

**OPTIMASI ISOMERISASI PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA DARI PATI
SAGU (*Metroxylon sagu* R.) DENGAN METODE ENZIMATIS TERIMOBIL**

***ISOMERIZATION OPTIMIZATION OF FRUCTOSE SYRUP PRODUCTION
FROM SAGO (*Metroxylon sagu* R.) STARCH BY IMMOBILIZED ENZYME
METHOD***



**MUSDALIFA
G032222011**



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

2024

**OPTIMASI ISOMERISASI PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA DARI PATI
SAGU (*Metroxylon sagu* R.) DENGAN METODE ENZIMATIS TERIMOBIL**

MUSDALIFA

G032222011



PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**OPTIMASI ISOMERISASI PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA DARI PATI
SAGU (*Metroxylon sagu* R.) DENGAN METODE ENZIMATIS TERIMOBIL**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu dan Teknologi pangan

Disusun dan diajukan oleh

MUSDALIFA

G032222011

kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



TESIS

OPTIMASI ISOMERISASI PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA DARI PATI SAGU (*Metroxylon sagu* R.) DENGAN METODE ENZIMATIS TERIMOBIL

MUSDALIFA

G032222011

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada 25 Oktober 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. Andi Nur Faidah Rahman, S.TP., M.Si.
NIP. 19830428 200812 2 002

Ketua Program Studi
Magister Ilmu dan Teknologi Pangan



Prof. Dr. Arifuddin, S.TP., M.Si.
NIP. 7 200312 1 001

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. R. Salengke, M.Sc.
NIP. 231 198811 1 005

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “OPTIMASI ISOMERISASI PADA PRODUKSI SIRUP FRUKTOSA DARI PATI SAGU (*Metroxylon sagu* R.) DENGAN METODE ENZIMATIS TERIMOBIL” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS. sebagai pembimbing utama dan Dr. Andi Nur Faidah Rahman, S.TP., M.Si. sebagai pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. 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, November 2024



Musdalifa

G032222011



Optimized using
trial version
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi **Allah Subhanahu Wa Ta'ala**, Tuhan alam semesta. Kami memuji, memohon pertolongan dan ampunan kepada-Nya. Kami berlindung kepada Allah dari keburukan diri dan kejelekan amal perbuatan kami. Shalawat dan salam kepada sosok teladan terbaik yaitu **Nabi Muhammad Shallallahu 'Alaihi wa Sallam**, keluarga, sahabat, serta ummatnya yang senantiasa meneladani uswahnya sampai hari dimana kita dikumpulkan oleh Allah. *Amma Ba'du. Alhamdulillah* atas nikmat dan kasih sayang Allah, akhirnya penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya untuk keluarga besar, khususnya kepada bapak, **Ambo Illang** dan mama, **Hartati** yang telah membesarkan, mendidik, dan memberikan segala bentuk dukungan terbaik berupa do'a, nasehat, perhatian, kasih sayang dan dalam bentuk materiil tanpa keluh kesah sedikitpun, juga kepada adik **Muhammad Syafi'i** atas dukungannya selama ini. Penyusunan tesis ini juga tidak lepas dari motivasi dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan rasa hormat penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS.**, selaku dosen pembimbing 1 yang banyak berkontribusi dalam penyelesaian tugas akhir, mulai dari mengingatkan, memotivasi, mendampingi, memberikan dukungan materiil serta sarana yang sangat menunjang keberhasilan penelitian penulis, serta Ibu **Dr. Andi Nur Faidah Rahman** selaku dosen pembimbing 2 atas arahan, masukan, ilmu, dan kelapangan waktu untuk banyak berdiskusi dengan penulis.
2. **Bapak Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si, Prof. Andi Dirpan, S. TP., M. Si., Ph. D.**, dan Ibu **Dr. Ir. Andi Hasizah, M. Si** selaku dosen penguji atas masukannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik, serta bapak **Dr. Adiansyah Syarifuddin, S. TP., M. Si.**, selaku ketua program studi magister ilmu dan teknologi pangan
3. **Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemendikbukristek)** atas bantuan materiil pendidikan melalui program Beasiswa Unggulan dan pendanaan penelitian melalui Program Thesis Magister.
4. **Bapak/Ibu dosen Ilmu dan Teknologi Pangan** yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu atas segala bentuk dedikasinya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian ini dari bekal ilmu yang didapatkan selama perkuliahan, serta **laboran, staff** dan **karyawan ITP** atas bantuannya selama proses penelitian di laboratorium, kepengurusan administrasi yang memberi kemudahan dan kelancaran pengurusan penelitian hingga diperoleh gelar magister.
5. Saudari **Muthia Chairany** dan teman-teman seperjuangan, **Evi Rosfitasari** dan **Andi Tenrimega** atas segala bantuan dan dorongannya untuk "cepat selesai" selama menempuh pendidikan.



Investor Athaya, Ibu Aji, Teaching Squad, dan **Batalyon KD** yang an energi positif kepada penulis, serta memberikan bantuan dan

an kakak-kakak seangkatan **ITP 22-2** atas semua bantuan dan elama penulis menempuh pendidikan.

Kepada seluruh pihak yang telah kami sebutkan, maupun pihak-pihak yang terluput kami sebutkan, *jazaakumullahu khayran*, semoga Allah senantiasa membalas kebaikan tersebut.

Penulis,

Musdalifa



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ABSTRAK

MUSDALIFA. Optimasi Isomerisasi pada Produksi Sirup Fruktosa dari Pati Sagu (*Metroxylon sagu* R.) dengan Metode Enzimatis Terimobil (dibimbing oleh Amran Laga dan Andi Nur Faidah Rahman).

Sagu memiliki potensi untuk diolah sebagai substrat dalam produksi sirup fruktosa sebagai alternatif pemanis non-tebu. Salah satu kendala dalam proses produksi sirup fruktosa adalah rendahnya efektivitas dan efisiensi penggunaan enzim bebas. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi kendala ini adalah melalui imobilisasi enzim. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dan mengidentifikasi konsentrasi substrat glukosa yang akan digunakan, konsentrasi enzim bebas dalam substrat, konsentrasi enzim bebas dalam buffer, konsentrasi enzim terimobil dalam substrat, serta jumlah siklus yang maksimal dalam mempertahankan aktivitas katalitik enzim dalam mengubah substrat glukosa menjadi fruktosa. Secara umum, parameter pengujian berupa kadar fruktosa, gula reduksi, total padatan, brix, serta dilakukan perhitungan derajat konversi, glukosa tersisa, dan dextrose equivalent. Hasil yang diperoleh yaitu konsentrasi glukosa 50°brix dalam menghasilkan derajat konversi tertinggi sebesar 45,91% dan konsentrasi enzim glukoisomerase bebas 0,07% (70 U/g) menghasilkan derajat konversi 46,67%, hasil konsentrasi enzim bebas dalam matriks sebesar 0,75% menghasilkan nilai tertinggi yaitu 51,07% enzim terimobil dalam matriks, serta konsentrasi enzim terimobil 0,08% (80 U/g) menghasilkan derajat konversi tertinggi yaitu 43,89%, serta hasil menunjukkan bahwa adanya penurunan kadar fruktosa dan derajat konversi yang signifikan pada penggunaan ke-8 dan masih mampu mempertahankan aktivitas katalitik enzim dalam mengubah substrat menjadi produk hingga penggunaan berulang ke-7. Kesimpulan yang diperoleh yaitu perlakuan terbaik diperoleh dari konsentrasi substrat glukosa 50°brix, konsentrasi enzim bebas dalam substrat 0,07% (70 U/g), konsentrasi enzim bebas dalam buffer 0,75%, konsentrasi enzim terimobil dalam substrat 0,08% (80 U/g), serta jumlah siklus yang maksimal dalam penggunaan enzim terimobil yaitu tujuh kali.

Kata kunci: Enzim terimobil; isomerisasi; pati sagu; sirup fruktosa.



ABSTRACT

MUSDALIFA. **Isomerization Optimization of Fructose Syrup Production from Sago (*Metroxylon sagu* R.) Starch by Immobilized Enzyme Method** (supervised by Amran Laga dan Andi Nur Faidah Rahman).

