

**PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT SAGU, ENZIM  
AMILOGLUKOSIDASE, DAN LAMA SAKARIFIKASI TERHADAP MUTU  
SIRUP GLUKOSA**

**THE EFFECT OF SAGO SUBSTRATE CONCENTRATION,  
AMYLOGLUCOSIDASE ENZYME, AND SACCHARIFICATION TIME ON  
THE QUALITY OF GLUCOSE SYRUP**



**MIFTAHUDDIN**

**G032212009**



**PROGRAM MAGISTER ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**TESIS**

**PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT SAGU, ENZIM  
AMILOGLUKOSIDASE, DAN LAMA SAKARIFIKASI TERHADAP MUTU  
SIRUP GLUKOSA**

**THE EFFECT OF SAGO SUBSTRATE CONCENTRATION,  
AMYLOGLUCOSIDASE ENZYME, AND SACCHARIFICATION TIME ON THE  
QUALITY OF GLUCOSE SYRUP**

**MIFTAHUDDIN  
G032212009**



**PROGRAM MAGISTER ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT SAGU, ENZIM AMILOGLUKOSIDASE,  
DAN LAMA SAKARIFIKASI TERHADAP MUTU SIRUP GLUKOSA**

**Tesis**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Pangan

Disusun dan diajukan oleh

**MIFTAHUDDIN  
G032212009**

Kepada

**PROGRAM MAGISTER ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

## TESIS

**PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT SAGU, ENZIM  
AMILOGLUKOSIDASE, DAN LAMA SAKARIFIKASI TERHADAP MUTU  
SIRUP GLUKOSA****MIFTAHUDDIN  
G032212009**

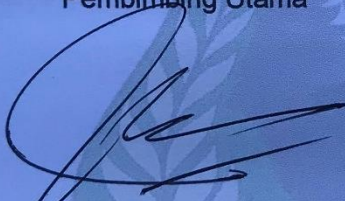
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada 05 Agustus 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Pangan  
Fakultas Pertanian  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

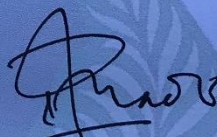
Mengesahkan

Pembimbing Utama



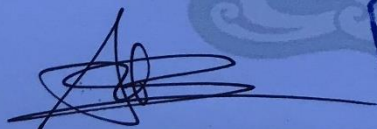
**Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS**  
Nip. 19621231 198803 1 020

Pembimbing Pendamping

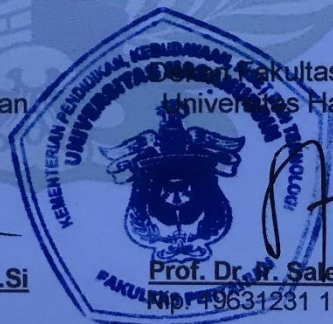


**Dr. Februadi Bastian, STP., M.Si**  
Nip. 19820205 200604 1 002

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu dan Teknologi Pangan



**Dr. Adiansyah Syarifuddin, STP., M.Si**  
Nip. 19770527 200312 1 001



Ketua Program Studi  
Magister Ilmu dan Teknologi Pangan  
Fakultas Pertanian  
Universitas Hasanuddin

**Prof. Dr. R. Salengke, M.Sc**  
Nip. 19631231 198811 1 005


## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "**Pengaruh Konsentrasi Substrat Sagu, Enzim Amiloglukosidase, dan Lama Sakarifikasi Terhadap Mutu Sirup Glukosa**" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 05 Agustus 2024



  
Miftahuddin  
NIM. G032212009

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur hanyalah kepada Allah, Tuhan semesta alam. Jika tiada setetes ilmu yang diturunkanNya, maka tidaklah mungkin manusia dapat mengetahui kompleksnya hukum jagat raya. Sholawat dan senandung harap tidak pula penulis berhenti lafadzkan kepada Rasul-rasulNya. Merekalah sang ilmuwan sejati yang menuntun tersibaknya isi langit dan bumi. Tesis berjudul “**Pengaruh Konsentrasi Substrat Sagu, Enzim, Amiloglukosidase, dan Lama Sakarifikasi Terhadap Mutu Sirup Glukosa**” dibuat sebagai salah satu diantara syarat guna meraih gelar Magister Teknologi Pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa terlaksananya penyusunan tesis ini berkat adanya kerja sama, bimbingan, serta bantuan dari banyak pihak. Ucapan terima kasih dan penghormatan setinggi-tingginya kepada ayahanda tercinta **Makmur** atas segala dukungan dan perhatian yang sangat bermakna bagi penulis. Doa dan tanda cinta untuk ibunda terkasih **Maryani Zainuddin**, dia yang meskipun telah tiada namun ide, gagasan, dan kasih sayangnya akan abadi dalam benak serta relung hati penulis. Melalui tulisan ini juga, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada pihak-pihak yang secara langsung maupun tidak langsung membantu penulis dalam proses penyelesaian thesis ini, terutama kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Salengke, M.Sc., selaku dekan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin beserta Staff dosen dan Tenaga Kependidikan yang telah memberikan kesempatan dan membantu penulis untuk menyelesaikan Pendidikan di Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin
2. Bapak Dr. Suhardi, S.TP. M.P., selaku Ketua Departemen Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS., selaku Pembimbing I yang penuh dedikasi dan perhatian telah memberikan arahan dan saran yang konstruktif selama penyelesaian tesis ini. Terlebih lagi beliau merupakan orang tua ke dua bagi penulis di kampus Universitas Hasanuddin
4. Bapak Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si., selaku Pembimbing II yang telah memberikan *insight* baru selama penulis berkuliah di Universitas Hasanuddin
5. Bapak Dr. Adiansyah Syarifuddin, S.TP., M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi Pangan yang telah banyak memberikan bantuan administrasi, informasi, dan juga kemudahan selama penulis menyelesaikan pendidikan di Universitas Hasanuddin
6. Sahabat seperjuangan penulis, Abdi, Aidil, Reza, Dodi, Nurul, Indah, Rani, Mentari, Rixon, dan Kak Darmawan yang bersama telah mengukir bab demi bab kisah perjuangan dalam proses formal maupun non formal penyelesaian studi di Universitas Hasanuddin.

