

**PENENTUAN MATRIKS DAN JUMLAH PEMAKAIAN ENZIM IMOBIL
YANG EFEKTIF PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA SISTEM *BATCH***

**JOHANA IVANA SUNARTO
G031 17 1311**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**PENENTUAN MATRIKS DAN JUMLAH PEMAKAIAN ENZIM IMOBIL
YANG EFEKTIF PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA SISTEM *BATCH***

**Johana Ivana Sunarto
G031 17 1311**

UNIVERSITAS HASANUDDIN

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Teknologi Pertanian
pada
Departemen Ilmu dan Teknologi Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

PENENTUAN MATRIKS DAN JUMLAH PEMAKAIAN ENZIM IMOBIL YANG EFEKTIF PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA SISTEM *BATCH*

Disusun dan diajukan oleh:

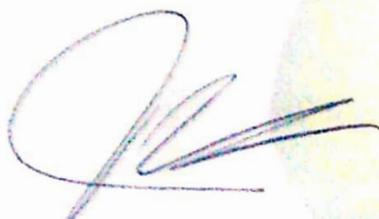
JOHANA IVANA SUNARTO
G031 17 1311

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin pada tanggal 27 Desember 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS
NIP. 19621231 198803 1 020



Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si
NIP. 19680522 201508 2 001



Ketua Program Studi,

Dr. Fehruadi Bastian, S.TP., M.Si
NIP. 19820205 200604 1 002

Tanggal Lulus: 27 Desember 2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Johana Ivana Sunarto
NIM : G031 17 1311
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

“Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil yang Efektif pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem *Batch*”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2021



Johana Ivana Sunarto

ABSTRAK

JOHANA IVANA SUNARTO (NIM. G031 17 1311). Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil yang Efektif pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem *Batch*. Dibimbing oleh AMRAN LAGA dan ANDI HASIZAH.

Latar belakang: Sirup fruktosa merupakan suatu produk pangan berupa sirup gula yang mengandung fruktosa dengan presentase yang tinggi, yaitu minimal 42% (SNI 01-2985-1992) dengan tingkat kemanisan yang lebih tinggi dibandingkan gula pasir/sukrosa. Sirup fruktosa dimanfaatkan sebagai pemanis alternatif non tebu yang diproduksi secara enzimatik melalui proses isomerisasi sirup glukosa menggunakan enzim glukosaisomerase. Proses produksi secara enzimatik memerlukan biaya yang cukup mahal, dikarenakan dari harga enzim serta penggunaan enzim yang hanya satu kali pada umumnya sehingga kurang efisien. Oleh karena itu, dilakukan proses imobilisasi enzim dengan metode adsorpsi fisik pada padatan pendukung (matriks). **Tujuan:** Penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis matriks dan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif pada produksi sirup fruktosa dari sirup glukosa. **Metode:** Penelitian ini dilakukan melalui proses isomerisasi dengan enzim terimobil pada matriks batu apung, matriks zeolit, dan kombinasi (1:1) matriks batu apung dan zeolit serta pemakaian enzim imobil sampai pemakaian kelima. Parameter pengamatan pada penelitian ini adalah kadar fruktosa, kadar glukosa, tingkat kemanisan, dan nilai pH. **Hasil:** Penelitian yang diperoleh pada penentuan matriks terbaik adalah matriks batu apung dan zeolit dengan kadar fruktosa 48,867%, kadar glukosa 37,724%, pH 8,575, dan tingkat kemanisan 61,233°Brix. Sedangkan hasil pada penentuan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif dapat digunakan sampai pemakaian keempat dengan kadar fruktosa 42,99%, kadar glukosa 42,618%, pH 8,409, dan tingkat kemanisan 58,944°Brix.

Kata kunci: Imobilisasi, isomerisasi, jenis matriks, jumlah pemakaian, sirup fruktosa.

ABSTRACT

JOHANA IVANA SUNARTO (NIM. G031 17 1311). The Determination of Matrix and Frequency of Immobilized Enzymes Usage in The Production of Fructose Syrup with a Batch System. Supervised by AMRAN LAGA and ANDI HASIZAH.

Background Fructose syrup is a food product in the form of sugar syrup containing a high percentage of fructose, at least 42% (SNI 01-2985-1992) with a higher level of sweetness than sugar/sucrose. Fructose syrup is used as an alternative non-cane sweetener which is produced enzymatically through the isomerization process of glucose syrup using glucose isomerase. Enzymatic production process requires quite expensive costs, due to the price of enzymes and a single usage of enzymes in general. Therefore, the enzyme immobilization process was carried out using the physical adsorption method on the solid support (matrix) to extend the usage and lower the cost. **Purpose** of this study was to determine the type of matrix and the frequency of use of an effective immobilized enzyme in the production of fructose syrup from glucose syrup. **Methods** this research was conducted through an isomerization process with immobilized enzymes on pumice matrix, zeolite matrix, and a combination (1:1) of pumice and zeolite matrix and the use of immobilized enzymes until the fifth application. Parameters observed in this study were fructose levels, glucose levels, sweetness levels, and pH values. **Results** the research obtained on determining the best type of matrix is pumice and zeolite matrix with a fructose level of 48.867%, glucose content of 37.724%, pH 8.575, and a sweetness level of 61.233°Brix. While the results on the determination of the frequency of use of an effective immobilized enzyme can be used until the fourth usage with a fructose level of 42.99%, glucose level of 42.618%, pH 8.409, and a sweetness level of 58.944°Brix.