Sago has the potential to be processed as a substrate in the production of fructose syrup as an alternative to cane sugar sweeteners. One of the challenges in fructose syrup production is the low effectiveness and efficiency of using free enzymes. An approach to address this issue is through enzyme immobilization. This study aims to analyze and identify the concentration of glucose substrate to be used, the concentration of free enzyme in the substrate, the concentration of free enzyme in the buffer, the concentration of immobilized enzyme in the substrate, and the maximum number of cycles in maintaining the enzyme catalytic activity in converting glucose substrate into fructose. The test parameters generally included fructose content, reducing sugar, total solids, brix, and calculating the degree of conversion, remaining glucose, and dextrose equivalent. The results obtained were the concentration of 50°brix glucose produced the highest degree of conversion of 45.91% and the concentration of 0.07% free glucoisomerase enzyme (70 U/g) produced a degree of conversion of 46.67%, the results of the concentration of free enzyme in the buffer of 0.75% produced the highest value of 51.07% immobilized enzyme in the matrix, and the concentration of 0.08% immobilized enzyme (80 U/g) produced the highest degree of conversion of 43.89%. Also, the results showed a significant decrease in fructose content and degree of conversion at the 8th use. They could still maintain the catalytic activity of the enzyme in converting the substrate into the product until the 7th repeated use. It was concluded that the best treatment was obtained from 50°brix glucose substrate concentration, free enzyme concentration in substrate 0.07% (70 U/g), free enzyme concentration in buffer 0.75%, immobilized enzyme concentration in substrate 0.08% (80 U/g), and the maximum number of cycles in using immobilized enzyme was seven times.

Keywords: Immobilized enzyme; isomerization; sago starch; fructose syrup.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN UMUM	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
BAB II TOPIK PENELITIAN I Penentuan Konsentrasi Optimum Sirup Glukosa sebagai Substrat dan Konsentrasi Enzim Bebas dalam Substrat pada Produksi Sirup Fruktosa dari Pati Sagu	4
2.1 Abstrak	4
2.2 Pendahuluan	4
2.3 Metode Penelitian	6
2.4 Hasil dan Pembahasan	8
2.5 Kesimpulan dan Saran	14
2.6 Daftar Pustaka	14
BAB III TOPIK PENELITIAN II Penentuan Konsentrasi Enzim dalam Matriks dan Konsentrasi Enzim dalam Substrat dengan Penggunaan Imobilisasi Kovalen pada Produksi Sirup Fruktosa	18
3.1 Abstrak	18
3.2 Pendahuluan	18
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Hasil dan Pembahasan	24
3.5 Kesimpulan dan Saran	33
3.6 Daftar Pustaka	34
BAB IV TOPIK PENELITIAN III Penentuan Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Imobilisasi Secara Kovalen dalam Produksi Sirup Fruktosa	38



4.1 Abstrak	38
4.2 Pendahuluan	38
4.3 Metode Penelitian	39
4.4 Hasil dan Pembahasan	42
4.5 Kesimpulan dan Saran	45
4.6 Daftar Pustaka	45
BAB V PEMBAHASAN UMUM	47
5.1 Topik Penelitian I: Konsentrasi Optimum Sirup Glukosa sebagai Substrat dan Konsentrasi Enzim Bebas dalam Produksi Sirup Fruktosa	47
5.2 Topik Penelitian II: Konsentrasi Enzim Bebas dalam Buffer dan Konsentrasi Enzim Terimobil dalam Substrat pada Produksi Sirup Fruktosa	48
5.3 Topik Penelitian III: Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Glukoisomerase Terimobilisasi Secara Kovalen dalam Produksi Sirup Fruktosa	48
BAB VI KESIMPULAN UMUM	50
4.1 Kesimpulan	50
4.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Enzim Terimobilisasi	25
Tabel 2. Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Glukoisomerase Terimobilisasi terhadap Produksi Sirup Fruktosa	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Prinsip Pengujian Kadar Fruktosa Metode DNS.....	8
Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Kadar Fruktosa	9
Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Derajat Konversi Sirup Fruktosa	10
Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Viskositas Sirup Fruktosa	11
Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Enzim (%) terhadap Kadar Sirup Fruktosa	12
Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi	13
Gambar 7. Mekanisme Delignifikasi, Aktivasi, dan Imobilisasi Kovalen	21
Gambar 8. Pengaruh Konsentrasi Enzim dalam Matriks (%) terhadap Enzim Terimobil.....	24
Gambar 9. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Kadar Sirup Fruktosa	26
Gambar 10. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Derajat Konversi Sirup Fruktosa.....	27
Gambar 11. Prinsip Pengujian Kadar Gula Reduksi Metode DNS	28
Gambar 12. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Gula Reduksi Sirup Fruktosa.....	29
Gambar 13. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Total Padatan Sirup Fruktosa.....	30
Gambar 14. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Dextrose Equivalent Sirup Fruktosa	31
Gambar 15. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Total Padatan Terlarut Sirup Fruktosa.....	32
Gambar 16. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Glukosa Tersisa	33
Gambar 17. Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Glukoisomerase Terimobilisasi terhadap Kadar Fruktosa, Glukosa, dan Derajat Konversi pada Produksi Sirup Fruktosa	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1a. Kurva Standar Pengukuran Kadar Fruktosa	58
Lampiran 1b. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Kadar Fruktosa (%)	58
Lampiran 1c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Kadar Fruktosa (%)	58
Lampiran 1d. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Kadar Fruktosa (%)	59
Lampiran 2a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Derajat Konversi (%)	59
Lampiran 2b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Derajat Konversi (%)	59
Lampiran 2c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Derajat Konversi (%)	60
Lampiran 3a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Viskositas Sirup Fruktosa (%)	60
Lampiran 3b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Viskositas Sirup Fruktosa (%)	60
Lampiran 3c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Viskositas Sirup Fruktosa (%)	61
Lampiran 4a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Kadar Fruktosa (%)	61
Lampiran 4b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Kadar Fruktosa (%)	61
Lampiran 4c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Kadar Fruktosa (%)	62
Lampiran 5a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi (%)	62
Lampiran 5b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi (%)	62
Lampiran 5c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi (%)	63
Lampiran 6a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim/buffer (mg/ml) terhadap Penurunan Protein Terlarut (%)	63
Lampiran 6b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim/buffer (mg/ml) terhadap Penurunan Protein Terlarut (%)	63
Lampiran 7a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Kadar Fruktosa (%)	64
Lampiran 7b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Kadar Fruktosa (%)	64
Lampiran 7c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil terhadap Derajat Konversi (%)	64
Lampiran 7d. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil terhadap Derajat Konversi (%)	65
Lampiran 7e. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil terhadap Derajat Konversi (%)	65



Lampiran 8c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi (%).....	65
Lampiran 9a. Kurva Standar Pengujian Kadar Gula Reduksi	66
Lampiran 9b. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Gula Reduksi (%).....	66
Lampiran 9c. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Gula Reduksi (%)	66
Lampiran 9d. Hasil Uji Lanjut Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Gula Reduksi (%).....	67
Lampiran 10a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Total Padatan (%)	67
Lampiran 10b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Total Padatan (%)	67
Lampiran 10c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Total Padatan (%).....	68
Lampiran 11a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Dextrose Equivalent (%).....	68
Lampiran 11b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Dextrose Equivalent (%)	68
Lampiran 12a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Brix.....	69
Lampiran 12b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Brix.....	69
Lampiran 12c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Brix.....	69
Lampiran 13a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Glukosa Tersisa (%).....	70
Lampiran 13b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Enzim Terimobil (%) terhadap Glukosa Tersisa (%).....	70
Lampiran 13c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Glukosa Tersisa (%)	70
Lampiran 14a. Tabel Pengamatan Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Kadar Fruktosa (%).....	71
Lampiran 14b. Hasil Uji ANOVA Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Kadar Fruktosa (%).....	71
Lampiran 14c. Hasil Uji Lanjut Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Kadar Fruktosa (%).....	72
Lampiran 15a. Tabel Pengamatan Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Glukosa Tersisa (%).....	72
Lampiran 15b. Hasil Uji ANOVA Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Glukosa Tersisa (%).....	73
Jji Lanjut Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang Tersisa (%).....	73
Pengamatan Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang versi (%).....	73
Jji ANOVA Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang versi (%).....	74



Lampiran 16c. Hasil Uji Lanjut Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Derajat Konversi (%).....	74
Lampiran 17a. Tabel Pengamatan Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Gula Reduksi (%).....	75
Lampiran 17b. Hasil Uji ANOVA Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Gula Reduksi (%).....	75
Lampiran 18a. Tabel Pengamatan Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Dextrose Equivalent.....	76
Lampiran 18b. Hasil Uji ANOVA Penggunaan Enzim Terimobilisasi Berulang terhadap Dextrose Equivalent.....	76
Lampiran 19a. Dokumentasi	77



BAB I PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Tingkat konsumsi gula di Indonesia mencapai 6,8 juta ton pada tahun 2023 dan sebagian besar dipasok oleh gula tebu (Statistik Konsumsi Pangan, 2024). Tingginya kebutuhan gula mendorong pengembangan berbagai alternatif sumber pemanis, beberapa diantaranya dapat dibuat dari hidrolisis berbagai sumber pati. Pati merupakan salah satu jenis karbohidrat yang banyak terdapat pada tumbuhan (Harni *et al.*, 2021). Beberapa tanaman sumber pati antara lain tanaman sereal, seperti padi, jagung, gandum dengan kandungan pati berkisar 30-80%, kacang-kacangan dan kedelai berkisar 25-50%, dan umbi-umbian dengan kisaran pati 60-90% (Pavas *et al.*, 2020). Setiawan *et al.* (2022) menyebutkan bahwa sagu merupakan tanaman dengan kandungan pati yang tinggi, yaitu sekitar 90%. Selain itu, Indonesia merupakan negara penghasil sagu terbesar di dunia, dengan produksi 367.132 ton pada tahun 2021 (Badan Pusat Statistik, 2022). Oleh karena itu, sagu sangat potensial menjadi substrat dalam produksi sirup fruktosa sebagai alternatif pemanis non tebu.