Makassar, 22 Juli 2024



Miftahuddin

## ABSTRAK

Miftahuddin. “**Pengaruh Konsentrasi Substrat Sagu, Enzim Amiloglukosidase, dan Lama Sakarifikasi Terhadap Mutu Sirup Glukosa**” (dibimbing oleh Amran Laga dan Februadi Bastian).

**Latar Belakang.** Sirup glukosa merupakan cairan yang memiliki komponen molekul glukosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) dan diperoleh dari hasil hidrolisis pati baik secara kimiawi maupun enzimatik. Proses produksi sirup glukosa melewati tahapan gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Proses sakarifikasi memainkan peranan penting untuk menghasilkan komponen utama glukosa dari pati sagu. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi pati sagu, pengaruh lama sakarifikasi, dan pengaruh konsentrasi enzim amiloglukosidase dalam produksi sirup glukosa. **Metode.** Penelitian ini terdiri dari dua tahap yang terdiri dari tahap I menggunakan dua faktor yaitu faktor S berupa konsentrasi substrat (15%, 20%, 25%, dan 30%) dan faktor T berupa lama sakarifikasi (0 jam, 6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam, 48 jam, 54 jam, 60 jam, 66 jam, dan 72 jam) dan tahap II dengan menggunakan dua faktor yaitu faktor S berupa konsentrasi substrat (15%, 20%, 25%, dan 30%) dan faktor E berupa konsentrasi enzim amiloglukosidase (208 U/kg, 260 U/kg, dan 312 U/kg). Tiap tahap dilakukan pengulangan sebanyak dua kali menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. **Hasil.** Penelitian tahap I memperlihatkan perlakuan konsentrasi substrat, lama sakarifikasi, dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap kadar gula pereduksi, dekstrosa ekuivalen, dan total padatan terlarut. Penggunaan konsentrasi substrat 15% menghasilkan nilai gula pereduksi sebesar 80,96 g/L, dekstrosa ekuivalen 53,98%, dan total padatan terlarut 15,47°brix. Penggunaan konsentrasi substrat 20% menghasilkan nilai gula pereduksi sebesar 85,65 g/L, dekstrosa ekuivalen 42,83%, dan Total padatan terlarut 20,15 °brix. Penggunaan konsentrasi substrat 25% menghasilkan nilai gula pereduksi sebesar 101,47 g/L, dekstrosa ekuivalen 40,58%, dan total padatan terlarut 24,35 °brix. Penggunaan konsentrasi substrat 30% menghasilkan nilai gula pereduksi sebesar 122,34 g/L, dekstrosa ekuivalen 40,77%, dan Total padatan terlarut 29,04 °brix. Penelitian tahap II memperlihatkan perlakuan konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap kadar gula pereduksi, dekstrosa ekuivalen, dan Total padatan terlarut. Penggunaan konsentrasi enzim amiloglukosidase sebesar 208 U/kg menghasilkan sirup glukosa dengan nilai gula pereduksi sebesar 101,21 g/L, dekstrosa ekuivalen 46,90%, dan total padatan terlarut 22,40 °brix. Penggunaan konsentrasi enzim sebesar 260 U/kg menghasilkan sirup glukosa dengan nilai gula pereduksi sebesar 128,67 g/L, dekstrosa ekuivalen 58,37%, dan Total padatan terlarut 23,54 °brix. Penggunaan konsentrasi enzim sebesar 312 U/kg menghasilkan sirup glukosa dengan nilai gula pereduksi sebesar 130,63 g/L, dekstrosa ekuivalen 59,28%, dan total padatan terlarut 24,15 °brix. Berdasarkan parameter nilai dekstrosa ekuivalen pada penelitian tahap 1 dan 2, sirup glukosa pati sagu dapat diproduksi menggunakan konsentrasi substrat 15%, konsentrasi amiloglukosidase 260 U/kg, dan lama sakarifikasi 48 jam.

Kata kunci : amiloglukosidase, pati sagu, sakarifikasi, sirup glukosa

## ABSTRACT

Miftahuddin. “**The Effect of Sago Substrate Concentration, Amyloglucosidase enzyme, and Saccharification Time on The Quality of Glucose Syrup**” (supervised by Amran Laga and Februadi Bastian).