Keywords: *Frequency of use, fructose syrup, immobilization, isomerization, type of matrix.*

PERSANTUNAN

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat, penyertaan dan kasih-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil yang Efektif pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem Batch”**. Penyertaan-Nya, khususnya selama penulis menempuh Pendidikan Strata 1, merupakan sebuah kasih karunia yang luar biasa bagi penulis. Skripsi ini juga termasuk tugas akhir yang menjadi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana (S1) pada program studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.

Perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, **Ayahanda Yohanes Sunarto** dan **Ibunda Eng Djawadomo** yang telah merawat dan membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang dan senantiasa memberi dukungan doa, moril, tenaga, waktu, dan materi sehingga penulis dapat mencapai keberhasilan dan kesuksesan. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada kedua saudara penulis, **Samuel Evan Sunarto** dan **Jonathan Hans Sunarto** yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, motivasi dan doa kepada penulis.

Dalam proses penyelesaian skripsi ini, penulis juga berterima kasih sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS** selaku pembimbing pertama dan **Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si** selaku pembimbing kedua yang banyak membantu selama penulis mengerjakan tugas akhir dengan memberi bimbingan saran, masukan dan solusi juga dukungan dengan penuh kesabaran dan tanpa lelah dalam membimbing penulis. Terima kasih juga kepada dosen penguji **Dr. Muhammad Asfar, S.TP., M.Si** dan **Prof. Dr. Ir. Jumriah Langkong, MS** yang telah meluangkan waktunya dan memberikan ilmu serta saran sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik lagi.

Selain itu, pada kesempatan ini izinkan penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada semua pihak yang turut membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini, antara lain:

1. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, M.A** selaku Rektor Universitas Hasanuddin dan segenap jajaran Wakil Rektor Universitas Hasanuddin, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk memperoleh ilmu dan pengalaman serta menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana di Universitas Hasanuddin, Makassar.
2. **Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta** selaku Ketua Departemen Teknologi Pertanian, **Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si** selaku Ketua Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan serta Seluruh Dosen dan Staf Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, terkhusus ibu **Ir. Hj. Andi Nurhayati** yang telah membekali penulis ilmu pengetahuan serta wawasan yang luas. Semua pengetahuan yang telah diberikan sangatlah berharga dan berguna bagi masa depan penulis. Semoga Tuhan selalu melindungi Bapak Ibu sekalian dan memberikan rahmat kesehatan yang berlimpah.
3. Teman akrab penulis selama berproses di bangku perkuliahan yaitu teman-teman Tadika terkhusus **Erlinda, Iin, Widi, Lulu, dan Septhree**, terima kasih atas bantuan yang tidak terhingga selama ini serta terima kasih selalu menjadi pengingat dan penyemangat dikala lelahnya penulis menjalani dunia perkuliahan.
4. Teman seperjuangan penulis selama masa penelitian, **Mila** dan **Yuyun** terima kasih telah membantu penulis melewati segala cobaan dari awal penelitian hingga selesainya.

5. Teman angkatan penulis Gear 17 terkhusus Bunsen 17, terutama **Lisa, Indapus, Ratnah, Mutia, Shifa, Dindel, Lusi, Monivia, Nurul Indah** dan **Eni** terima kasih atas bantuan selama proses penelitian penulis.
6. Kakak senior prodi ilmu dan teknologi pangan, terutama **Kak Rixon, Kak Laras, Kak Darmawan** dan **Kak Upi**, terimakasih atas segala bantuan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
7. Keluarga Apostolos, terkhusus **Chua, Lindar, Ajigo**, dan **Stefany** atas segala dukungan, doa, motivasi, dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
8. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungannya dalam menyelesaikan skripsi ini semoga kita semua diberikan kesehatan yang berlimpah dari Yang Maha Kuasa sehingga kita dapat sukses kedepannya.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa penyusunan tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari para pembaca. Penulis memohon maaf jika terdapat kesalahan dalam penyusunan tugas akhir ini. Harapan penulis tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi setiap orang yang membacanya, Amin.