Sirup fruktosa merupakan pemanis utama yang disajikan sebagai campuran glukosa dan fruktosa (Singh *et al.*, 2018). Sirup fruktosa adalah gula cair yang memiliki tingkat kemanisan paling tinggi dibandingkan glukosa dan sukrosa. Perbandingan tingkat kemanisan glukosa, sukrosa, dan fruktosa masing-masing adalah 74, 100, 180 (Yulistiani *et al.*, 2019). Selain itu, sirup fruktosa banyak digunakan pada industri besar karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan pemanis lainnya (Zhou *et al.*, 2020), seperti tidak mengkristal, lebih mudah dilarutkan, serta telah disetujui oleh GRAS (Generally Recognized As Safe) (Mohammadi *et al.*, 2019). Secara umum, tahapan dalam pembuatan sirup fruktosa yaitu likuifikasi atau hidrolisis pati menjadi oligosakarida dengan menggunakan enzim alfa-amilase, sakarifikasi atau pemecahan oligosakarida menjadi glukosa dengan menggunakan enzim amiloglukosidase, isomerisasi glukosa menjadi fruktosa menggunakan enzim glukoisomerase, serta pemurnian sirup fruktosa (Singh *et al.*, 2018); (Gahlawat *et al.*, 2017). Salah satu kendala yang dihadapi pada proses produksi sirup fruktosa yaitu kurangnya efektivitas dan efisiensi dari penggunaan enzim bebas pada ketiga tahap tersebut (Wang *et al.*, 2016). Oleh karena itu dibutuhkan metode yang dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi produksi tanpa menurunkan kualitas sirup fruktosa yang dihasilkan.

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi tantangan tersebut yaitu dengan pengaplikasian metode imobilisasi (Barbosa *et al.*, 2015). Selain itu, imobilisasi berfungsi dalam meningkatkan kestabilan enzim (Baidamshina *et al.*, 2021); serta enzim dapat digunakan secara berulang (Tacias-Pascacio *et al.*, 2021) (D. M. Liu *et al.*, 2018). Penggunaan enzim dapat dilakukan berulang pada metode imobilisasi karena enzim



ada permukaan matriks yang tidak larut air (H. Zhang *et al.*, 2021). (2020), proses imobilisasi dapat dilakukan dengan metode adsorpsi, *cross linking*, dan pengikatan kovalen. Metode adsorpsi fisik imobilisasi yang paling sering digunakan karena lebih sederhana. Namun, metode adsorpsi fisik memiliki interaksi yang lemah antara enzim dan matriks pembawa. Metode ini rentan terhadap perubahan pH, suhu, dan dapat mengakibatkan stabilitas enzim menjadi kurang baik (D. M. Liu *et al.*,

2018). Menurut (Zucca & Sanjust, 2014), imobilisasi dengan ikatan kovalen umumnya memiliki kekuatan ikatan tertinggi antara matriks pendukung dengan enzim dibanding metode lain, serta meminimalkan masalah kebocoran. Selain itu, perlekatan kovalen biasanya tidak mengganggu perpindahan massa reagen/produk, dan memungkinkan peningkatan stabilitas operasional tertinggi, terutama terhadap panas, pH, pelarut organik, dan juga mengenai penyimpanan. Matriks pendukung yang dapat digunakan pada metode kovalen yaitu bagase. Bagase merupakan komponen organik yang tersedia dalam jumlah yang besar, murah, serta menunjukkan ketahanan termal dan mekanik yang tinggi. Menurut (Fan *et al.*, 2021), secara kimiawi, bagase memiliki gugus karboksil, hidroksil, dan fenolik melimpah. Gugus fungsi tersebut akan berikatan dengan reagen bifungsional, lalu membentuk ikatan dengan gugus fungsi enzim pada proses imobilisasi kovalen.

Beberapa penelitian yang telah melakukan teknik imobilisasi enzim pada produksi fruktosa yaitu (Jin *et al.*, 2017) dengan metode *cross linking* enzim glukoisomerase menggunakan reagen bifungsional berupa glutaraldehid dengan penggunaan berulang yang mampu mempertahankan stabilitas katalitik sebesar >85% dari aktivitas awal. Selain itu, (Zhou *et al.*, 2020) melakukan imobilisasi enzim invertase pada proses hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dengan metode adsorpsi menggunakan matriks pendukung berupa selulosa, serta penelitian yang dilakukan oleh (Amaral-Fonseca *et al.*, 2021) melakukan imobilisasi amiloglukosidase metode *cross linking* (CLEAs) dan glukoisomerase terimobilisasi komersial (IGI) dari *Streptomyces murinus*, Sweetzyme® IT Extra. Hasil menunjukkan bahwa kedua biokatalis dapat digunakan kembali selama enam siklus berturut-turut dengan mempertahankan konversi glukosa menjadi fruktosa tanpa kehilangan aktivitas katalitiknya.

Namun penelitian tersebut belum secara spesifik memberikan informasi terkait enzim glukoisomerase pada substrat pati sagu serta aplikasi imobilisasi kovalen. Selain itu, optimasi parameter-parameter seperti konsentrasi substrat, enzim bebas dalam substrat, enzim bebas dalam buffer pada proses imobilisasi, enzim terimobil dalam substrat, serta yang sangat penting untuk meningkatkan efisiensi proses yaitu jumlah siklus yang maksimal dalam mempertahankan aktivitas katalitik enzim dalam mengubah substrat glukosa menjadi fruktosa belum dibahas secara komprehensif pada penelitian tersebut. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan sebagai upaya optimasi produksi sirup fruktosa dari pati sagu dengan imobilisasi enzim glukoisomerase metode ikatan kovalen untuk menjaga stabilitas enzim sehingga dapat digunakan berulang.

1.2 Rumusan Masalah

Tingginya kebutuhan gula menyebabkan berbagai alternatif sumber pemanis terus dikembangkan, seperti sirup fruktosa yang dapat diproduksi dari berbagai sumber pati,



Optimized using
trial version
www.balesio.com

sagu dengan kandungan pati yang tinggi sebanyak 90%. Hal ini dihadapi dalam produksi sirup fruktosa yaitu penggunaan enzim yang efektif dan efisien sehingga dapat ditangani dengan penggunaan enzim yang memungkinkan adanya peningkatan efektivitas dan efisiensi produksi. Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada proses produksi dengan enzim terimobil diantaranya konsentrasi substrat glukosa, konsentrasi enzim bebas dalam buffer, konsentrasi enzim bebas

dalam substrat, konsentrasi enzim terimobil dalam substrat, serta jumlah siklus yang maksimal dalam mempertahankan aktivitas katalitik enzim dalam mengubah substrat glukosa menjadi fruktosa. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan mampu mengoptimalkan proses isomerisasi pada produksi sirup fruktosa dari pati sagu dengan penggunaan enzim terimobil.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Secara umum, tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menghasilkan sirup fruktosa dengan kualitas yang baik serta penggunaan enzim terimobil yang dapat digunakan berulang dengan nilai efektivitas yang tinggi.