**Background.** Glucose syrup is a liquid with a molecular component of glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) and is obtained from the hydrolysis of starch either chemically or enzymatically. The glucose syrup production process goes through gelatinization, liquefaction, and saccharification. The saccharification process plays an important role in producing the main component of glucose from sago starch. **Aim.** The research aims to analyze the effect of sago starch concentration, the effect of saccharification time, and the effect of amyloglucosidase enzyme concentration in glucose syrup production. **Methods.** This research consists of two stages. Stage 1 using two factors, which are factor S in the form of substrate concentration (15%, 20%, 25%, and 30%) and factor T in the form of saccharification time (0 hours, 6 hours, 12 hours, 18 hours, 24 hours, 30 hours, 36 hours, 42 hours, 48 hours, 54 hours, 60 hours, 66 hours, and 72 hours). Stage 2 using two factors, which are factor S in the form of substrate concentration (15%, 20%, 25%, and 30%) and factor E in the form of amyloglucosidase enzyme concentration (208 U/kg, 260 U/kg, and 312 U/kg). Each stage was repeated twice using a factorial complete randomized design (CRD). **Results.** Stage 1 research showed that the treatment of substrate concentration, saccharification time, and their interaction significantly affected reducing sugar, dextrose equivalent, and total dissolve solid. The use of 15% substrate concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 80.96 g/L, dextrose equivalent of 53.98%, and total dissolve solid of 15.47°brix. Using 20% substrate concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 85.65 g/L, dextrose equivalent of 42.83%, and total dissolve solid of 20.15°brix. Using 25% substrate concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 101.47 g/L, dextrose equivalent of 40.58%, and total dissolve solid of 24.35°brix. Using 30% substrate concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 122.34 g/L, dextrose equivalent of 40.77%, and total dissolve solid of 29.04°brix. Stage 2 research showed that the treatment of substrate concentration, enzyme concentration, and the interaction between the two had a significant effect on reducing sugar levels, dextrose equivalents, and total dissolve solid. The use of 208 U/kg amyloglucosidase enzyme concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 101.21 g/L, dextrose equivalent of 46.90%, and total dissolve solid of 22.40°brix. Using 260 U/kg of enzyme concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 128.67 g/L, dextrose equivalent of 58.37%, and total dissolve solid of 23.54. Using 312 U/kg enzyme concentration produced glucose syrup with a reducing sugar of 130.63 g/L, dextrose equivalent of 59.28%, and total dissolve solid of 24.15°brix. Based on the equivalent dextrose value parameters in research stages 1 and 2, sago starch glucose syrup can be produced using substrate concentration of 15%, amyloglucosidase concentration of 260 U/kg, and saccharification time of 48 hours.

Keywords: amyloglucosidase, sago starch, saccharification, glucose syrup



## DAFTAR ISI

### Halaman

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TESIS</b> .....	v
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vi
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>5</b>
2.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	5
2.2. Alat dan Bahan.....	5
2.3. Prosedur Penelitian .....	5
2.4. Desain Penelitian .....	6
2.5. Rancangan Percobaan.....	7
2.6. Parameter Pengamatan .....	7
2.7. Analisis Data .....	8
<b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>10</b>
3.1 Penelitian Tahap I .....	10
3.2 Gula Pereduksi.....	10
3.2.1 Dekstrosa ekuivalen .....	15
3.2.2 Total padatan terlarut.....	18
3.3 Penelitian Tahap II .....	22
3.3.1 Gula pereduksi.....	22
3.3.2 <i>Dextrose equivalent</i> .....	25
3.3.3 Total padatan terlarut.....	30
<b>BAB IV PENUTUP</b> .....	<b>34</b>
4.1 Kesimpulan .....	34

4.2 Saran.....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>35</b>
<b>Lampiran.....</b>	<b>42</b>
<b><i>CURRICULUM VITAE</i>.....</b>	<b>74</b>

**DAFTAR GAMBAR**

Nomor urut	Halaman
1. Diagram alir penelitian.....	9
2. Hubungan variasi substrat terhadap nilai gula pereduksi (g/L).....	11
3. Hubungan lama sakarifikasi terhadap nilai gula pereduksi (g/L) .....	12
4. Hubungan variasi substrat terhadap dekstrosa ekuivalen (%) .....	15
5. Hubungan lama sakarifikasi terhadap nilai dekstrose equivalent (%).....	17
6. Hubungan variasi konsentrasi substrat terhadap padatan terlarut (°Brix).....	19
7. Hubungan lama sakarifikasi terhadap total padatan terlarut .....	20
8. Hubungan variasi penggunaan konsentrasi enzim amiloglukosidase terhadap perolehan gula pereduksi (g/L).....	23
9. Hubungan variasi penggunaan konsentrasi substrat terhadap perolehan gula pereduksi (g/L).....	24
10. Hubungan variasi konsentrasi enzim amiloglukosidase terhadap perolehan nilai dekstosa ekuivalen (%).....	26
11. Hubungan konsentrasi substrat pati sagu dan dekstrosa ekuivalen.....	28
12. Hubungan variasi konsentrasi enzim (%) terhadap padatan terlarut (°Brix) .....	31
13. Hubungan variasi konsentrasi substrat (%) terhadap total padatan terlarut..	32