Penulis

RIWAYAT HIDUP



Johana Ivana Sunarto lahir di Bandar Lampung pada tanggal 16 Juni 1999 dan merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara. Putri dari pasangan Bapak Yohanes Sunarto dan Ibu Eng Djawadomo. Pendidikan formal yang telah dijalani adalah :

1. Sekolah Dasar Katolik Mamajang I
2. Sekolah Menengah Pertama Katolik Rajawali
3. Sekolah Menengah Atas Katolik Rajawali

Pada tahun 2017, penulis diterima di Universitas Hasanuddin melalui Jalur SBMPTN dan tercatat sebagai Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Selama menempuh pendidikan di jenjang S1, penulis pernah menjadi asisten laboratorium untuk praktikum Aplikasi Teknologi Hasil Nabati pada tahun 2021. Selain itu, penulis pernah menerima pendanaan pada PIMNAS 2020. Penulis juga pernah mengikuti kegiatan magang di instansi pemerintahan di Indonesia yaitu Badan Pengawas Obat dan Makanan khususnya di daerah Makassar, Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Makassar pada Laboratorium Pengujian Pangan dan Bahan Berbahaya.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR).....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
PERSANTUNAN	vii
RIWAYAT HIDUP	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Dekstrosa Monohidrat/Glukosa Kristal.....	3
2.2 Sirup Glukosa.....	3
2.3 Sirup Fruktosa	3
2.4 Produksi Sirup fruktosa Secara Enzimatis	4
2.5 Enzim Glukosaisomerase	5
2.6 Imobilisasi Enzim	6
2.7 Imobilisasi Enzim Metode Adsorpsi Fisik (<i>carrier binding</i>).....	6
2.8 Matriks Batu Apung	7
2.9 Matriks Zeolit.....	7
3. METODE	9
3.1 Waktu dan Tempat	9
3.2 Alat dan Bahan	9
3.3 Prosedur Penelitian	9
3.3.1 Penyiapan Enzim Terimobil pada Matriks Batu Apung dan Zeolit	9
3.3.2 Produksi Sirup Fruktosa secara Enzimatis	10

3.4	Desain Penelitian.....	11
3.5	Parameter Pengamatan	11
3.5.1	Analisis Gula Pereduksi (D-Glukosa) Metode DNS (Rismawati <i>et al.</i> , 2016).	11
3.5.2	Analisis Kadar Fruktosa (Ruswandi <i>et al.</i> , 2018).....	11
3.5.3	Analisis Tingkat Kemanisan Sirup Fruktosa Metode Brix (Putri, 2016)	12
3.5.4	Pengujian Nilai Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005 dalam Ulfa, 2018)	12
3.6	Pengolahan Data.....	12
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	13
4.1	Kadar Fruktosa	13
4.2	Kadar Glukosa.....	15
4.3	Tingkat Kemanisan (°Brix).....	18
4.4	Derajat Keasaman (pH).....	19
5.	KESIMPULAN	21
5.1	Kesimpulan	21
5.2	Saran.....	21
	DAFTAR PUSTAKA	22
	LAMPIRAN.....	25

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Syarat Mutu Sirup Fruktosa Berdasarkan SNI 01-2985-1992.....	4
Tabel 2. Sifat Kimia Batu Apung	7
Tabel 3. Komposisi Kimia Zeolit.....	8

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses Isomerisasi D-Glukosa Menjadi D-Fruktosa dengan Enzim Glukosaisomerase	5
Gambar 2. Diagram Alir Penyiapan Enzim Terimobil pada Matriks Batu Apung dan Zeolit	10
Gambar 3. Diagram Alir Produksi Sirup Fruktosa secara Enzimatis	10
Gambar 4. Hubungan Jenis Matriks terhadap Kadar Fruktosa (%) Sirup Fruktosa	13
Gambar 5. Hubungan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil terhadap Kadar Fruktosa (%) Sirup Fruktosa.....	14
Gambar 6. Hubungan Jenis Matriks terhadap Kadar Glukosa (%) Sirup Fruktosa	16
Gambar 7. Hubungan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil terhadap Kadar Glukosa (%) Sirup Fruktosa.....	17
Gambar 8. Hubungan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil terhadap Tingkat Kemanisan (°Brix) Sirup Fruktosa	19
Gambar 9. Hubungan Interaksi Jenis Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil terhadap Nilai pH Sirup Fruktosa	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kurva Standar Analisa Kadar Fruktosa dan Kadar Glukosa.....	25
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Kadar Fruktosa (%) pada Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem <i>Batch</i>	26
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa (%) pada Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem <i>Batch</i>	28
Lampiran 4. Hasil Analisa Tingkat Kemanisan (°Brix) pada Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem <i>Batch</i>	30
Lampiran 5. Hasil Pengujian Nilai Derajat Keasaman (pH) pada Penentuan Matriks dan Jumlah Pemakaian Enzim Imobil pada Produksi Sirup Fruktosa Sistem <i>Batch</i> .	32
Lampiran 6. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	33

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Setiap hari masyarakat tidak dapat terlepas dari mengonsumsi gula. Gula merupakan salah satu kebutuhan masyarakat yang digunakan mulai dari kalangan rumah tangga hingga industri pangan. Hampir semua makanan maupun minuman yang dikonsumsi mengandung gula walau dengan takaran yang berbeda-beda. Kebutuhan gula sebagai bahan pemanis saat ini terus meningkat. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) pada tahun 2019 konsumsi gula nasional mencapai 6,9 juta ton, yang terdiri dari 3,2 juta ton untuk konsumsi langsung masyarakat dan 3,7 juta ton untuk kebutuhan industri.