Secara khusus, tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk menentukan konsentrasi sirup glukosa yang optimal sebagai substrat dalam produksi sirup fruktosa dan mengetahui konsentrasi optimum dari enzim bebas dalam substrat
2. Untuk menentukan konsentrasi enzim bebas dalam matriks bagase dan konsentrasi enzim terimobil dalam substrat dalam produksi sirup fruktosa
3. Untuk mengevaluasi dan menetapkan jumlah siklus maksimal yang dapat dilakukan oleh enzim terimobil tanpa kehilangan aktivitas katalitiknya secara signifikan.

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan kontribusi positif dalam industri pangan utamanya pada bidang bahan tambahan pangan dalam menyediakan alternatif yang efektif dan efisien untuk produksi sirup fruktosa berbasis sagu dengan teknik imobilisasi kovalen.



BAB II TOPIK PENELITIAN I

Penentuan Konsentrasi Optimum Sirup Glukosa sebagai Substrat dan Konsentrasi Enzim Bebas dalam Substrat pada Produksi Sirup Fruktosa dari Pati Sagu

2.1 Abstrak

Sirup fruktosa merupakan pemanis utama yang disajikan sebagai campuran glukosa dan fruktosa yang dapat diproduksi dari pati, salah satunya pati sagu. Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada proses produksi sirup fruktosa diantaranya konsentrasi glukosa sebagai substrat dan konsentrasi enzim dalam substrat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi substrat glukosa dengan parameter kadar fruktosa, derajat konversi, serta viskositas, dan untuk menentukan konsentrasi enzim yang optimal dengan parameter kadar fruktosa dan derajat konversi. Hasil menunjukkan bahwa pada substrat pada konsentrasi 50, 60, 70, dan 80°brix diperoleh kadar fruktosa secara berturut-turut 22,96; 25,22, 29,00; dan 27,29%, derajat konversi 45,91; 42,04; 41,43; 34,11%, serta viskositas 10,20; 104,33; 424,67; 3819,67 mPa.s. Hasil pada perlakuan konsentrasi enzim 0,1; 0,07; dan 0,04% diperoleh kadar fruktosa secara berturut-turut 22,96; 23,33; 20,67%, serta derajat konversi 45,91; 46,67; dan 41,33%. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu perlakuan terbaik diperoleh pada konsentrasi substrat 50 hingga 70°brix dan konsentrasi enzim 0,07% sebagai konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim yang optimal digunakan dalam produksi sirup fruktosa. Kata kunci: Enzim, pati sagu, sirup fruktosa, sirup glukosa.

2.2 Pendahuluan

2.2.1 Latar Belakang

Tingkat konsumsi gula di Indonesia mencapai 6,8 juta ton pada tahun 2023 dan sebagian besar dipasok oleh gula tebu (Statistik Konsumsi Pangan, 2024). Kebutuhan gula yang tinggi mendorong pengembangan berbagai alternatif sumber pemanis, salah satunya adalah hidrolisis dari berbagai sumber pati. Pati merupakan salah satu jenis karbohidrat yang banyak terdapat pada tumbuhan (Harni *et al.*, 2021). Beberapa tanaman sumber pati antara lain tanaman serealia, seperti padi, jagung, gandum dengan kandungan pati berkisar 30-80%, kacang-kacangan dan kedelai berkisar 25-50%, dan umbi-umbian dengan kisaran pati 60-90% (Pavas *et al.*, 2020). (Setiawan *et al.*, 2022) menyebutkan bahwa sagu merupakan salah satu tanaman dengan kandungan pati yang tinggi, yaitu sekitar 90%.

Pada tahun 2021, produksi sagu di Indonesia mencapai 367.132 ton, menjadikannya sebagai penghasil sagu terbesar di dunia (Badan Pusat Statistik, 2022). Sagu merupakan bahan pangan yang sangat potensial menjadi substrat dalam produksi alternatif pemanis non tebu. Sirup fruktosa merupakan pemanis sebagai campuran glukosa dan fruktosa (Singh *et al.*, 2018). Sirup cair yang memiliki tingkat kemanisan paling tinggi dibandingkan . Perbandingan tingkat kemanisan glukosa, sukrosa, dan fruktosa ih 74, 100, 180 (Yulistiani *et al.*, 2019). Selain itu, sirup fruktosa da industri besar karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan



pemanis lainnya (Zhou *et al.*, 2020), seperti tidak mengkristal, mudah larut, serta telah disetujui oleh Generally Recognized As Safe (GRAS) (Mohammadi *et al.*, 2019).

Secara umum, produksi sirup fruktosa melalui beberapa tahap yaitu gelatinisasi, likuifikasi dengan α -amilase, sakarifikasi dengan amiloglukosidase, dan isomerisasi dengan glukoisomerase (Singh *et al.*, 2018); (Gahlawat *et al.*, 2017). Gelatinisasi adalah proses pembengkakan granula pati akibat pemanasan dan adanya peningkatan volume sehingga memutus ikatan hidrogen pada ikatan glikosida pati (Megavitry & Nurhijrah, 2019). Likuifikasi yang dilakukan tanpa gelatinisasi terlebih dahulu akan membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan substrat yang telah mengalami gelatinisasi. Likuifikasi adalah tahap hidrolisis pati untuk menghasilkan oligosakarida atau dekstrin yang lebih sederhana dengan menggunakan enzim α -amilase (Megavitry & Nurhijrah, 2019). Setelah proses likuifikasi, dilakukan sakarifikasi. Sakarifikasi menghidrolisis dekstrin menjadi glukosa dengan satu enzim yaitu glukamilase atau campuran enzim glukamilase dan pullulanase (Megavitry & Nurhijrah, 2019). Menurut (Amaral-Fonseca *et al.*, 2021), proses sakarifikasi optimal pada suhu 40-60°C serta pH 4,5-6,0. Setelah melalui tahap sakarifikasi, dilakukan proses isomerisasi. Menurut (Zhang *et al.*, 2019), dalam proses isomerisasi glukosa menjadi fruktosa yang dikatalisis oleh enzim, beberapa langkah yang terlibat diantaranya: (i) pembukaan cincin glukosa; (ii) pembentukan zat antara cis-enediol dengan mengabstraksi proton pada C2 glukosa; (iii) pemindahan proton; (iv) penutupan cincin rantai fruktosa.

Nury dan Luthfi (2023) telah melakukan penelitian dengan produksi sirup fruktosa dengan memvariasikan pH selama tahap isomerisasi, sedangkan Natori *et al.* (2022) berfokus pada variasi suspensi pati sebagai substrat. Kedua penelitian tersebut memberikan wawasan terkait faktor-faktor yang mempengaruhi proses isomerisasi dalam produksi fruktosa. Namun, terdapat faktor lain yang perlu diteliti lebih lanjut, khususnya mengenai konsentrasi glukosa sebagai substrat dan konsentrasi enzim. Glukosa merupakan substrat utama dalam proses isomerisasi yang diubah menjadi fruktosa. Menentukan konsentrasi glukosa yang optimal sangat penting karena secara langsung mempengaruhi laju reaksi dan tingkat konversi fruktosa. Selain itu, konsentrasi enzim perlu dioptimalkan untuk memastikan efisiensi maksimal dalam mengubah glukosa menjadi fruktosa. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai konsentrasi glukosa dan enzim untuk meningkatkan efisiensi produksi sirup fruktosa dari pati sagu.

2.2.2 Rumusan Masalah

Sirup fruktosa merupakan gula cair dengan tingkat kemanisan paling tinggi dibandingkan glukosa dan sukrosa. Beberapa aspek kritis dalam proses produksi sirup fruktosa adalah konsentrasi optimum glukosa sebagai substrat dan konsentrasi enzim bebas dalam substrat. Oleh karena itu dilakukan untuk mengidentifikasi konsentrasi sirup glukosa sebagai substrat dan konsentrasi enzim bebas optimum dalam produksi sirup



2.2.3 Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengidentifikasi konsentrasi sirup glukosa yang optimal sebagai substrat dalam produksi sirup fruktosa
2. Untuk mengetahui konsentrasi optimum dari enzim bebas dalam substrat dalam produksi sirup fruktosa

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan mampu memberikan informasi di bidang akademik, khususnya pada bidang ilmu dan teknologi pangan terkait produksi sirup fruktosa metode enzimatis dengan penggunaan substrat pati sagu.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2024 di *Teaching Industry*, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan, Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.

2.3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah inkubator, spektrofotometer, *hotplate*, vortex, tanur, *centrifuge*, bulb, gelas kimia, gelas ukur, mikro pipet, pH meter, pipet volume, tabung reaksi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah pati sagu, asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), *aquadest*, α -amilase, amiloglukosidase, glukoisomerase (100.000 U/g), magnesium sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), fenol, natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), natrium kalium tartat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), natrium metabisulfid ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), kalsium klorida (CaCl_2), timbal (II) asetat (Pba), timbal (II) oksida (PbO), natrium karbonat (Na_2CO_3).

