifikasi didapat kondisi optimal pada pH 5, suhu operasi 60 °C dan waktu operasi selama 48 jam dengan konsentrasi gula reduksi optimal yaitu 197,359 g/l dengan yield sebesar 98,679% dan produktivitas sebesar 0,1145 per jam.
4. Pada proses isomerisasi didapat kondisi optimal pada pH 8, jumlah enzim 500 mg, dan waktu operasi selama 48 jam dengan konsentrasi fruktosa optimal yaitu 17,47775 g/100 ml dengan konversi sebesar 88,558 %. Sedangkan apabila dilihat dari produktivitas produk yang dihasilkan kondisi optimal proses isomerisasi yaitu pada pada pH 8, jumlah enzim 500 mg, dan waktu operasi 24 jam dengan nilai produktivitas sebesar 0,3502 per jam.
5. Semua data pada proses liquifikasi, sakarifikasi dan isomerisasi sebelum masuk dalam analisa general linier model, dilakukan normalitas yaitu menggunakan *probability plot* dimana semua data pada proses liquifikasi, sakarifikasi, dan isomerisasi berdistribusi normal dengan p-value >0,05 dan plot membentuk garis linier.
6. Analisa statistik menggunakan metode two-way anova general linier model menghasilkan nilai p value <0,05 pada tiap variabel hidrolisa enzim, dengan r square >90%, sehingga dapat dikatakan bahwa variabel yang digunakan pada

ketiga step proses hidrolisa memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produk yang dihasilkan.

APPENDIKS

1. Menghitung Konsentrasi Gula reduksi pada proses liquifikasi

Konsentrasi gula reduksi dihitung dari persamaan garis di dalam kurva standart glukosa menggunakan metode spektrofotometri uv.



Grafik A.1. Kurva Standar gula reduksi

Dari kurva standar di atas di dapatkan persamaan garis $y = 1.1888x + 0.0433$. Dari hasil analisa menggunakan spektrofotometri uv untuk sampel gula reduksi hasil proses liquifikasi pada waktu 100 menit, suhu 85°C dan pH 7 didapatkan nilai absorbansi sebesar 1,4049, kemudian konsentrasi gula reduksi dihitung dengan cara :

$$\begin{aligned}y &= (1,1888 \times 1,4049) + 0,0433 \\ &= 1,618291\end{aligned}$$

Pengenceran sampel dilakukan sampai 100 kali sehingga kadar gula reduksi yang didapat yaitu $1,618291 \times 100 = 161,8291 \text{ g/liter}$

Untuk perhitungan variable yang lainnya di hitung dengan cara yang sama

Perhitungan yield yaitu :

Pada percobaan bahan baku yang digunakan yaitu 20% w/v dalam 100 ml aquadest
 Sehingga diperlukan tepung sorgum sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 100 ml atau setara dengan 0,1 liter aquadest.

$$\text{yield} = \frac{\text{gr gula reduksi}}{\text{gr bahan baku}}$$

$$= \frac{161,8291 \frac{\text{gr}}{\text{liter}} \times 0,1 \text{ liter}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