Upaya untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dapat melalui alternatif penggunaan pemanis yang bersumber dari non tebu seperti gula cair atau sirup gula. Sirup gula dapat digunakan pada berbagai macam produk pangan, seperti biskuit, es krim, permen, minuman ringan (*soft drink*), jamu, campuran madu, dan sebagainya (Contesini *et al.*, 2013). Salah satu gula cair yang dapat dimanfaatkan adalah sirup fruktosa. Sirup fruktosa memiliki tingkat kemanisan yang tertinggi jika dibandingkan dengan jenis pemanis alami lainnya (sukrosa, maltosa, laktosa, xylitol, galaktosa, dan glukosa). Fruktosa juga memiliki indeks glikemik lebih rendah (32 ± 2) dibanding glukosa (138 ± 4) (Mahyati dan Pasanda, 2016). Sirup fruktosa dapat dibuat dari berbagai jenis tanaman yang memiliki kadar pati yang tinggi seperti sagu, jagung, beras, singkong dan sebagainya (Nuritasari, 2016). Fruktosa juga dapat dibuat dari karbohidrat seperti dekstrosa/glukosa. Glukosa dicairkan dan diencerkan terlebih dahulu menjadi substrat dengan konsentrasi 95%. Kemudian sirup glukosa 95% diisomerisasi dengan enzim glukosaisomerase sehingga menghasilkan sirup fruktosa.

Proses produksi sirup fruktosa secara enzimatik memerlukan biaya yang cukup mahal, dikarenakan dari harga enzim serta penggunaan enzim yang hanya satu kali pada umumnya sehingga kurang efisien. Hal yang dapat dilakukan untuk mengefisiensikannya adalah dengan menggunakan enzim yang terimobilisasi sehingga dapat digunakan secara berkelanjutan atau berulang. Imobilisasi enzim dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu adsorpsi fisik pada padatan pendukung (*carrier binding*), taut silang (*cross linking*) dan penjebakan (*entrapment*). Metode imobilisasi enzim yang sederhana dan ekonomis adalah metode adsorpsi fisik pada suatu padatan pendukung atau matriks (*carrier binding*) (Ngin *et al.*, 2021). Faktor yang perlu dimiliki oleh suatu matriks adalah area permukaan yang luas, dapat ditembus, dapat diregenerasi, tidak dapat larut, memiliki stabilitas kimia, termal, dan mekanik, mempunyai bentuk dan ukuran pori yang sesuai, serta memiliki permeabilitas baik.

Matriks enzim yang dapat digunakan seperti batu apung yang memiliki banyak pori-pori pada permukaannya dan zeolit yang memiliki struktur pori tiga dimensi yang terbentuk oleh tetrahedral SiO_2 dan Al_2O_3 yang memiliki kemampuan menyerap dan menukar ion. Matriks batu apung memiliki massa jenis yang kecil menyebabkan batu apung terapung, sedangkan matriks zeolit memiliki massa jenis yang lebih besar, sehingga zeolit tenggelam. Aktivitas enzim akan maksimum apabila pada proses imobilisasi enzim menggunakan matriks pendukung yang tepat sesuai dengan sifat fisik dan kimia enzim. Hal ini yang mendasari dilakukannya penelitian penentuan matriks dan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif pada produksi sirup fruktosa sistem *batch*.

1.2 Rumusan Masalah

Produksi sirup fruktosa sebagai pengganti pemanis yang bersumber dari non tebu dapat dilakukan secara enzimatis. Namun, pada umumnya enzim hanya dapat digunakan satu kali sehingga kurang efisien. Penggunaan enzim terimobil dalam proses produksi dapat digunakan berkali-kali. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari sirup fruktosa yang diproduksi dengan enzim terimobil, yaitu penggunaan matriks pendukung dan efektifitas enzim terimobil. Oleh karena itu, penentuan matriks dan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif pada produksi sirup fruktosa sistem *batch* harus diteliti.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk memproduksi sirup fruktosa yang efektif dengan enzim terimobil.

Tujuan khusus yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui jenis matriks enzim imobil terbaik dalam produksi sirup fruktosa.
2. Untuk menetapkan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif pada produksi sirup fruktosa.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai jenis matriks dan jumlah pemakaian enzim imobil yang efektif terhadap sirup fruktosa yang dihasilkan. Serta informasi tingkat kemanisan sirup fruktosa, sehingga dapat dijadikan alternatif pengganti pemanis pada makanan ataupun minuman.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dekstrosa Monohidrat/Glukosa Kristal