2.3.3 Prosedur Penelitian

Pati sagu 30% (w/v) diatur pHnya pada 6,5 menggunakan HCl 0,1N atau NaOH 0,1N. Selanjutnya ditambahkan enzim α -amilase 0,1% dari suspensi pati dan kofaktor berupa CaCl_2 4000ppm sebanyak 1%. Suspensi pati dipanaskan pada suhu 105°C selama 15 menit untuk proses gelatinisasi. Selanjutnya, setelah suspensi dingin, dilakukan penambahan α -amilase kembali sebanyak 0,1% dari suspensi pati. Setelah itu, suspensi diinkubasi pada inkubator suhu 70°C selama 90 menit dan didinginkan. Lalu, pH diatur menjadi 4,5 dengan penambahan HCl 0,1N hingga diperoleh sampel hasil likuifikasi yang akan dilanjutkan pada tahap sakarifikasi.

Hasil likuifikasi dilanjutkan ke tahap sakarifikasi dengan menambahkan enzim amiloglukosidase 0,75 g/kg substrat. Selanjutnya dicampurkan lalu diinkubasi pada suhu



Setelah itu dilakukan evaporasi untuk menurunkan kadar air pada dengan perlakuan (Dimodifikasi dari (Megavitry & Nurhijrah, 2019)). Banyak 1000 mL diatur pH nya hingga mencapai pH 8,2 dengan atau HCl. Selanjutnya ditambahkan enzim glukoisomerase sesuai ,04; 0,07, dan 0,1% (b/v) dan kofaktor $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L, pada suhu 60°C selama 120 menit.

2.3.4 Rancangan Penelitian

Adapun desain penelitian dijabarkan sebagai berikut.

1. Penentuan Konsentrasi (°brix) Glukosa sebagai Substrat

A1: 50°brix

A2: 60°brix

A3: 70°brix

A4: 80°brix

2. Penentuan Konsentrasi Enzim Glukoisomerase

B1: 0,04%

B2: 0,07%

B3: 0,1%

2.3.5 Parameter Pengujian

2.3.5.1 Kadar Fruktosa

Larutan penjernih dibuat dengan memijarkan timbal (II) oksida (PbO) di tanur pada suhu 600°C selama 20 menit lalu didinginkan di desikator. Selanjutnya bahan 3g timbal (II) asetat (PbA), 1g timbal (II) oksida (PbO) dan 7ml akuades (3:1:7) dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu divortex. Sampel sebanyak 1ml, larutan penjernih dan larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) masing-masing 0,25ml dimasukkan pada *microcentrifuge* tube lalu disentrifugasi.

Larutan standar fruktosa dengan konsentrasi 30-90 ppm yang telah diencerkan dari larutan induk fruktosa 100 ppm. Masing-masing konsentrasi fruktosa dipipet sebanyak 0,75 ml kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan reagen DNS sebanyak 2,25 ml. Tabung reaksi dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Tabung reaksi didinginkan pada suhu ruang. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 570 nm. Kurva standar dibuat berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan.

Sebanyak 0,75 mL larutan hasil hidrolisis dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2,25 mL pereaksi DNS, selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian dipanaskan pada hotplate pada suhu 100°C selama 5 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang. Lalu dipindahkan ke dalam kuvet, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm. Kadar fruktosa ditentukan dari persamaan regresi larutan standar (Dimodifikasi dari (Ruswandi, 2018)).

2.3.5.2 Derajat Konversi

Prosedur pengukuran derajat konversi melibatkan pengambilan sampel dengan menghitung persentase substrat yang telah berubah menjadi produk berdasarkan perbandingan konsentrasi awal dan akhir.

$$\text{Derajat Konversi (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi produk}}{\text{Konsentrasi substrat}} \times 100$$



Optimized using
trial version
www.balesio.com

pengukuran viskositas menggunakan viskometer rotasi melibatkan cairan ke dalam silinder viskometer, diikuti dengan pemutaran torsi yang terkontrol dan pengukuran torsi yang dibutuhkan untuk mencapai kecepatan tersebut, sehingga viskositas cairan dapat dihitung dari torsi dan kecepatan rotasi. Kecepatan rotasi diatur sebesar 60 rpm

serta masing-masing perlakuan sampel 50, 60, 70, dan 80°brix secara berturut-turut menggunakan *spindle* nomor 1, 2, 3, dan 4.

2.3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini akan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan bila berpengaruh nyata. Perangkat lunak analisis data yang digunakan adalah Microsoft Excel dan SPSS.

2.4 Hasil dan Pembahasan

2.4.1 Penentuan Konsentrasi Glukosa sebagai Substrat

2.4.1.1 Kadar Fruktosa

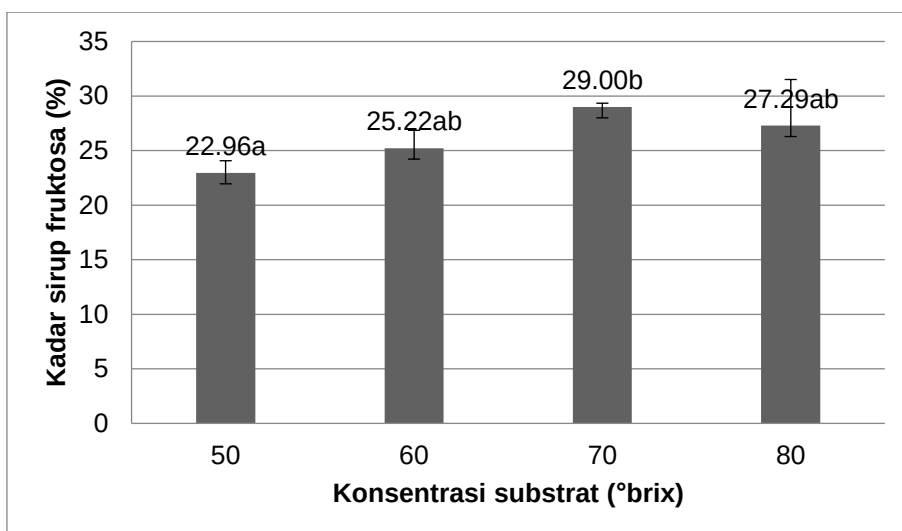
Kadar fruktosa diuji dengan metode DNS menggunakan instrumen spektrofotometer. Prinsip metode DNS yaitu sampel gula pereduksi berupa fruktosa akan bereaksi dengan reagen DNS dan akan terjadi reaksi redoks dimana gugus aldehid yang bertindak sebagai reduktor akan teroksidasi menjadi karboksil, sedangkan DNS yang bertindak sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam amino-5-nitrosalisat, yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari kuning menjadi warna jingga kemerahan (Lam *et al.*, 2021). Reaksi dapat dilihat pada Gambar 1. Semakin tinggi kadar fruktosa, maka semakin pekat warna jingga kemerahan yang terbentuk yang akan menghasilkan tingginya nilai absorbansi. Pengujian kadar fruktosa dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 570 nm dengan persamaan $y = 5.02x + 0.0352$ ($R^2 = 0.9923$) (Lampiran 1a).



Gambar 1. Prinsip Pengujian Kadar Fruktosa Metode DNS

Hasil pengamatan dari penggunaan konsentrasi substrat (°brix) sebesar 50, 60, 70, dan 80 pada Lampiran 1b. diperoleh data kadar fruktosa (%) pada kisaran 21,67-32,13, dengan adanya tren peningkatan kadar fruktosa seiring dengan tingginya konsentrasi substrat. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar fruktosa yang dihasilkan (Lampiran 1c). Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kadar fruktosa dapat dilihat pada Gambar 2.





Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Kadar Fruktosa

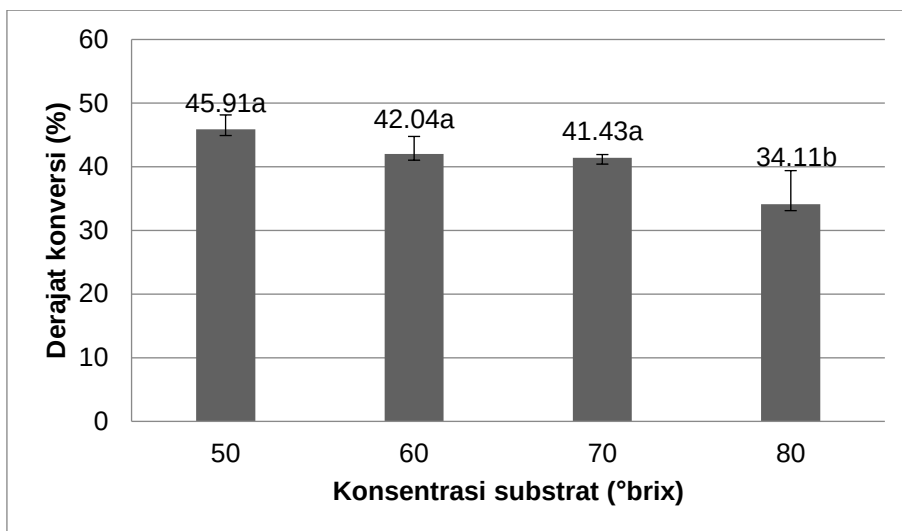
Berdasarkan Gambar 2, pengaruh konsentrasi substrat sebesar 50°brix berbeda nyata dengan 70°brix namun tidak berbeda nyata dengan 60 dan 80°brix. Hasil menunjukkan bahwa adanya kecenderungan peningkatan kadar fruktosa seiring dengan kenaikan konsentrasi substrat hingga konsentrasi tertentu sebelum mencapai titik jenuh enzim terhadap substrat. Hal ini dikarenakan produk yang terbentuk merupakan hasil kinerja enzim terhadap substrat sehingga tingginya substrat memungkinkan adanya peningkatan produk (Permanasari *et al.*, 2018), namun pada konsentrasi yang tinggi, substrat mampu menjadi inhibitor atau mengakibatkan adanya penghambatan kinerja enzim yang menyebabkan berkurangnya aktivitas dan efektivitas enzim (Reis *et al.*, 2023); (Kokkonen *et al.*, 2021a); (Beltrán-prieto *et al.*, 2018); (Hernández, 2022). Selain itu, (Butré, 2014), menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi substrat mempengaruhi kinetika enzim, mengubah laju hidrolisis dan selektivitas yang akan menyebabkan terganggunya keseimbangan antara enzim dan substrat pada konsentrasi tertentu.

2.4.1.2 Derajat Konversi

Derajat konversi merupakan banyaknya produk yang terbentuk perjumlah substrat yang digunakan. Derajat konversi akan menunjukkan efektifitas dari suatu proses produksi. Hasil pengamatan dari penggunaan konsentrasi substrat (°brix) sebesar 50, 60, 70, dan 80 pada Lampiran 2a. diperoleh data kadar fruktosa (%) pada kisaran 30,42-47,20, dengan adanya tren penurunan derajat konversi seiring dengan tingginya konsentrasi substrat. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar fruktosa yang

2b). Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kadar fruktosa dapat
3.





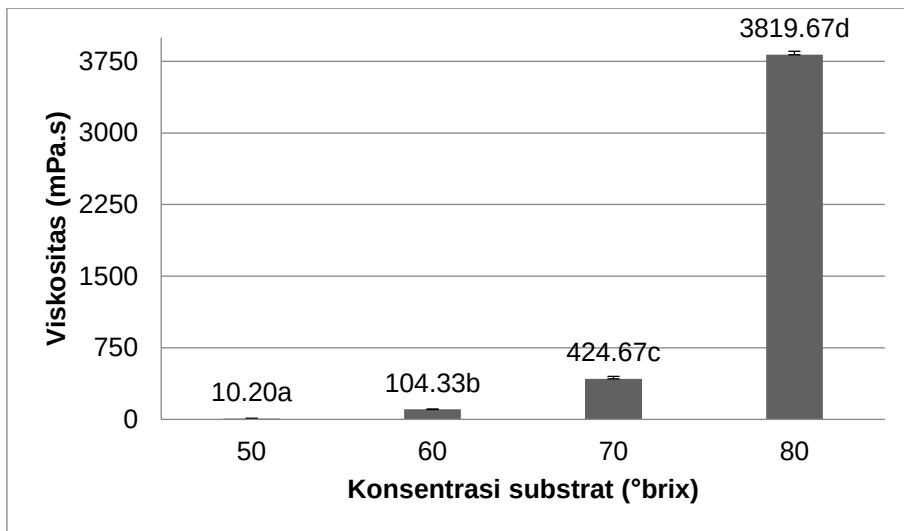
Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Derajat Konversi Sirup Fruktosa

Berdasarkan Gambar 3, pengaruh konsentrasi substrat sebesar 50, 60, dan 70 berbeda nyata dengan konsentrasi substrat 80°brix. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat, maka semakin rendah derajat konversi yang dihasilkan. Menurut (Kokkonen *et al.*, 2021), reaksi enzimatis pada konsentrasi substrat tertentu akan menurunkan laju reaksi enzim atau biasa dikenal dengan istilah “*substrate inhibition*”. Penurunan drastis pada konsentrasi substrat 80°brix diperkirakan karena telah mencapai titik *substrate inhibition* yaitu substrat menjadi inhibitor atau penghambat kerja enzim sehingga produk yang dihasilkan berkurang. Hal ini juga disebutkan oleh (Reis *et al.*, 2023) dan (Weilandt & Hatzimanikatis, 2023) bahwa konsentrasi substrat yang ditingkatkan lebih lanjut secara perlahan dapat menurunkan laju reaksi. Pada titik ini enzim dianggap mendekati kejenuhan dengan substrat, dan menunjukkan kecepatan maksimalnya (V_{max}). Selain itu, (Sun *et al.*, 2023); (Permanasari *et al.*, 2018) menyebutkan bahwa kurangnya ketersediaan air atau peningkatan viskositas mengakibatkan kesulitan dalam agitasi dan proses pencampuran yang membatasi laju enzim sehingga menghasilkan produk yang cenderung lebih rendah. Hal ini sejalan dengan hasil viskositas pada Gambar 4 yang menunjukkan adanya peningkatan viskositas seiring dengan peningkatan konsentrasi.

2.4.1.3 Viskositas

Viskositas sirup fruktosa diuji menggunakan instrumen *viscometer* (Ramalingam *et al.*, 2021). Prinsip dalam viskometer rotasi adalah menentukan hambatan aliran pada laju geser yang berbeda. Laju geser diubah dengan mengubah kecepatan rotasi, yang dengan laju geser tersebut (Lewis, 2023). Hasil pengamatan dari rasi substrat (°brix) sebesar 50, 60, 70, dan 80 pada Lampiran 3a. itas (mPa.s) pada kisaran 10-3850. Hasil uji ANOVA menunjukkan isentrasi substrat berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap viskositas ihasilkan (Lampiran 3b). Pengaruh konsentrasi substrat terhadap sa dapat dilihat pada Gambar 4.





Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Substrat (°brix) terhadap Viskositas Sirup Fruktosa

Berdasarkan Gambar 4, pengaruh konsentrasi substrat sebesar 50, 60, 70, dan 80°brix terhadap viskositas sirup fruktosa berbeda nyata satu sama lain. Konsentrasi substrat (°brix) mengindikasikan banyaknya gula atau padatan terlarut pada sampel (Dongare & Buchade, 2015) sehingga semakin tinggi °brix akan menghasilkan viskositas yang semakin tinggi pula. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Salehi, 2020) yang menyatakan bahwa nilai viskositas sangat bergantung pada kandungan padatan terlarut. Viskositas larutan gula meningkat pada konsentrasi yang lebih tinggi karena adanya interaksi antarmolekul pelarut dan zat terlarut atau molekul gula dan air (Bulavin *et al.*, 2017). Hal ini juga ditegaskan oleh (Kumbár *et al.*, 2018), bahwa viskositas akan selalu berbanding lurus dengan konsentrasi gula.