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Judul	Halaman
1.	Nilai rata-ratan hubungan antara variasi konsentrasi substrat dan lama Sakarifikasi terhadap nilai gula pereduksi.....	42
2.	Nilai rata-ratan hubungan antara variasi konsentrasi substrat pati sagu dan lama sakarifikasi terhadap nilai gula pereduksi (g/L) .....	44
3a.	Analisa sidik ragam nilai gula pereduksi dengan variasi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi.....	44
3b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap gula pereduksi .....	45
3c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh lama sakarifikasi terhadap perolehan nilai gula pereduksi .....	45
3d.	Analisa lanjutan duncan pengaruh interaksi konsentrasi substrat lama sakarifikasi terhadap gula pereduksi (g/L) .....	46
4.	Perolehan nilai DE dengan variasi konsentrasi substrat.....	49
5.	Nilai rata-ratan hubungan antara variasi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi terhadap nilai gula pereduksi .....	51
6a.	Analisa sidik ragam nilai DE dengan variasi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi.....	51
6b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap nilai DE	52
6c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh lama sakarifikasi terhadap perolehan nilai DE .....	52
6d.	Analisa lanjutan duncan pengaruh interaksi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi terhadap dekstrosa ekuivalen (%).....	53
7.	Perolehan nilai Total padatan terlarut dengan variasi konsentrasi substrat	56
8.	Nilai rata-ratan hubungan antara variasi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi terhadap nilai Total padatan terlarut.....	58
9a.	Analisa sidik ragam nilai Total padatan terlarut dengan variasi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi.....	58
9b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap nilai Total padatan terlarut.....	59
9c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh lama sakarifikasi terhadap perolehan nilai Total padatan terlarut .....	59
9d.	Analisa lanjutan Duncan pengaruh interaksi konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi terhadap Total padatan terlarut ( <sup>o</sup> Brix) .....	60
10.	Perolehan nilai gula pereduksi dengan variasi konsentrasi enzim.....	63
11.	Nilai rata-ratan hubungan antara variasi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat nilai gula pereduksi .....	63
12a.	Analisa sidik ragam nilai gula pereduksi dengan variasi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat.....	64
12b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap gula pereduksi .....	64
12c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi enzim terhadap perolehan nilai gula pereduksi .....	64
12d.	Analisa lanjutan duncan pengaruh interaksi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat terhadap gula pereduksi (g/L) .....	64
13.	Perolehan nilai DE dengan variasi konsentrasi enzim .....	65

14.	Nilai rata-rata hubungan antara variasi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat terhadap nilai gula pereduksi .....	66
15a.	Analisa sidik ragam nilai DE dengan variasi konsentrasi enzim dan lama sakarifikasi .....	66
15b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap nilai DE .....	67
15c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi enzim terhadap perolehan nilai DE .....	67
15d.	Analisa lanjutan duncan pengaruh interaksi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat terhadap dekstrosa ekuivalen (%) .....	67
16.	Perolehan nilai Total padatan terlarut dengan variasi konsentrasi enzim ...	68
17.	Nilai rata-rata hubungan antara variasi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat nilai Total padatan terlarut.....	69
18a.	Analisa sidik ragam nilai Total padatan terlarut dengan variasi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat .....	69
18b.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi substrat terhadap nilai Total padatan terlarut.....	69
18c.	Analisa lanjutan duncan pengaruh konsentrasi enzim terhadap perolehan nilai Total padatan terlarut .....	69
18d.	Analisa lanjutan duncan pengaruh interaksi konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat terhadap Total padatan terlarut (°Brix).....	70

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sagu (*Metroxylon sago Rottb.*) merupakan komoditas lokal yang melimpah di Asia tenggara dan mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi sumber pemanis alternatif non-tebu selain daripada tepung tapioka (Kusumawaty *et al.*, 2019). Penggunaan pati sagu sejauh ini adalah untuk bahan pangan tradisional atau campuran tepung terigu dalam pembuatan kue yang lazimnya diproduksi oleh industri skala kecil. Sagu kering yang ada di pasaran pada umumnya mempunyai kandungan pati lebih dari 80%. Nilai tersebut lebih tinggi dari rendemen pati jagung sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber pati modifikasi (Dalimunthe *et al.*, 2019; Fridayani, 2006).

Pati sagu merupakan hasil ekstraksi empulur pohon sagu berumur 8-6 tahun yang sebelumnya telah melalui proses penghancuran, penokokan, pemerasan, penyaringan dan pengendapan (Umar, 2020). Karakter utama granula pati sagu berbentuk elips dengan ukuran 20-60  $\mu\text{m}$ , suhu gelatinisasi 66-73  $^{\circ}\text{C}$ , daya serap air 51,1% dan rasio amilosa:amilopektinnya pada kisaran 27:73 (Jading *et al.*, 2011). *Refined starch* sagu dengan ekstraksi sempurna dapat mencapai kadar pati 98,42%, protein 0,63%, lemak 0,33%, serat 0,36%, dan abu 0,26%. Oleh karena itu memenuhi syarat sebagai bahan baku produksi sirup glukosa, *high fructose syrup*, sorbitol, dan lain-lain (Saraswati *et al.*, 2004; Asmuruf *et al.*, 2020).

Komponen utama pati sagu adalah amilosa dan amilopektin yang pada jaringan tanaman berada dalam bentuk granula (butir). Struktur amilosa mempunyai cabang lurus dengan ikatan  $\alpha$ -(1,4)-D-glukosa, sedangkan amilopektin mempunyai cabang dengan ikatan  $\alpha$ -(1,6)-D-glukosa. Rantai utama amilopektin terjalin seperti heliks ganda membentuk lapisan kristalin yang tahan terhadap perlakuan asam dan enzim. Bagian lebih terbuka (amorf) terbentuk dari rantai percabangan pada amilopektin serta rantai lurus amilosa sehingga dapat menyerap air dingin sampai 30% tanpa merusak struktur pati secara keseluruhan. Perlakuan seperti gelatinisasi sebelum reaksi hidrolisis dapat dilakukan untuk memecah granula dan membuka struktur kristalin pati agar meningkatkan perolehan gula pereduksi dalam produksi sirup glukosa (Hartati *et al.*, 2008; Sugiyono, 2004; Winarno, 2004).