Dekstrosa monohidrat (DMH) atau dikenal juga dengan glukosa kristal merupakan karbohidrat jenis monosakarida yang memiliki rumus kimia $C_6H_{12}O_6$. Dekstrosa monohidrat dimanfaatkan dalam beberapa industri pangan, seperti sebagai pemanis dan peningkat tekanan osmotik pada minuman, sebagai peningkat rasa manis, aroma dan tekstur pada pembuatan agar, jus buah dan jeli, serta sebagai pemberi rasa manis dan pengendali kristalisasi pada permen. Sedangkan dalam industri farmasi DMH dimanfaatkan dalam pembuatan tablet dan salah satu bahan baku yang digunakan dalam cairan infus, serta sebagai sediaan obat (Suharno, *et al.*, 2020). Selain itu, DMH memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan dasar sirup fruktosa yang dapat digunakan sebagai pengganti gula. DMH dapat dibuat dari berbagai jenis tanaman yang memiliki kadar pati yang tinggi seperti jagung, kentang, sagu, dan singkong. Pati tersebut kemudian dihidrolisis kemudian menghasilkan glukosa cair. Selanjutnya, dilakukan proses pemurnian karbon aktif dan filtrasi, pemurnian *ion exchange*, evaporasi, kristalisasi, sentrifugasi, dan pengeringan pada glukosa cair sehingga dihasilkan DMH (Kartika *et al.*, 2019)

2.2 Sirup Glukosa

Sirup glukosa merupakan salah satu produk pangan yang berfungsi sebagai pemanis yang berbentuk cairan kental, tidak berbau dan tidak berwarna serta memiliki tingkat kemanisan yang lebih rendah dari gula pasir/sukrosa. Sirup glukosa adalah monosakarida yang terdiri atas satu monomer, yaitu glukosa yang terbuat dari proses hidrolisis pati baik secara asam atau enzimatik (α -Amilase dan enzim amiloglukosidase (AMG)) (Rahmawati dan Sutrisno, 2015). Salah satu parameter utama dalam menentukan kualitas mutu dari sirup glukosa adalah DE (*Dextrose equivalent*) yang merupakan perbandingan dari total gula reduksi dalam sirup dengan dekstrosa yang dihitung pada basis kering (Budiarti *et al.*, 2016). Kelebihan dari sirup glukosa adalah tidak mudah mengalami kecoklatan saat pemanasan, stabil pada suhu tinggi, serta resisten terhadap kristalisasi (Mukarramah *et al.*, 2016). Sirup glukosa dapat dimanfaatkan pada produk pangan, industri farmasi, dan industri gula. Sirup glukosa dapat dimanfaatkan pada pembuatan es krim karena dapat meningkatkan kehalusan tekstur serta menekan titik beku. Sirup glukosa juga dapat dimanfaatkan pada industri permen karena dapat memberikan tekstur dan mencegah kerusakan mikrobiologi (Zainab *et al.*, 2011).

2.3 Sirup Fruktosa

Sirup fruktosa atau dikenal juga dengan *High Fructose Syrup* (HFS) merupakan suatu produk pangan berupa sirup gula yang mengandung fruktosa dengan presentase yang tinggi. Berdasarkan SNI 01-2985-1992 sirup fruktosa (Tabel 1) mengandung minimal 42% fruktosa yang dihitung atas dasar bahan kering. Sirup fruktosa memiliki tingkat kemanisan 1,8 kali lebih tinggi dari gula sukrosa atau gula pasir (Qonitah *et al.*, 2016). Tingkat kemanisan sirup fruktosa merupakan yang tertinggi jika dibandingkan dengan jenis pemanis alami lainnya seperti sukrosa, maltosa, laktosa, xylitol, galaktosa, dan glukosa (Nuritasari, 2016).

Tabel 1. Syarat Mutu Sirup Fruktosa Berdasarkan SNI 01-2985-1992

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan 1. Bau 2. Rasa 3. Warna	RBU	tidak berbau manis maks. 35
2	Kekeruhan (nilai absorbansi pada 720nm dari larutan 54 Brix)		maks. 0,02
3	Jumlah padatan	% b/b	70,5-71,5
4	Abu sulfat	% b/b	maks. 0,05
5	Fruktosa	% (adbk)	min. 42
6	pH (tanpa pengenceran)		3,5-4,5
7	Cemaran logam 1. Timbal (Pb) 2. Tembaga (Cu) 3. Arsen (As)	mg/kg mg/kg mg/kg	maks. 0,5 maks. 2,0 maks. 1,0
8	Cemaran mikroba 1. Angka lempeng total 2. Coliform 3. E. coli 4. Kapang 5. Khamir	koloni/g APM/g APM/g koloni/g koloni/g	maks. $5,0 \times 10^2$ maks. 20 < 3 maks. 50 maks. 50

Sumber: SNI 01-2985-1992.