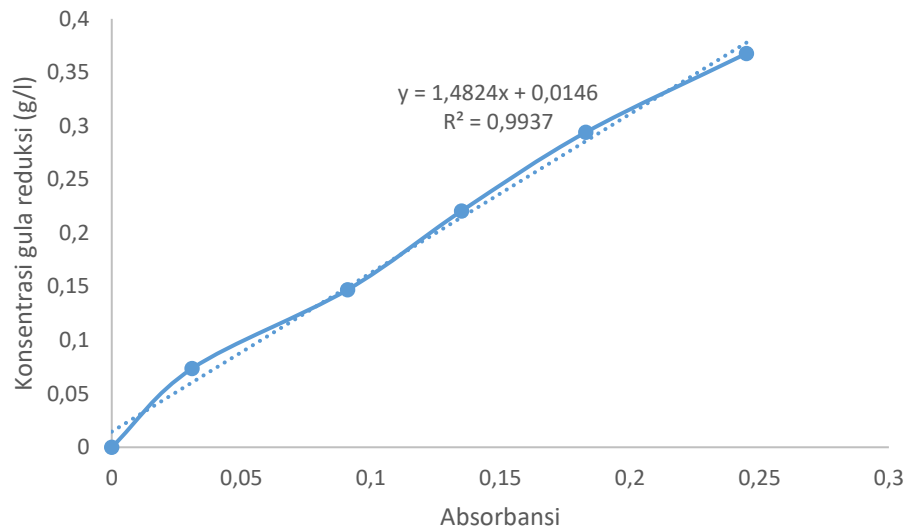
$$= 80,9145 \%$$

Hasil perhitungan konsentrasi gula reduksi pada proses liquifikasi

Suhu (°C)	Waktu reaksi (menit)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)	Yield gula reduksi (%)
75	50	5	96,1822	48,09109567
		7	118,1797	59,08983067
		9	124,7444	62,37217567
	100	5	97,2187	48,60936067
		7	121,0589	60,52945567
		9	134,0731	67,03656067
	150	5	132,5759	66,28795567
		7	147,7784	73,88917567
		9	135,5703	67,78516567
85	50	5	101,9407	50,97034567
		7	108,2750	54,13752067
		9	127,7388	63,86938567
	100	5	150,0818	75,04087567
		7	161,8291	80,91454567
		9	137,1827	68,59135567
	150	5	163,6718	81,83590567
		7	167,3573	83,67862567
		9	152,6155	76,30774567
95	50	5	114,4942	57,24711067
		7	159,5257	79,76284567
		9	143,1716	71,58577567
	100	5	119,6769	59,83843567
		7	169,2000	84,59998567
		9	137,1827	68,59135567
	150	5	176,8012	88,40059567
		7	191,7733	95,88664567
		9	183,0204	91,51018567

2. Menghitung Konsentrasi Gula reduksi pada proses Sakarifikasi

Konsentrasi gula reduksi dihitung dari persamaan garis di dalam kurva standart glukosa menggunakan metode spektrofotometri uv.



Grafik Kurva Standar gula reduksi

Dari kurva standar di atas di dapatkan persamaan garis $y = 1,4824x + 0,0146$. Dari hasil analisa menggunakan spektrofotometri uv untuk sampel gula reduksi hasil proses sakarifikasi pada waktu 12 jam, suhu 40°C dan pH 4 didapatkan nilai absorbansi sebesar 1,186, kemudian konsentrasi gula reduksi dihitung dengan cara :

$$y = (1,4824 \times 1,186) + 0,0146$$

$$= 1,77236$$

Pengenceran sampel dilakukan sampai 100 kali sehingga kadar gula reduksi yang didapat yaitu $1,77236 \times 100 = 177,236$ g/ liter

Untuk perhitungan variable yang lainnya di hitung dengan cara yang sama

Perhitungan yield yaitu :

Pada percobaan bahan baku yang digunakan yaitu 20% w/v dalam 100 ml aquadest. Sehingga diperlukan tepung sorgum sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 100 ml atau setara dengan 0,1 liter aquadest.

$$\text{yield} = \frac{\text{gr gula reduksi}}{\text{gr bahan baku}}$$

$$= \frac{177,236 \frac{\text{gr}}{\text{liter}} \times 0,1 \text{ liter}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