Menurut (Hull, 2010), Sirup glukosa merupakan konsentrat murni berbentuk cairan gula yang diturunkan dari pati dengan nilai *dextrose equivalent* (DE) minimum sebanyak 30%. DE merupakan ukuran keberhasilan konversi pati menjadi gula pereduksi yang terdapat pada sirup glukosa. Selain untuk konsumsi rumah tangga, sirup glukosa juga cenderung dimanfaatkan oleh industri makanan, minuman, kosmetik, dan farmasi. Sirup glukosa dapat diperoleh dari proses hidrolisis pati baik secara kimiawi maupun secara enzimatik yang meliputi proses gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi.

Proses kimiawi melibatkan reaksi hidrolisis menggunakan senyawa asam pekat (HCl) dan memerlukan suhu tinggi antara 140-160  $^{\circ}\text{C}$ . Proses tersebut

mempunyai kekurangan seperti terjadinya reaksi *browning*, degradasi glukosa, memerlukan peralatan tahan korosi dan panas sehingga dapat mempengaruhi warna, rasa, dan menurunkan kualitas produk (Devita, 2015; Betiku *et al.*, 2013). Proses enzimatik lebih disukai dikarenakan lebih ramah lingkungan, hasil produksi lebih tinggi, dan minim limbah. Beberapa enzim yang dapat digunakan dalam menghidrolisis pati adalah  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase, pullulanase, dan amiloglukosidase yang dapat dikombinasikan untuk menghasilkan sirup glukosa dengan nilai dekstrosa ekuivalen tinggi (Mukarramah *et al.*, 2016).

Produksi sirup glukosa secara enzimatik dimulai dengan proses pati disuspensikan menggunakan air sehingga membentuk suspensi 15-40%. Selanjutnya dilakukan gelatinisasi, dimana granula pati dipanaskan untuk memecah granula agar polimer amilosa dan amilopektin dapat terlepas, memberikan celah bagi enzim untuk bekerja. Proses ini ditandai dengan meningkatnya viskositas bersamaan dengan membengkaknya granula pati. Proses ini dilakukan hingga pati melewati suhu gelatinisasinya agar pembengkakan granula tidak lagi bersifat reversibel karena telah terjadi perubahan struktur akibat pecahnya granula. Likuiifikasi yang dilakukan tanpa gelatinisasi akan membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan substrat yang telah tergelatinisasi (Laga, 2024; Devita, 2015).

Proses likuiifikasi melibatkan enzim  $\alpha$ -amilase (EC3.2.1.1) (1,4 D-glukanhidrolase; glikogenase) (Rani *et al.*, 2015). Sumber enzim tersebut pada umumnya didapatkan dari bakteri *B. Subtilis* dan *B. Licheniformis*. Enzim  $\alpha$ -amilase akan menghidrolisis rantai  $\alpha$ -1-4 secara acak pada rantai amilosa dan amilopektin hingga melepaskan dekstrin, maltosa, dan maltooligosakarida (Wahyuni, 2017). Proses ini ditandai dengan menurunnya derajat viskositas akibat hasil kerja enzim.  $\alpha$ -amilase tersusun atas 512 asam amino dengan berat molekul 57,6 kDa. Penambahan ion kalsium hingga 40 ppm pada proses ini dapat membuat enzim relatif tahan terhadap suhu, pH, dan senyawa seperti urea. Kondisi likuiifikasi yang dapat digunakan adalah pH optimum 6,5-7, suhu optimum 85-90 °C, dan lama reaksi sesuai tingkat derajat hidrolisis yang diinginkan (DE 15-20%) (Ramadhan & Wikandari, 2021; Bakr, 2014).

Proses enzimatik terakhir adalah sakarifikasi menggunakan amiloglukosidase untuk menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1-4 dan  $\alpha$ -1-6 dari ujung non pereduksi untuk menghasilkan molekul-molekul glukosa bebas (Bueno-Zabala *et al.*, 2020a). Enzim tersebut berjenis eksoamilase yang mampu menghidrolisis pati secara sempurna pada periode waktu yang lama. Amiloglukosidase yang umum digunakan pada tahap sakarifikasi umumnya berasal dari *Aspergillus niger* sehingga bersifat aman. Enzim tersebut dapat menghidrolisis maltodekstrin (DE 10-15%) dengan konsentrasi substrat 30-40%, pH 4-4,5, suhu 60 °C, dan waktu sakarifikasi 48-72 jam (Muhammad *et al.*, 2018). Setelah itu, dapat dilakukan pemucatan untuk menghilangkan bau, warna, rasa dan kotoran menggunakan absorben seperti karbon aktif sebanyak 0,5-1% dari bobot pati. Proses terakhir adalah penyaringan dan penguapan untuk memisahkan karbon aktif hingga diperoleh sirup glukosa murni.

Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi sirup glukosa adalah suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan waktu hidrolisis (Rosida & Amelia, 2022).

Meskipun produksi sirup glukosa secara enzimatik mempunyai banyak kelebihan, tetapi memerlukan biaya produksi yang cukup mahal jika dibandingkan dengan produksi secara kimiawi menggunakan asam. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk mempelajari beberapa kondisi yang mempengaruhi efektivitas kinerja enzim guna mendapatkan hasil yang optimum. Efektivitas enzim amiloglukosidase menjadi krusial dalam proses produksi sirup karena berperan langsung dalam melepaskan glukosa yang menjadi tolak ukur mutu sirup glukosa. Enzim amiloglukosidase komersial yang digunakan dalam sakarifikasi umumnya telah disediakan informasi tentang kondisi optimum seperti pH dan suhu sakarifikasi.

Faktor lainnya yang mempengaruhi ialah konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan lama sakarifikasi. Ketiga faktor tersebut memiliki nilai yang berbeda tergantung pada jenis substrat yang digunakan. Hidrolisis enzimatik juga bergantung pada daerah amorf:kristalin pati, rasio amilosa:amilopektin, bentuk granula pati, dan kandungan non pati pada setiap bahan baku.