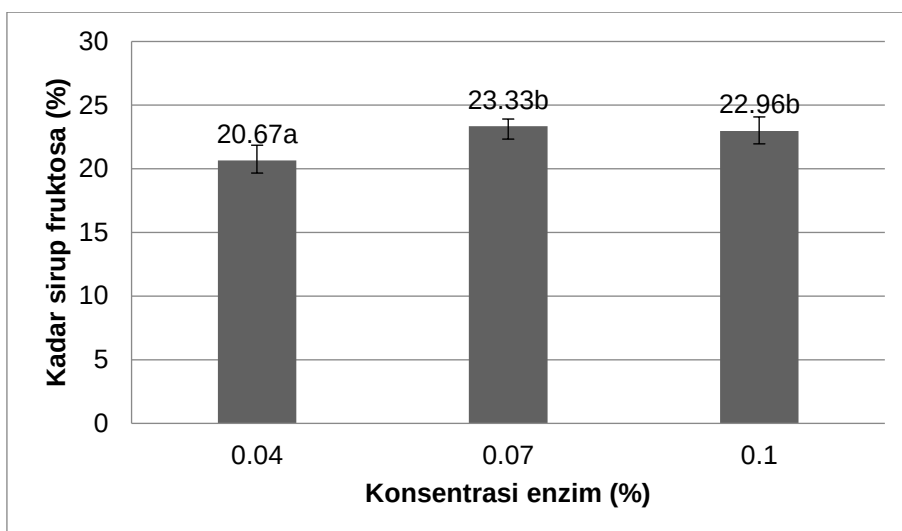
2.4.2 Penentuan Konsentrasi Enzim GI Bebas dalam Substrat

2.4.2.1 Kadar Fruktosa

Kadar fruktosa diuji dengan metode DNS menggunakan instrumen spektrofotometer. Prinsip metode DNS yaitu sampel gula pereduksi berupa fruktosa akan bereaksi dengan reagen DNS lalu akan terjadi reaksi redoks dimana gugus aldehyd yang bertindak sebagai reduktor teroksidasi menjadi karboksil, sedangkan DNS yang bertindak sebagai oksidator tereduksi membentuk asam amino-5-nitrosalisat, yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari kuning menjadi warna jingga kemerahan (Lam *et al.*, 2021). Pengujian kadar fruktosa dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 570 nm dengan persamaan $y = 5.02x + 0.0352$ ($R^2 = 0.9923$) (Lampiran 1a). Hasil pengamatan dari penggunaan konsentrasi



0,07; dan 0,1% pada Lampiran 4a. diperoleh data kadar fruktosa 24,00%, dengan adanya tren peningkatan kadar fruktosa hingga tentu. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar fruktosa yang dihasilkan (Lampiran 1a) konsentrasi enzim terhadap kadar fruktosa dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Enzim (%) terhadap Kadar Sirup Fruktosa

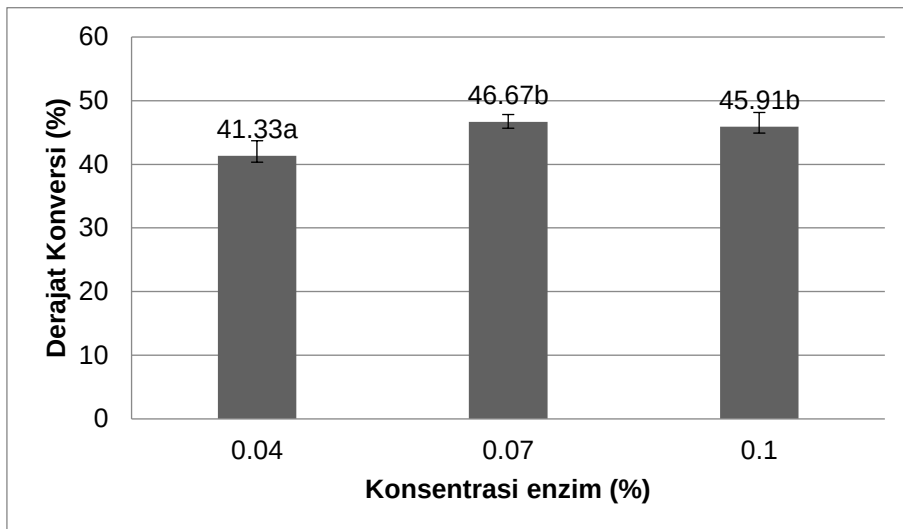
Berdasarkan Gambar 5, pengaruh konsentrasi enzim sebesar 0,1% (100 U/g) dan 0,07% (70 U/g) berbeda nyata dengan 0,04% (40 U/g) terhadap kadar fruktosa yang dihasilkan. Penggunaan konsentrasi enzim 0,07% mengalami peningkatan kadar fruktosa dibanding konsentrasi enzim 0,04%. Di sisi lain, pada konsentrasi 0,07% menghasilkan kadar fruktosa yang cenderung sama pada konsentrasi 0,1%. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi enzim cenderung menghasilkan kadar fruktosa yang meningkat pula hingga pada konsentrasi tertentu akan akan konstan atau bahkan mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Liu, 2017), bahwa kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi enzim hingga batas tertentu. (Yoo *et al.*, 2017) dan (Hernández, 2022) menambahkan bahwa konsentrasi enzim mempengaruhi laju reaksi hingga titik jenuh. Setelah titik jenuh, kecepatan reaksi tidak meningkat dengan peningkatan konsentrasi enzim yang dapat disebabkan oleh adanya ketidakseimbangan antara enzim dengan substrat (Straube, 2017). Keberadaan enzim yang berlebih akan menjadi inhibitor satu sama lain dikarenakan dapat mengganggu sisi aktif enzim lain yang akan berikatan dengan substrat. Kadar fruktosa maksimal yang dapat dihasilkan pada penelitian ini yaitu 25% karena penggunaan glukosa sebagai substrat sebesar 50% dan adanya sifat reversible pada proses isomerisasi yang dibatasi oleh kesetimbangan (Marianou *et al.*, 2018), dengan maksimum derajat konversi hanya hingga 50%. Oleh karena itu, penggunaan konsentrasi enzim sebesar 0,07% dengan perolehan 23,33% telah menunjukkan efektivitas yang tinggi yaitu mencapai 93%.



versi

ersi merupakan banyaknya produk yang terbentuk perjumlah akan. Derajat konversi akan menunjukkan efektifitas dari suatu sil pengamatan dari penggunaan konsentrasi enzim (%) sebesar ada Lampiran 5a. diperoleh data kadar fruktosa (%) pada kisaran adanya tren peningkatan derajat konversi hingga konsentrasi uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat

berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar fruktosa yang dihasilkan (Lampiran 5b). Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kadar fruktosa dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Derajat Konversi

Berdasarkan Gambar 6, pengaruh konsentrasi enzim 0,04% (40 U/g) berbeda nyata dengan konsentrasi 0,07% (70 U/g) dan 0,1% (100 U/g) terhadap kadar fruktosa yang dihasilkan. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim, maka produk yang dihasilkan berupa sirup fruktosa semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Baksi *et al.*, 2023) bahwa tingginya konsentrasi enzim akan menghasilkan produk yang tinggi pula. Namun pada konsentrasi 0,7 dan 1% cenderung menghasilkan produk yang stabil. Menurut (Liu, 2017), kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi enzim hingga batas tertentu. Dalam hal ini, penggunaan konsentrasi enzim di atas 0,7% pada proses isomerisasi telah berada pada titik jenuh sehingga tidak mempengaruhi perolehan derajat konversi. Keberadaan enzim yang berlebih akan menjadi inhibitor satu sama lain dikarenakan dapat mengganggu sisi aktif enzim lain yang akan berikatan dengan substrat. Reaksi isomerisasi bersifat *reversible* menyebabkan produksi maksimum glukosa menjadi fruktosa dibatasi oleh kesetimbangan (Marianou *et al.*, 2018), sehingga maksimum derajat konversi hingga 50%. Penelitian yang telah dilakukan oleh (Fischer *et al.*, 2022) menggunakan metode kimiawi dalam proses isomerisasi produksi sirup fruktosa dengan larutan NaOH memperoleh hasil derajat konversi 31% dari konversi maksimum 50% yang mengindikasikan bahwa metode enzimatik mampu menghasilkan derajat konversi dan efektivitas yang lebih tinggi, utamanya pada konsentrasi enzim 0,07% menghasilkan sar 46,67% dengan efektivitas mencapai 93%.



2.5 Kesimpulan dan Saran

2.5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian tahap 1 ini yaitu:

1. Konsentrasi sirup glukosa yang optimal sebagai substrat yaitu 50 hingga 70°brix dengan kadar fruktosa 22,96-29,00%, derajat konversi sebesar 45,91-41,43%, dan viskositas 10,20-424,67 mPa.s.
2. Konsentrasi enzim optimal dalam menghasilkan produk sirup fruktosa yaitu 0,07% dengan perolehan kadar fruktosa 23,33%, serta derajat konversi sebesar 46,67% dengan efektivitas mencapai 93%.

2.5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu menggunakan variasi pada suhu dan lama reaksi isomerisasi untuk lebih mengefisienkan proses dan mengoptimalkan produk.