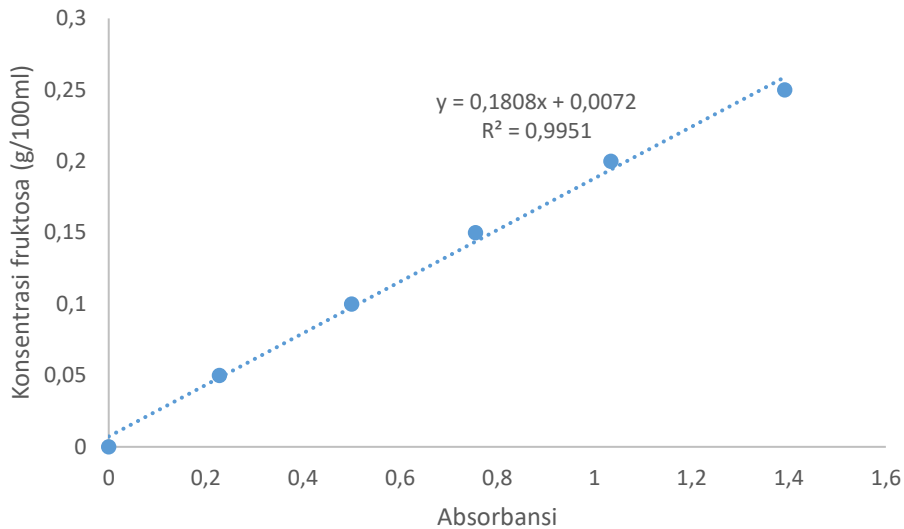
$$= 88,618 \%$$

perhitungan yield untuk semua variabel dilakukan dengan cara yang sama.

Suhu (°C)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan gula reduksi (g/l)	Yield (%)
40	12	4	177,236	88,61779
		6	174,011	87,00568
		8	164,357	82,178615
	24	4	169,231	84,61531
		6	159,410	79,70486
		8	154,370	77,18478
	48	4	168,934	84,46707
		6	158,965	79,4825
		8	149,255	74,62764
50	12	4	168,860	84,43001
		6	167,804	83,901905
		8	160,596	80,29782
	24	4	176,328	88,163805
		6	174,345	87,17245
		8	170,064	85,032235
	48	4	164,746	82,37318
		6	149,404	74,70176
		8	148,811	74,40528
60	12	4	166,377	83,1885
		6	168,897	84,44854
		8	157,668	78,83395
	24	4	169,749	84,87473
		6	178,459	89,22928
		8	169,675	84,83767
	48	4	183,684	91,84201
		6	180,497	90,24843
		8	175,420	87,70982

3. Menghitung konsentrasi fruktosa pada proses isomerisasi

Konsentrasi fruktosa dihitung dari persamaan garis di dalam kurva standart fruktosa menggunakan metode spektrofotometri uv.



Dari kurva standar di atas di dapatkan persamaan garis $y = 0,1808x + 0,0072$. Dari hasil analisa menggunakan spektrofotometri uv untuk sampel fruktosa hasil proses isomerisasi pada waktu 12 jam, jumlah enzim 250 mg dan pH 6 didapatkan nilai absorbansi sebesar 0,60325, kemudian konsentrasi gula reduksi dihitung dengan cara :

$$y = (0,1808 \times 0,60325) + 0,0072$$

$$= 0,11626$$

Pengenceran sampel dilakukan sampai 100 kali sehingga kadar gula reduksi yang didapat yaitu $0,11626 \times 100 = 11,626 \text{ g/100ml}$

Untuk perhitungan variable yang lainnya di hitung dengan cara yang sama

Perhitungan yield yaitu :

Pada percobaan bahan baku yang digunakan yaitu 20% w/v dalam 100 ml aquadest. Sehingga diperlukan tepung sorgum sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 100 ml atau setara dengan 0,1 liter aquadest.

$$\text{yield} = \frac{\text{gr fruktosa}}{\text{gr bahan baku}}$$

$$= \frac{11,626 \frac{\text{gr}}{\text{liter}} \times 0,1 \text{ liter}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 5,81388 \%$$

Jumlah Enzim (mg)	Waktu reaksi (jam)	pH	Kandungan fruktosa (g/100 ml)	Yield (%)
250	12	6	11,62676	5,81338
		8	15,43712	7,71856
		10	13,67432	6,83716
	24	6	14,9806	7,4903
		8	20,27352	10,13676
		10	16,77052	8,38526
	48	6	17,01912	8,50956
		8	21,9188	10,9594
		10	16,80216	8,40108
350	12	6	14,48792	7,24396
		8	19,48704	9,74352
		10	16,99652	8,49826
	24	6	17,86888	8,93444
		8	21,90072	10,95036
		10	19,365	9,6825
	48	6	19,93904	9,96952
		8	24,05224	12,02612
		10	22,0996	11,0498
500	12	6	17,71068	8,85534
		8	24,24208	12,12104
		10	23,42848	11,71424
	24	6	22,84992	11,42496
		8	29,70224	14,85112
		10	26,74616	13,37308
	48	6	23,20248	11,60124
		8	29,80168	14,90084
		10	25,8964	12,9482

4. Perhitungan hasil analisa HPLC dan konversi gula reduksi proses sakarifikasi menjadi high fructose syrup

Berikut merupakan tabel hasil analisa HPLC pada beberapa variabel jumlah enzim dan pH pada waktu reaksi 48 jam.