Beberapa penelitian seperti yang dilakukan oleh (Oktafiani, 2023) melakukan sakarifikasi menggunakan pati umbi suweg (*Amorphophallus campanulatus* B1) menyatakan bahwa lama sakarifikasi terbaik pada 10 jam dengan nilai DE 52%. (Simtadegi, 2015) menyatakan bahwa proses sakarifikasi tepung tapioka menggunakan amiloglukosidase pada kondisi terbaik yaitu lama sakarifikasi 36 jam pada nilai DE 85%. Hasil yang berbeda didapatkan dari penelitian oleh (Azwar & Erwanti, 2009) yang melakukan sakarifikasi dengan memvariasikan substrat (30-40%) tepung kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*). Hasil terbaik didapatkan pada substrat 35%, kadar DE 25%. Sakarifikasi oleh (Jariyah & Nurismanto, 2017) mengasilkan sirup glukosa dari suspensi 30 % pati garut (*Maranta arundinacea*) yaitu nilai DE 52% dan waktu optimum 24 jam. Penelitian tersebut memperlihatkan kondisi optimum yang bervariasi dikarenakan jenis substrat yang digunakan berbeda pula.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini berupaya untuk menganalisis pengaruh beberapa kondisi proses sakarifikasi produksi sirup glukosa yaitu pengaruh lama sakarifikasi, konsentrasi substrat, dan konsentrasi enzim menggunakan substrat pati sagu.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh penggunaan konsentrasi substrat pati sagu terhadap sirup glukosa yang dihasilkan?
2. Bagaimana pengaruh penggunaan lama sakarifikasi terhadap sirup glukosa dari pati sagu yang dihasilkan?
3. Bagaimana pengaruh penggunaan konsentrasi enzim amiloglukosidase terhadap produksi sirup glukosa dari pati sagu yang dihasilkan?



### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan umum yang ingin dicapai pada penelitian ini menghasilkan sirup glukosa dari bahan pati sagu dengan menganalisis berbagai kondisi proses sakarifikasi. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis pengaruh variasi konsentrasi substrat pada proses sakarifikasi pati sagu terhadap mutu sirup glukosa.
2. Menganalisis pengaruh lama sakarifikasi pada proses produksi sirup glukosa dari pati sagu.
3. Menganalisis pengaruh variasi konsentrasi enzim amiloglukosidase pada proses sakarifikasi pati sagu terhadap mutu sirup glukosa.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Kegunaan yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat dijadikan sebagai sumber informasi dan acuan bagi masyarakat dan produsen/industri pangan untuk melakukan produksi ataupun pengolahan sirup glukosa dari bahan pati non-tebu seperti sagu. Masyarakat dapat memenuhi kebutuhan gula dengan harga ekonomis karena gula yang diproduksi tidak tergantung pada satu komoditas tertentu saja, melainkan dari bahan-bahan alternatif lainnya.

## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan, Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu, dan Teaching Industry Universitas Hasanuddin.

#### 2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi reaktor likuifikasi *stainless steel*, ayakan 100 *mesh*, alat-alat gelas (gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas kimia, pipet ukur dan botol kaca), mikropipet, rak tabung, tanur, desikator, *digital refractometer* (Hanna HI96811), *hotplate stirrer*, pH meter, *oven*, cawan porselin, shaker inkubator (*wisecube*), *centrifuge*, pH meter, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), dan neraca analitik.

Bahan yang digunakan meliputi pati sagu yang diperoleh dari unit pengolahan gula cair, Teaching Industry, Universitas Hasanuddin. Enzim  $\alpha$ -amilase, amiloglukosidase 260 U/kg, PbO (p.a),  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$  (p.a), DNS (*dinitro salisyilic acid*),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (p.a),  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  (p.a) kalium natrium tartrat tetrahidrat (p.a), NaOH (p.a), Fenol kristal (p.a), HCl (p.a), D-Glucose (p.a),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (p.a), akuades, plastik *wrap*, aluminium foil, dan *tissue roll*.

#### 2.3. Prosedur Penelitian

Adapun prosedur pada penelitian ini terdiri atas dua proses utama yaitu likuifikasi dan sakarifikasi yang mengacu pada (Megavitry, 2018) yang dimodifikasi.

##### 1. Likuifikasi

Proses likuifikasi diawali dengan pati sagu sebanyak 3.000 g dimasukkan ke dalam wadah bersih. Kemudian ditambahkan akuades sebanyak 7.000 mL lalu diaduk hingga membentuk suspensi 30% (b/v) pati sagu. Setelah itu ditambahkan larutan  $\text{CaCl}_2$  4000 ppm sebanyak 10 mL lalu pH suspensi diatur menggunakan NaOH 0,2 N hingga mencapai pH 6,5. Suspensi kemudian dipindahkan ke dalam reaktor likuifikasi *stainless steel*. Enzim  $\alpha$ -amilase ditambahkan sebanyak 0,1 % substrat bk. Suspensi tersebut dipanaskan pada suhu 110 °C selama 15 menit untuk proses gelatinisasi sekaligus pemecahan fraksi kristalin pati. Setelah itu, ditambahkan kembali enzim  $\alpha$ -amilase sebanyak 0,1 % substrat bk lalu suhu diatur konstan pada 85 °C selama 90 menit hingga diperoleh hidrolisat pati. Kemudian diatur pH-nya hingga pH 4,5 dengan menambahkan HCl 0,2 N. Hidrolisat kemudian disaring hingga diperoleh hidrolisat maltodekstrin pH 4,5.