Sirup fruktosa dapat dimanfaatkan terutama bagi industri pangan karena memberikan resiko lebih rendah bagi kesehatan khususnya bagi penderita diabetes (Gaily *et al.*, 2013). Industri pangan yang banyak menggunakan sirup fruktosa adalah industri minuman, makanan olahan, sereal, dan *baked goods*. Beberapa olahan pangan yang memanfaatkan sirup fruktosa sebagai pemanis adalah minuman ringan (*soft drink*), es krim, *frozen desserts*, *cookies*, *corn flakes*, jus, permen, selai, hingga minuman olahraga (Dai *et al.*, 2020). Sirup fruktosa dapat diproduksi dari berbagai bahan pangan dengan kandungan pati yang tinggi sehingga memiliki biaya produksi yang relatif lebih rendah sehingga memberikan keuntungan yang lebih. Sirup fruktosa juga mempunyai kemampuan untuk tetap dalam keadaan larutan dan tidak mengkristal dan memberikan cita rasa manis alami. Tekstur sirup fruktosa yang cair memberikan kemudahan untuk diaplikasikan pada makanan maupun minuman (Qonitah *et al.*, 2016).

2.4 Produksi Sirup fruktosa Secara Enzimatis

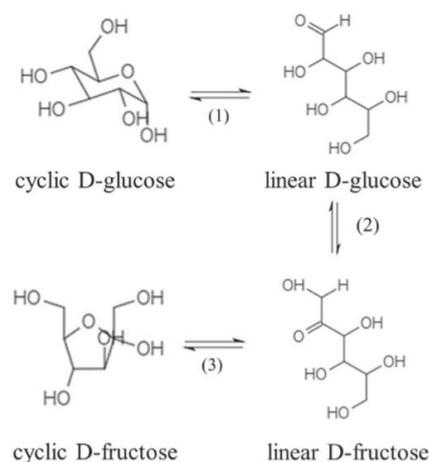
Sirup fruktosa diproduksi secara enzimatis dari berbagai jenis bahan pangan dengan kandungan pati yang tinggi seperti umbi-umbian dan sereal. Terdapat dua tahapan utama dalam memproduksi sirup fruktosa, yaitu merubah pati menjadi glukosa melalui proses hidrolisis dengan dua tahapan yaitu likuifikasi dan sakarifikasi, kemudian tahapan kedua adalah merubah glukosa menjadi fruktosa melalui proses isomerisasi. Likuifikasi merupakan proses hidrolisa pati menjadi dekstrin (oligosakarida, disakarida, dan monosakarida) dengan bantuan enzim α -amilase. Sedangkan proses sakarifikasi menggunakan enzim amiloglukosidase (AMG) yang merubah dekstrin menjadi glukosa. Proses terakhir yaitu, isomerisasi menggunakan enzim glukosaisomerase yang merubah glukosa menjadi fruktosa (Permanasari *et al.*, 2019).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi produksi sirup fruktosa secara enzimatik, seperti kondisi pH, suhu, kofaktor, waktu kontak, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat dan sebagainya. Setiap enzim memiliki pH dan suhu optimum yang berbeda-beda yang dapat mempengaruhi aktivitas dan stabilitas dari enzim tersebut (Rengasamy *et al.*, 2020). Aktivitas enzim glukoisomerase optimum pada pH 7,8-8,3 dan pada pH 7-8 glukoisomerase memiliki stabilitas tertingginya. Suhu optimum pada proses isomerisasi adalah 60°C. Suhu isomerisasi yang semakin tinggi akan meningkatkan aktivitas enzim, namun stabilitas enzim menjadi menurun serta dapat meningkatkan pembentukan warna (Amaral-Fonseca *et al.*, 2020)

Penambahan kofaktor yang sesuai akan meningkatkan aktivitas enzim karena kofaktor berfungsi untuk mengaktifkan sisi aktif enzim agar dapat bekerja optimal. Mg^{2+} , Mn^{2+} , atau CO^{2+} merupakan kofaktor yang baik untuk enzim glukosaisomerase (Yamoto *et al.*, 2018). Waktu kontak atau lama reaksi antara enzim dan substrat akan menentukan efektifitas dari kerja enzim. Konsentrasi enzim dapat mempengaruhi kecepatan reaksi dan produk yang dihasilkan. Konsentrasi substrat yang meningkat akan mempercepat reaksi, namun hanya sampai batas konsentrasi tertentu dan tidak akan terjadi peningkatan kecepatan reaksi lagi sesuai dengan kinetika Michaleis-Menten mengenai kompleks enzim-substrat (Mahreni dan Sulistyowati, 2004).

2.5 Enzim Glukosaisomerase

Enzim glukosaisomerase adalah enzim isomerisasi yang memiliki peran dalam interkonversi oksidoreduktase pada intramolekul aldosa dan ketosa. Aktivitas enzim glukosa isomerase mengkatalis reaksi isomerisasi yang dapat mengkonversi D-glukosa menjadi isomernya, yaitu D-fruktosa (Gambar 1). Reaksi isomerisasi ini bersifat reversible atau berlangsung dalam dua arah (bolak-balik), yaitu fruktosa yang dihasilkan dapat kembali membentuk glukosa (Yulistiani *et al.*, 2019). Proses isomerisasi diawali dengan protonasi C2-OH dan pembentukan intermediet furanosa aldehida. Fruktosa terbentuk dari transfer hibrida dari C2 ke C1 pada cabang furanosa aldehida yang diikuti dengan rehidrasi karbon C2 (Gaily *et al.*, 2013). Selain mengubah glukosa atau gula pentose menjadi fruktosa, enzim glukosa isomerase juga dapat bekerja pada berbagai macam substrat gula heksosa seperti D-ribosa, L-arabinosa, L-rhamnosa, dan D-allosa (Susanti dan Fibriana, 2017).