Kons Enzim (mg)	waktu isomerisasi	pH	Avg Kadar fruktosa (%b/v)	Konsentrasi fruktosa (g/l)	Kons awal gula reduksi (g/l)	Konversi (%)
250	48	6	16,4655	164,655	197,359	83,42918
250	48	8	15,499	154,99	197,359	78,53202
250	48	10	16,15325	161,5325	197,359	81,84704
350	48	6	16,25475	162,5475	197,359	82,36133
350	48	8	16,6725	166,725	197,359	84,47803
350	48	10	15,84225	158,4225	197,359	80,27123
500	48	6	17,30075	173,0075	197,359	87,66132
500	48	8	17,47775	174,7775	197,359	88,55816
500	48	10	16,09325	160,9325	197,359	81,54303

Perhitungan konsentrasi fruktosa dalam g/l

Kandungan fruktosa dari analisa HPLC yaitu sebesar 16,4655 %b/v dengan menggunakan standar fruktosa (1000 mg dilarutkan dalam 10 ml aquades).

1000 mg=1 gram dilarutkan dalam 10 ml

$$\frac{1 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \times 100\% = 10\% \text{ g/cc}$$

Sehingga satuan % b/v yaitu berupa g/cc atau g/ml

$$16,4655\% \frac{g}{ml} = \frac{16,4655}{100} = 0,164655 \frac{g}{ml}$$

$$0,16455 \frac{g}{ml} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ liter}} = 164,655 \frac{g}{l}$$

Sehingga konversi diperoleh sebesar :

Kandungan gula reduksi awal (dari proses sakarifikasi) = 197,359 g/l

$$\% \text{ konversi} = \frac{164,655}{197,359} \times 100\% = 83,429\%$$

DAFTAR PUSTAKA

- Aryanti, N., Sumardiono, S. & Widiyasa, I. nyoman, 2002. Pembuatan gula cair dari tapioka dengan bioreaktor membran.
- A. Lindroos. Y. Y Linko and P Linko., 1980 Enzyme engineering in food processing. (P Linko and J. Larinkari, Ed) . Berley starch conversion by immobilized glucoamylase and glucose isomerase.
- Aschengreen, N.H., 1979. Liquefaction, Saccharification and Isomerization of Starches from Sources Other than Maize. *Starch - Stärke*,. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/star.19790310208>.
- Baskar, G., Muthukumar, C. and Renganathan, S. (2008) ‘Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Manihot Esculenta Root Starch by Immobilized α -Amylase Using Response Surface Methodology’,.
- Bednarska, K. A. (2015) *Kinetic modelling of enzymatic starch hydrolysis*.
- Benton D et al, 1987, Glucose improves attention and reaction to frustration in children PubMed
- Beschkov, V. (1983) ‘A Kinetic Model for the Hydrolysis and Synthesis of Maltose , Isomaltose , and Maltotriose by Glucoamylase’,.
- Chen, W. & Chang, Y., 1984. Production of High-fructose Rice Syrup and High-protein Rice Flour from Broken Rice ”. , (September 1983),.
- Chung M et al, 2014, Fructose, high-fructose corn syrup, sucrose, and nonalcoholic fatty liver disease or indexes of liver health: a systematic review and meta-analysis *The American Journal of Clinical Nutrition*
- De, E., Gomez, M. and Rosell, C. M. (2013) ‘Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties’, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 98(1), pp. 421–427. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.06.002.
- Dekker, Marcel, Patrick F. Fox, John R. Whitaker, Alphons G. .. Voragen, and Dominic W. S. Wong. 2003. “Handbook of Food Enzymology.”
- Dicko, Mamoudou H. . 2006. “Effects of Germination on the Activities of Amylases and Phenolic Enzymes in Sorghum Varieties Grouped according