##### 2. Sakarifikasi

Pada proses ini, hidrolisat maltodekstrin diencerkan menggunakan akuades hingga didapatkan konsentrasi substrat 30%, 25%, 20%, dan 15% (b/v). Masing-

masing konsentrasi substrat yang telah dibuat dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 150 mL lalu ditambahkan AMG sebanyak 208 U/kg substrat bk (tahap I) dan AMG 260 U/kg dan 312 U/kg substrat bk (tahap II). Setelah itu dilakukan sakarifikasi pada suhu 60 °C dan kecepatan pengadukan 160 rpm menggunakan alat shaker inkubator dengan pengambilan sampel sebanyak 10 mL tiap 6 jam hingga waktu sakarifikasi mencapai 72 jam. Sampel yang diambil kemudian dilakukan pengujian analisa dengan beberapa parameter antara lain gula pereduksi, dekstrosa ekuivalen (DE), dan Total padatan terlarut (°brix). Berdasarkan uraian di atas maka disusunlah diagram alir pembuatan sirup glukosa dari patu sagu dengan sistem batch pada Gambar 1.

#### 2.4. Desain Penelitian

Desain penelitian dirancang untuk memperoleh data terkait pengaruh konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan lama waktu sakarifikasi terhadap produksi sirup glukosa. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahapan. Tahap pertama menggunakan variabel pengaruh konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi. Tahapan kedua menggunakan pengaruh konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim yang disakarifikasi pada waktu optimum yang didapatkan pada tahap 1.

##### 1. Tahap 1 (Pengaruh konsentrasi substrat dan lama sakarifikasi)

- S<sub>1</sub> : Konsentrasi substrat 15%
- S<sub>2</sub> : Konsentrasi substrat 20%
- S<sub>3</sub> : Konsentrasi substrat 25%
- S<sub>4</sub> : Konsentrasi substrat 30%
- T<sub>0</sub> : Kontrol      T<sub>8</sub> : 48 jam
- T<sub>1</sub> : 6 jam        T<sub>9</sub> : 54 jam
- T<sub>2</sub> : 12 jam      T<sub>10</sub>: 60 jam
- T<sub>3</sub> : 18 jam      T<sub>11</sub>: 66 jam
- T<sub>4</sub> : 24 jam      T<sub>12</sub>: 72 jam
- T<sub>5</sub> : 30 jam
- T<sub>6</sub> : 36 jam
- T<sub>7</sub> : 42 jam

Hasil perlakuan lama sakarifikasi terbaik yang didapatkan pada tahap I akan digunakan pada tahap II

##### 2. Tahap 2 (Pengaruh konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat)

- E<sub>1</sub> : Konsentrasi enzim 208 U/kg
- E<sub>2</sub> : Konsentrasi enzim 260 U/kg
- E<sub>3</sub> : Konsentrasi enzim 312 U/kg
- S<sub>1</sub> : Konsentrasi substrat 15%
- S<sub>2</sub> : Konsentrasi substrat 20%
- S<sub>3</sub> : Konsentrasi substrat 25%
- S<sub>4</sub> : Konsentrasi substrat 30%

## 2.5. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan percobaan dua kali ulangan pada dua tahapan. Pada tahap I, faktor pertama adalah perlakuan S (konsentrasi substrat) dan faktor kedua adalah T (lama sakarifikasi). Pada tahap II, faktor pertama adalah S (konsentrasi substrat) dan faktor kedua adalah E (konsentrasi enzim). Apabila hasilnya berpengaruh nyata maka akan dilanjutkan uji lanjut Duncan.

## 2.6. Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dilakukan dengan menentukan kadar gula pereduksi, dekstrosa ekuivalen (DE), dan Total padatan terlarut ( $^{\circ}$ Brix).

### 1. Analisa Kadar Gula Pereduksi Metode DNS (Ardiansyah, 2007; Megavitry, 2018)

Prinsip metode DNS adalah dalam suasana basa (alkali), gula pereduksi akan mereduksi 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan membentuk senyawa yang absorbasinya dapat diukur dengan panjang gelombang 550 nm. Berikut penjabaran tahapan analisa kadar gula pereduksi.

#### a). Persiapan Pereaksi DNS

Pereaksi DNS dibuat dengan cara melarutkan 10,6 g asam 3,5 dinitrosalisilat dan 19,8 g NaOH ke dalam 1416 air. Setelah itu ditambahkan 306 g Na-K Tartarat, 7,6 g fenol (dicairkan pada suhu 50  $^{\circ}$ C), dan 8,3 g Na-metabisulfit. Larutan ini diaduk rata, kemudian sebanyak 3 mL larutan tersebut dititrasi dengan HCl 0,1 N serta menggunakan indikator fenoftalein. Banyak titran berkisar 5-6 ml. Namun jika titran kurang dari itu, maka ditambahkan NaOH sebanyak 2 g untuk setiap mL kekurangan HCl 0,1 N.

#### b). Penjernihan Sampel

Larutan penjernih dibuat dengan memijarkan Pb asetat dan Pb oksida pada suhu 600  $^{\circ}$ C selama 20 menit lalu didinginkan di desikator. Selanjutnya 9 g Pb asetat dan 3 g Pb oksida dilarutkan menggunakan 21 mL akuades lalu dihomogenkan.

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam microcentrifuge tube lalu ditambahkan 0,25 mL larutan penjernih dan 0,25 natrium karbonat 10%. Setelah itu, campuran didiamkan dalam refrigerator selama 24 jam.