Gambar 1. Proses Isomerisasi D-Glukosa Menjadi D-Fruktosa dengan Enzim Glukosaisomerase. Sumber: Yamoto *et al.*, 2018

Produktivitas dan stabilitas enzim glukosaisomerase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Oleh karena itu, diperlukan kondisi yang optimum selama penggunaannya. Kondisi optimum dari enzim glukosa isomerase adalah pada suhu 60°C, pH 7,8-8,3, waktu kontak sekitar 1-2 jam, adanya penambahan aktivator ion magnesium sebanyak 1×10^{-3} sampai 5×10^{-3} mol/L serta konsentrasi substrat berkisar 90–95% (Mahreni dan Sulistyowati, 2004).

2.6 Imobilisasi Enzim

Enzim merupakan biokatalis yang secara umum memiliki sifat stabil terhadap lingkungan. Secara teknis, enzim yang masih aktif dari campuran reaksi sulit untuk diperoleh kembali, sehingga tidak dapat digunakan lagi. Dengan demikian maka diperlukan peningkatan stabilitas terhadap enzim sebagai biokatalis. Peningkatan stabilitas enzim dapat dilakukan dengan memodifikasi enzim dengan cara imobilisasi (Djalal, 2014).

Imobilisasi enzim adalah suatu metode mengikat enzim secara kimia atau menahan secara fisik dalam suatu ruang pada matriks yang tidak dapat larut. Imobilisasi enzim dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu penjebakan (*entrapment*), ikatan dengan bahan pendukung (*carrier binding*), dan ikatan silang (*cross-linking*) (Haryati *et al.*, 2019). Metode *carrier binding* terbagi menjadi tiga, yaitu metode adsorpsi fisik, metode ikatan ion, dan metode ikatan kovalen. Pada umumnya imobilisasi enzim dilakukan dengan tujuan tertentu, seperti untuk memudahkan dalam memperoleh enzim yang dapat dipisahkan dari produk sehingga dapat digunakan kembali pada reaksi lainnya serta mampu menghasilkan produksi yang berkelanjutan/kontinyu dan terkontrol dengan baik (Susanti dan Fibriana, 2017). Selain itu, imobilisasi enzim juga bertujuan untuk mengontrol proses produksi, mengurangi biaya produksi, kestabilan enzim yang lebih baik dan proses yang lebih efisien serta enzim imobil lebih tahan terhadap panas (Chandra *et al.*, 2020).

2.7 Imobilisasi Enzim Metode Adsorpsi Fisik (*carrier binding*)

Imobilisasi enzim metode adsorpsi fisik (*carrier binding*) didasari oleh adsorpsi fisika dari protein enzim pada permukaan pembawa yang tidak larut dalam air. Metode ini merupakan metode imobilisasi enzim yang sederhana serta ekonomis (Ngin *et al.*, 2021). Keuntungan dari metode ini adalah aktivitas enzim yang tinggi karena kondisinya yang lunak dan memiliki tahapan aktivasi yang sederhana. Selain itu, metode ini juga tidak memungkinkan untuk terjadinya perubahan konformasi struktur enzim karena tidak membentuk ikatan silang (Firdaus *et al.*, 2017). Salman (2013) juga menyatakan bahwa pada metode adsorpsi fisik enzim dapat kembali kekeadaan aslinya karena bersifat *reversible*. Berdasarkan hasil penelitian Khadijah (2014), penggunaan enzim imobil metode adsorpsi fisik dapat menghasilkan sirup glukosa dengan nilai gula pereduksi 146,42g/L dengan tingkat kemanisan 35°Brix.

Metode adsorpsi fisik memiliki kelemahan karena bukan suatu reaksi kimia melainkan ikatan fisik yang lemah sehingga kerusakan enzim dapat terjadi. Hal tersebut dipengaruhi oleh perubahan suhu, perubahan pH, kekuatan ionik, adanya penambahan substrat secara terus-menerus, dan perubahan konsentrasi substrat, sehingga diperlukan kondisi konstan selama proses produksi (Contesini *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Djalal, 2014 mengenai produksi sirup glukosa sistem *batch* dengan enzim terimobil pada batu apung, enzim imobil efektif sampai penggunaan kelima.

Beberapa contoh *carrier* atau matriks yang dapat digunakan pada imobilisasi enzim metode adsorpsi fisik adalah zeolit, batu apung, silika gel, karbon aktif, pati, tanah liat, alumina, bentonite, hidroksil apatit, kaolinit, dan butil sefarosa. Menurut Haryati *et al.* (2019), faktor yang perlu diperhatikan pada karakteristik matriks imobilisasi enzim yang tepat adalah luas permukaan yang besar, bersifat *inert*, tidak larut dalam air, permeabilitas baik, stabil secara kimiawi, termal dan mekanik, memiliki bentuk dan ukuran yang sesuai, memiliki kekakuan yang tinggi (*rigid*), dan dapat diregenerasi.