- to Food End-Use.” 963(July 2005):953–63.
- Dziedzic S (1981) ‘Production and Physico-chemical Properties of Isomerized Glucose Syrups I. Sweetness’, *Starch - Stärke*. Wiley-Blackwell, 33(11), pp. 369–372. doi: 10.1002/star.19810331104.
- Eriksson, E. (2013) ‘Flour from three local varieties of Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz): Physico- chemical properties , bread making quality and sensory evaluation evaluation’, (371), pp. 1–41.
- Firmansyah, S.I.U., 2007. Struktur , Komposisi Nutrisi dan Teknologi. , pp.1–21.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations,2003. Food energy - methods of analysis and conversion factors.
- Gaily, M. H., Sulieman, A. K. and Abasaeed, A. E. (2013) ‘Kinetics of a Three-Step Isomerization of Glucose to Fructose Using Immobilized Enzyme’, 4(1), pp. 31–34. doi: 10.7763/IJCEA.2013.V4.255.
- Gao X , 2007, Intake of added sugar and sugar-sweetened drink and serum uric acid concentration in US men and women PubMed
- Gibson PR , 2007, Review article: fructose malabsorption and the bigger picture Wiley Online Library
- Gonder-Frederik L , 1997, Memory enhancement in elderly humans: Effects of glucose ingestion ScienceDirect
- Ha V , 2012, Effect of fructose on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials PubMed
- Hall JL , 1989, Glucose enhancement of performance on memory tests in young and aged humans PubMed
- Hediger, M.L. ., 2008. Reduced Bone Cortical Thickness in Boys with Autism or Autism Spectrum Disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 38(5), pp.848–856. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10803-007-0453-6>.
- Hobbs, Larry. 2009. Sweeteners from Starch : Production , Properties and Uses.
- Hurrell, Richard F., Manju B. Reddy, Marcel-a Juillerat, and James D. Cook. 2003. “Degradation of Phytic Acid in Cereal Porridges Improves Iron Absorption by Human Subjects 1 – 3.”
- James, J. A. and Lee, B. H. (1997) ‘glucoamylases : microbial sources , industrial applications and molecular biology - a review’, 21, pp. 1–52.

- Jariyah, Rudi Nurismanto, and Sudaryati. 2011. “Produksi Sirup Glukosa Hasil Hidrolisis Enzimatis Pati Garut.”
- Johnson, R., Moorthy, S.N. & Padmaja, G., 2010. Production of High Fructose Syrup from Cassava and Sweet Potato Flours and their Blends with Cereal Flours. *Revista de Agaroquimica y Tecnologia de Alimentos*, 16(3). Available at: <http://dx.doi.org/10.1177/1082013210366770>.
- Johnson, R., Padmaja, G. & Moorthy, S.N., 2009. Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), pp.616–620. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2009.04.001>.
- Johnson, R. and Padmaja, G. (2011) *Utilization of Cassava Fibrous Residue for the Production of Glucose and High Fructose Syrup, Industrial Biotechnology*. doi: 10.1089/ind.2011.0015.
- Johnson, R. and Padmaja, G. (2013) ‘Comparative Studies on the Production of Glucose and High Fructose Syrup from Tuber Starches’, *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(10), pp. 68–75.
- Korol DL , 1998, Glucose, memory, and aging *The American Journal of Nutrition*
- Kunamneni, Adinarayana, Kugen Permaul, and Suren Singh. 2005. “Amylase Production in Solid State Fermentation by the Thermophilic Fungus *Thermomyces Lanuginosus* Amylase Production in Solid State Fermentation by the Thermophilic Fungus *Thermomyces Lanuginosus*.” (September).
- Latulippe ME , 2011, Fructose Malabsorption and Intolerance: Effects of Fructose with and without Simultaneous Glucose Ingestion *Tandofline.com*
- Li, Z. . (2015) ‘The effect of starch concentration on the gelatinization and liquefaction of corn starch’, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 48(June), pp. 189–196. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.02.030.
- Lima, D. M. . (2011) ‘Fructose Syrup : A Biotechnology Asset’, 9862(4), pp. 424–434.
- Mahasukhonthachat, K., Sopade, P. A. and Gidley, M. J. (2010) ‘Kinetics of starch digestion in sorghum as affected by particle size’, *Journal of Food*