#### c). Penentuan Kurva Standar

Kurva standar dibuat dengan tujuan untuk mengetahui kadar gula pereduksi pada sampel glukosa pada selang 75-200 ppm. Kadar gula pereduksi lalu dicari dengan menggunakan metode DNS. Hasil yang didapatkan akan diplotkan secara linier dalam grafik.

#### d). Penetapan Gula Pereduksi

Sebanyak 0,75 mL sampel yang telah dijernihkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian pereaksi DNS ditambahkan sebanyak 2,25 mL. Larutan kemudian dihomogenkan lalu dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit. Larutan

dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 550 nm.

## 2. Dekstrosa Ekuivalen (Djalal *et al.*, 2019)

Perolehan nilai dekstrosa ekuivalen (DE) dapat diketahui dengan menggunakan rumus :

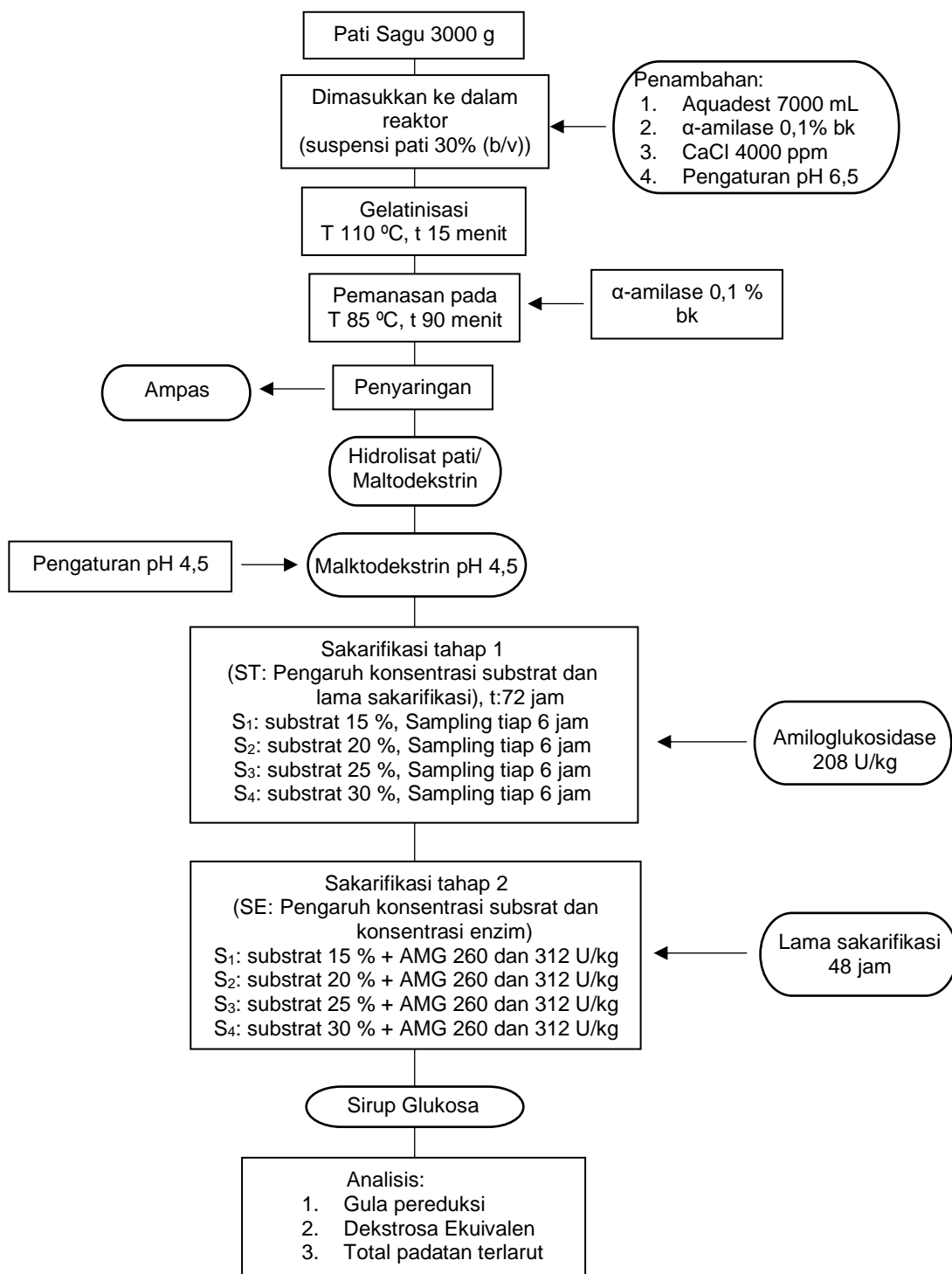
$$DE = \frac{\sum \text{gula pereduksi yang terbentuk (b/v)}}{\sum \text{Substrat awal yang digunakan (b/v)}} \times 100\% \quad (1)$$

## 3. Analisa Total padatan terlarut ( $^{\circ}$ Brix) (Megavitry, 2018)

Total padatan terlarut sirup glukosa diuji dengan menggunakan alat *digital refractometer*. Sampel dipipet menggunakan pipet tetes kemudian diteteskan pada tempat sampel *refractometer* kemudian dilihat angka yang tertera pada layar alat.

### 2.7. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (Anova) menggunakan aplikasi SPSS dan *Microsoft Excel*. Jika hasil analisis data yang diperoleh memberikan pengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan analisis lanjut Duncan.



**Gambar 1.** Diagram alir produksi sirup glukosa dari pati sagu