2.8 Matriks Batu Apung

Batu apung merupakan jenis batuan beku berpori yang berasal dari alam yang terbentuk dari hasil letusan eksplosif gunung berapi lalu mengalami proses pendinginan dan pengendapan secara alami di dalam lapisan tanah. Batu apung mengandung buih yang terbuat dari gelembung ber dinding gelas, sehingga batu apung juga dikenal sebagai batuan gelas vulkanik silikat. Batu apung mengandung: SiO₂, K₂O, MgO, CaO, Al₂O₃, SO₃, Fe₂O₃, Na₂O, TiO₂ dan Cl. Kandungan yang dominan pada batu apung adalah silika (SiO₂) yaitu sekitar 65,88% (Trianasari *et al.*, 2017). Silika memiliki keunggulan bersifat inert, hidrofobik, dan transparan. Komposisi kimia dari batu apung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat Kimia Batu Apung

Komposisi	Kadar (%)
SiO ₂	70,97
Al ₂ O ₃	14,24
Fe ₂ O ₃	1,88
Na ₂ O	4,46
K ₂ O	4,02
MgO	0,35
CaO	1,37
TiO ₂	0,14
MnO	0,14
Loss On Ignition (LOI)	2,41

Sumber: Ismail *et al.*, 2014.

Batu apung memiliki sifat fisik, yaitu peresapan air (*water absorbsion*) 16,67%, berat jenis 0,8 g/cm³, hantaran suara (*sound transmission*) rendah, rasio kuat tekanan terhadap beban tinggi, konduktifitas panas rendah, ketahanan terhadap api sampai 6 jam dan rasio kuat tekan terhadap beban cukup tinggi (Salman, 2013). Batu apung memiliki banyak pori-pori atau multi rongga pada permukaannya, sehingga memberikan peluang bagi enzim untuk melakukan aktivitas katalitiknya dipermukaan batu apung serta memiliki densitas yang kecil (<1 g/cm³) (Masita, 2017).

2.9 Matriks Zeolit

Zeolit merupakan mineral yang terdiri atas kristal alumino silikat terhidrasi berpori yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensi yang terbentuk oleh tetrahedral SiO₂ dan Al₂O₃ dengan setiap atom oksigen berada pada keempat sudutnya (Król, 2020). Zeolit memiliki tiga komponen utama, yaitu alumino silikat, kation yang dapat

dipertukarkan dan air. Komposisi kimia dari zeolit dapat dilihat pada Tabel 3. Jumlah air yang terkandung dalam zeolit sesuai dengan volume pori atau banyaknya pori pada zeolit tersebut, karena air merupakan molekul polar yang sangat mudah teradsorpsi di permukaan zeolit dan mengisi rongga-rongga dalam kristal zeolit. Air yang terkandung dapat dilepas melalui proses pemanasan pada suhu 300-400°C. Proses pemanasan atau dehidrasi selain berfungsi untuk melepas air juga berfungsi untuk membuka struktur pori zeolit dan memperluas luas permukaan internal sehingga mampu mengadsorpsi sejumlah besar substansi selain air, serta mampu memisahkan molekul zat berdasarkan kepolaran dan ukuran molekulnya (Djalal, 2014). Kation pada zeolit dapat dipertukarkan dengan kation ataupun molekul lain tanpa merusak struktur zeolit. Molekul lain tersebut dapat bergerak bebas, sehingga menjadikan zeolit salah satu matriks pendukung dalam imobilisasi enzim (Pabi's-Mazgaj *et al.*, 2021).

Tabel 3. Komposisi Kimia Zeolit

Komposisi	Kadar (%)
SiO ₂	75,04-63,36
Al ₂ O ₃	13,59-10,17
Fe ₂ O ₃	2,77-0,90
K ₂ O	4,86-1,06
Na ₂ O	3,30-0,66
MgO	1,29-0,27
CaO	4,26-1,33
TiO ₂	0,39-0,13
Loss On Ignition (LOI)	14,70-9,67

Sumber: Pabi's-Mazgaj *et al.*, 2021.

Zeolit memiliki kapasitas yang tinggi sebagai adsorben. Adsorpsi yang dapat terjadi pada zeolit adalah adsorpsi fisik, adsorpsi kimia, ikatan hydrogen serta pembentukan kompleks koordinasi. Daya serap dari zeolit bergantung dari jumlah pori serta luas permukaan zeolit. Zeolit juga memiliki kemampuan untuk menukar ion. Ion-ion pada rongga zeolit berfungsi untuk menjaga kenetralan zeolit. Ion-ion ini dapat bergerak bebas sehingga pertukaran ion yang terjadi tergantung dari ukuran dan muatan maupun jenis zeolitnya (Król, 2020).