- Engineering*. Elsevier Ltd, 96(1), pp. 18–28. doi:
10.1016/j.jfoodeng.2009.06.051.
- Mahreni & Sulistyowati, E., 2004. Pembuatan “ High Fructose Syrup ” Dari Tepung Maizena Secara Enzimatis (The Making Of High Fructose Syrup From Cornmeal Flour Through Enzymization).
- Mitchell H, 2006, *Sweeteners-and-Sugarf-Alternatives-in-Food-Technology*
- Mitsuiki, Shinji et al. 2005. “Comparative Characterization of Raw Starch Hydrolyzing α -Amylases from Various Bacillus Strains.” 37:410–16.
- Natasendjaja, W., 1983. Aktivitas enzim glukosa isomerase dari *Fusarium* sp., *Streptomyces* sp. S-21 dan *Streptomyces phaeochromogenes* Ferm-P221.
- Norman. 2001. “Enzymatic Preparation Of Glucose Syrup From Starch United States Patent.” 1(12).
- Novo Nostisk, 2000. Use of sweetzyme T on the production of high fructose syrup in enzyme business.
- Ohenhen, R. E. and M. J. Ikenebomeh. 2007. “Shelf Stability and Enzyme Activity Studies of Ogi : A Corn Meal Fermented Product.” 3(1):38–42.
- Parker, Kay, Michelle Salas, and Veronica C. Nwosu. 2010. “High Fructose Corn Syrup : Production , Uses and Public Health Concerns.” 5(December):71–78.
- Permanasari, A. R., Yulistiani, F. and Djenar, N. S. (2017) ‘Liquid sugar production from red sorghum starch as raw material to produce high fructose syrup (HFS)’, *Advanced Science Letters*, 23(6), pp. 5775–5779. doi: 10.1166/asl.2017.8829.
- Prasetyo, B.D., 2017. Menuju Industri Gula Yang Berdaya Saing. , (April).
- Rahmawati, Alifia Yuanika and Aji Sutrisno. 2015. “Hidrolisis Tepung Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas* L .) Secara Enzimatis Menjadi Sirup Glukosa Fungsional : Kajian Pustaka Enzymatic Hydrolysis of Purple Sweet Potato (*Ipomea Batatas* L .) Flour into Functional Glucose Syrup : A Review.” 3(3):1152–59.
- Ramachandran, V. (2013) ‘Enzymatic Hydrolysis for Glucose-A Review’, *International Journal of Science, Engineering and Technology Research*, 2(10), pp. 1937–1942.

- Ramos, J.E.T. , 2011. On the production of glucose and fructose syrups from cashew apple juice derivatives. *Journal of Food Engineering*, 102(4), pp.355–360. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.013>.
- Ratna, A. & Yulistiani, F., 2011. Pembuatan gula cair dari pati singkong dengan menggunakan hidrolisis enzim. , pp.9–14.
- Richardson, Toby H. 2002. “A Novel , High Performance Enzyme for Starch Liquefaction.” 277(29):26501–7.
- Risnoyatiningsih, Sri. 2011. “Hydrolysis Of Starch Saccharides From Sweet Potatoes Using Enzyme.” 5(April):417–24.
- Roe, J. H., Epstein, J. H. and Goldstein, N. P. (1949) ‘A photometric method for the determination of insulin in plasma and urine.’, *The Journal of biological chemistry*. United States, 178(2), pp. 839–845.
- Rowe RC et al, 2009 Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition
- Shinde, V. V , 2004. optimization-of-process-conditions-for-preparation-of-glucose-syrup-from-sorghum-bicolor-l-monech-starch-using-immobiliz.pdf.
- Silva, N. . (2009) ‘Production of glucose and fructose syrups from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch using enzymes produced by microorganisms isolated from Brazilian Cerrado soil’, (x), pp. 0–4.
- Sivaramakrishnan, Swetha, Dhanya Gangadharan, Kesavan Madhavan, Carlos Ricardo Soccol, and Ashok Pandey. 2006. “A -Amylases from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments.” 44(2):173–84.
- Smaali, Issam . 2011. “Production of High-Fructose Syrup from Date by-Products in a Packed Bed Bioreactor Using a Novel Thermostable Invertase from *Aspergillus Awamori*.” *Biocatalysis and Biotransformation* 29(6):253–61. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.3109/10242422.2011.615924>).
- Smith MA , 2009, Glucose enhancement of memory is modulated by trait anxiety in healthy adolescent males *SAGE Journals*
- Suarni, 2012. Potensi Sorgum sebagai Bahan Pangan Fungsional. , pp.58–66.
- Sünram-Lea SI , 2004, The influence of fat co-administration on the glucose memory facilitation effect *PubMed*
- Tappy L et al, 2010, Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity *Physiological Reviews*