2.6 Daftar Pustaka

- Amaral-Fonseca, M., Morellon-Sterling, R., Fernández-Lafuente, R., & Tardioli, P. W. (2021). Optimization of simultaneous saccharification and isomerization of dextrin to high fructose syrup using a mixture of immobilized amyloglucosidase and glucose isomerase. *Catalysis Today*, 362(February), 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.03.021>
- Baksi, S., Ujjaini, S., Villa, R., Basu, D., & Sengupta, D. (2023). Conversion of biomass to biofuels through sugar platform: A review of enzymatic hydrolysis highlighting the trade-off between product and substrate inhibitions. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102963>
- Beltrán-prieto, J. C., Huynh, L., & Son, B. (2018). Numerical analysis of initial amount of substrate and biomass in substrate inhibition process. 13, 491–496.
- Bulavin, L. A., Zabashta, Y. F., Khlopov, A. M., & Khorol, A. V. (2017). Molecular Mechanism of the Viscosity of Aqueous Glucose Solutions. 91(1), 89–93. <https://doi.org/10.1134/S0036024416120062>
- Butré, C. I. (2014). Introducing enzyme selectivity as a quantitative parameter to describe the effects of substrate concentration on protein hydrolysis.
- Dongare, M. L., & Buchade, P. B. (2015). Refractive Index based Optical Brix Measurement Technique With Equilateral Angle Prism for Sugar And Allied Industries. *International Journal for Light and Electron Optics*. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2015.05.137>
- Fischer, M., Drabo, P., & Delidovich, I. (2022). Study of base-catalyzed isomerization of a focus on reaction kinetics. *Reaction Kinetics, Mechanisms and* -2377. <https://doi.org/10.1007/s11144-022-02277-9>
- ar, R. K., Siwach, P., Duhan, J. S., Kumar, S., & Kaur, P. (2017). *ant Biotechnology: Recent Advancements and Developments*. J.1007/978-981-10-4732-9



syrup from various sources of starch. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 757(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012064>

Hernández, A. (2022). Mathematical expressions describing enzyme velocity and inhibition at high enzyme concentration. Biological Chemistry. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/hsz-2022-0163>

Kokkonen, P., Beier, A., Mazurenko, S., Damborsky, J., Bednar, D., & Prokop, Z. (2021a). Substrate inhibition by the blockage of product release and its control by tunnel engineering. 645–655. <https://doi.org/10.1039/d0cb00171f>

Kokkonen, P., Beier, A., Mazurenko, S., Damborsky, J., Bednar, D., & Prokop, Z. (2021b). Substrate inhibition by the blockage of product release and its control by tunnel engineering. RSC Chemical Biology, 645–655. <https://doi.org/10.1039/d0cb00171f>

Kumbár, V., Lampř, L., & Ondrušková, S. (2018). Relationship Between Viscosity and Sugar Content of Must During Ripening Period of Grapes. 12(1), 600–606. <https://doi.org/https://doi.org/10.5219/964>

Lam, H., Nguyen, T., & Do, T. (2021). Quantification of total sugars and reducing sugars of dragon fruit-derived sugar-samples by UV-Vis spectrophotometric method. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/947/1/012041>

Lewis, M. (2023). Food Process Engineering Principles and Data (pp. 81–93). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821182-3.00025-X>

Liu, S. (2017). Chapter 7-Enzymes. Bioprocess Engineering (Second Edition). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63783-3.00007-1>

Megavitry, R., & Nurhijrah, N. (2019). The Process of Developing Gelatinization and Saccharification with Variations in Temperature and Period of Glucose Sago Material. International Journal of Environment, Engineering and Education, 1(3), 82–89. <https://doi.org/10.55151/ijeedu.v1i3.20>

Mohammadi, M., Rezaei Mokarram, R., Ghorbani, M., & Hamishehkar, H. (2019). Inulinase immobilized gold-magnetic nanoparticles as a magnetically recyclable biocatalyst for facial and efficient inulin biotransformation to high fructose syrup. International Journal of Biological Macromolecules, 123, 846–855. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.160>

Natori R, Winarti S, Anggreini RA. Karakteristik HFS (High Fructose Syrup) dari umbi gembolo yang diproduksi secara hidrolisis enzimatis menggunakan amilase dan inulinase. Teknol. Pangan Media Inf. dan Komun. Ilm. Teknol. Pertanian. 2022;13(2):166–74.

Nury DF, Luthfi MZ. Pengaruh Variasi pH pada Produksi High Fructose Syrup (HFS) dari Tepung Gembolo. CFST. 2023;2(2):72–8. [10.35472/cfst.v2i2.1572](https://doi.org/10.35472/cfst.v2i2.1572)



Almódón, L. A., & Colorado, Á. A. R. (2020). Enzymatic hydrolysis of starch for glucose syrup production. Dyna, 87(214), 173–182. <https://www.researchgate.net/publication/358141610/view/2436141610/se-2>

Yulistiani, F., Purnama, R. W., Widjaja, T., & Gunawan, S. (2018). Effect of substrate and enzyme concentration on the glucose syrup production

from red sorghum starch by enzymatic hydrolysis. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 160(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/160/1/012002>

Ramalingam, S., Dhatchanamoorthis, I., Arumugam, A., Bahuguna, A., Krishnamoorthy, M., Suk, J., Devarajan, N., & Kim, M. (2021). Functional , nutritional , antinutritional , and microbial assessment of novel fermented sugar syrup fortified with pre-mature fruits of Totapuri mango and star gooseberry. LWT, 136(P1), 110276. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110276>

Reis, C. E. R., Junior, N. L., Bento, H. B. S., Ana, K. F., Carvalho, D., Luciana Vandenberghe, P. de S., Soccol, C. R., & Tejjraj M. Aminabhavi g h, A. K. C. (2023). Process strategies to reduce cellulase enzyme loading for renewable sugar production in biorefineries. Chemical Engineering Journal. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138690>

Ruswandi, *et al.* (2018). Penentuan Kadar Fruktosa Hasil Hidrolisis Inulin dengan DNS sebagai Pengoksidasi. Eksakta, 19(1), 14–23.

Salehi, F. (2020). Physicochemical characteristics and rheological behaviour of some fruit juices and their concentrates. Journal of Food Measurement and Characterization, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00495-0>

Setiawan, B., Fetriyuna, F., Letsoin, S. M. A., Purwestri, R. C., & Jati, I. R. A. P. (2022). A Sago Positive Character: A Literature Review. JIKW, 11(2), 145. <https://doi.org/10.30742/jikw.v11i2.2443>

Singh, R. S., Chauhan, K., Pandey, A., & Larroche, C. (2018). Biocatalytic strategies for the production of high fructose syrup from inulin. Bioresource Technology, 260, 395–403. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.127>

Straube, R. (2017). Operating regimes of covalent modification cycles at high enzyme concentrations. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/167825>

Sun, C., Meng, X., Sun, F., Zhang, J., Tu, M., & Chang, J. (2023). Advances and perspectives on mass transfer and enzymatic hydrolysis in the enzyme-mediated lignocellulosic biorefinery : A review. Biotechnology Advances.

Weilandt, D. R., & Hatzimanikatis, V. (2023). Optimal enzyme utilization suggests that concentrations and thermodynamics determine binding mechanisms and enzyme saturations. 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38159-4>

Yoo, Y. ., Feng, Y., Kim, Y. ., & Yagonia, C. F. . (2017). No Title. In Enzyme Reaction Kinetics. Springer. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-024-1026-6_4

Yulistiani, F., Saripudin, Maulani, L., Ramdhayani, W. S., Wibisono, W., & Permanasari, A. R. (2019). Fructose Syrup Production from Tapioca Solid Waste (Onggok) by *Ustilago* Enzymatic Hydrolysis in Various pH and Isomerization Process. Journal of nference Series, 1295(1). <https://doi.org/10.1088/1742-2032>



G., Wu, Y. Y., Song, H. J., Huang, H., Wang, F., & Lv, J. (2019). Isomerization of Glucose into Fructose Catalyzed by a Mimic somerases. ChemCatChem, 11(9), 2355–2361. <https://doi.org/10.1002/cctc.201900143>

Zhou, G., Peng, C., Liu, X., Chang, F., Xiao, Y., Liu, J., & Fang, Z. (2020). Identification and Immobilization of an Invertase With High Specific Activity and Sucrose Tolerance Ability of *Gongronella* sp. w5 for High Fructose Syrup Preparation. *Frontiers in Microbiology*, 11(April), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00633>



Optimized using
trial version
www.balesio.com