- Taylor EN , 2008, Fructose consumption and the risk of kidney stones PubMed
- Tester, R. F. (2016) ‘Swelling and gelatinization of cereal starches . I . Effects of amylopectin , amylose and lipids’, (January 1990).
- Tomotani, E.J. & Vitolo, M., 2007. Production of high-fructose syrup using immobilized invertase in a membrane reactor. , 80, pp.662–667.
- Towo, Elifatio, Erika Matuschek, and Ulf Svanberg. 2006. “Food Chemistry Fermentation and Enzyme Treatment of Tannin Sorghum Gruels : Effects on Phenolic Compounds , Phytate and in Vitro Accessible Iron.” 94:369–76.
- Triyono, A., 2010. Karakteristik Gula Glukosa Dari Hasil Hidrolisa Pati Ubi Jalar (Ipomoea Batatas , L .) Dalam Upaya Pemanfaatan Pati Umbi – Umbian Agus Triyono. , (5), Pp.7–10.
- Utreja D, 2010, A study of influence of sugars on the modulations of dental plaque pH in children with rampant caries, moderate caries and no caries Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry
- White, John S. 2008. “Straight Talk about High-Fructose Corn Syrup : What It Is and What It.” 88:1716–21.
- Zainab, A., Modu, S. and Falmata, A. S. (2011) ‘Laboratory scale production of glucose syrup by the enzymatic hydrolysis of starch made from maize , millet and sorghum’, 23(1), pp. 1–8.

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Banyuwangi, 21 Maret 1992, merupakan anak ke 2 dari 3 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Fajar Genteng, SD Muhammadiyah 06 Genteng, SMPN 1 Genteng, SMAN 1 Jember, D3 Teknik Kimia FTI-ITS, S1 Teknik Kimia FTI – ITS. Setelah lulus S1 penulis mengikuti beberapa kegiatan proyek dan penelitian dengan Dosen D3 Teknik Kimia Ir. Elly Agustiani, M.Eng. Proyek yang telah diselesaikan penulis yaitu pengerjaan laporan AMDAL PT SASA INTI Gending Probolinggo, Inkubator Bisnis Pesantren kerjasama ITS dengan Bank Indonesia tahun 2016, pelatihan UMKM kerjasama inkubator bisnis ITS dengan Disperindag Kota Surabaya, laporan RKL – RPL Bank BCA Darmo, laporan RKL – RPL PT. Arsynergy, dan laporan Kerangka Acuan PT PJB UP Gresik. Penulis juga terlibat dalam penelitian dana lokal ITS dengan judul penelitian pembuatan bioetanol foodgrade dari nira aren. Penulis mengikuti seleksi penerimaan mahasiswa S2 jurusan Teknik Kimia FTI – ITS dan terdaftar dengan NRP 02211650010010. Selama kuliah, penulis aktif di Himpunan Mahasiswa D3 Teknik Kimia dengan bergabung dalam bidang Akademik dan Kesejahteraan Mahasiswa (AKESMA) sebagai staff periode kepengurusan 2011/2012 dan periode kepengurusan 2012/2013, serta beberapa pelatihan dan seminar yang diadakan di tingkat jurusan dan institut. Alamat email: tiqa054@gmail.com