

SAKARIFIKASI PATI UBI JALAR PUTIH MENJADI GULA DEKSTROSA SECARA ENZIMATIS

Adrian¹, Andi Zulfikar Syaiful², Ridwan³, Hermawati⁴

¹Mahasiswa Jurusan Teknik Industri Prodi Teknik Kimia, Universitas Bosowa 45 Makassar

^{2,3,4}Dosen Jurusan Teknik Industri Prodi Teknik Kimia, Universitas Bosowa 45 Makassar

Abstrak

Penelitian ini dilakukan dengan menghidrolisa pati ubi jalar menjadi glukosa dengan menggunakan enzim AMG dan Pullulanase. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh konsentrasi substrat terhadap proses sakarifikasi. Hidrolisat disakarifikasi dalam water bath dengan kecepatan pengadukan 100 rpm selama 84 jam dengan suhu 60°C. Parameter yang diamati yaitu gula pereduksi, dekstrose equivalen (DE) dan tingkat kemanisan. Dari penelitian didapatkan konsentrasi substrat yang optimal adalah 35 % dengan gula Pereduksi 309,319. DE 88,377 dan tingkat kemanisan 30,05.

Kata Kunci : Amiloglukosidase, Dekstrose equivalen (DE), Gula pereduksi, Pati ubi jalar putih, Pullulanase, Tingkat kemanisan.

PENDAHULUAN

Gula merupakan salah satu kebutuhan pokok masyarakat. Gula dapat dimanfaatkan sebagai pemanis maupun sebagai bahan tambahan dalam proses produksi industri makanan dan minuman. Industri makanan dan minuman saat ini memiliki kecenderungan untuk menggunakan sirup glukosa. Hal ini didasari oleh beberapa kelebihan sirup glukosa dibandingkan sukrosa diantaranya sirup glukosa tidak mengkristal seperti halnya sukrosa jika dilakukan pemasakan pada suhu tinggi, inti kristal tidak terbentuk sampai larutan sirup glukosa mencapai kejenuhan 75% (Sa'id, 1987).

Bahan baku untuk pembuatan sirup glukosa adalah pati, misalnya ubi jalar, sagu, jagung, tapioca dan lain-lainnya. Sirup glukosa atau sering juga disebut gula cair mengandung D-glukosa, maltosa, dan polimer D-glukosa yang dibuat melalui proses hidrolisis pati. Proses hidrolisis pati menjadi sirup glukosa dapat menggunakan katalis enzim.

Hidrolisa enzim dilakukan menggunakan bantuan enzim α -amilase dan enzim glucoamilase (amiloglukosidase). Enzim α -amilase digunakan pada proses likuifikasi, sedangkan glucoamilase digunakan pada proses sakarifikasi. Enzim amiloglukosidase mampu menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul glukosa. Enzim glucoamilase dapat diperoleh dari strain *Aspergillus niger* atau *Rhizopus* (Tjokroadikoesoemo 1986). Penelitian yang dilakukan Risnoyatiningih (2011) yang berjudul Hidrolisis Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa

Secara Enzimatis, menggunakan enzim AMG yang dihasilkan konversi gula 66,08 %.

Dalam Penelitian proses sakarifikasi digunakan dua jenis enzim yaitu AMG dan Pullulanase. Penggunaan pullulanase dimaksudkan agar rantai cabang dalam pati terpotong sehingga menghasilkan konversi pati menjadi lebih besar. Waktu dan konsentrasi substrat sangat mempengaruhi proses sakarifikasi sehingga pada penelitian ini ingin diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap produksi gula dekstrosa.

Rumusan Masalah

1. Berapa banyak gula dekstrosa yang terbentuk
2. Berapa banyak DE gula dekstrosa yang dihasilkan
3. Bagaimana menentukan konsentrasi substrat yang optimal

Tujuan Penelitian

1. Menentukan berapa banyak gula dekstrosa yang terbentuk
2. Menentukan berapa banyak DE gula dekstrosa yang dihasilkan
3. Menentukan konsentrasi substrat yang optimal pada reaksi sakarifikasi

Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan berapa banyak gula dekstrosa yang terbentuk
2. Mendapatkan berapa banyak DE gula dekstrosa yang dihasilkan
3. Mendapatkan konsentrasi substrat yang optimal pada reaksi sakarifikasi

4. Mendapatkan metode sakharifikasi pati ubi jalar putih yang optimal.

TINJAUAN PUSTAKA

Ubi Jalar

Ubi jalar atau ketela rambat (*Ipomoea batatas* L.) adalah sejenis tanaman budidaya. Bagian yang dimanfaatkan adalah akarnya yang membentuk umbi dengan kadar gizi (karbohidrat) yang tinggi. Di Afrika, umbi ubi jalar menjadi salah satu sumber makanan pokok yang penting. Di Asia, selain dimanfaatkan umbinya, daun muda ubi jalar juga dibuat sayuran. Terdapat pula ubi jalar yang dijadikan tanaman hias karena keindahan daunnya.

Ubi jalar berasal dari Amerika Selatan tropis dan, yang masih diperdebatkan, Papua. Kalangan yang tidak menyetujui asal muasal ubi jalar dari Papua berpendapat bahwa orang Indian telah berlayar menuju ke barat melalui Samudra Pasifik dan membantu menyebarkan ubi jalar ke Asia. Proposal ini banyak ditentang karena bertentangan dengan fakta-fakta klimatologi dan antropologi.

Tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) mempunyai daya adaptasi lingkungan yang luas, dapat tumbuh di daerah tropis maupun subtropis pada ketinggian 0 sampai 3000 m di atas permukaan laut dan pada berbagai kondisi tanah (Rahayuningsih dkk., 2000). Ubi jalar adalah jenis tanaman yang mempunyai daya tumbuh yang tinggi (97-100 %) dan mempunyai daya tahan dari serangan hama. Ubi jalar memiliki empat varietas (klon) yang berbeda warna daging umbinya, yaitu Sukeh (putih), Sari (krem), Pakhong (kuning muda) dan Ayamurasaki (ungu tua) (Rahayuningsih dkk. 2000).

Ubi jalar dapat dipanen dua sampai tiga kali setahun dengan produktifitas yang cukup tinggi yakni rata-rata 25,30 t/ha (Limbongan dan Soplanit, 2007). Tepung dan kadar pati ubi jalar tergantung dari varietas serta usia selama panen. Pemanenan 120 hari dianggap optimal untuk mendapatkan hasil pati yang tinggi. Kadar pati turun signifikan ketika panen tertunda melebihi 150 hari (Ukom *et al.*, 2009).

Karbohidrat merupakan kandungan utama dari ubi jalar. Selain itu, ubi jalar juga mengandung vitamin, mineral, fitokimia (antioksidan) dan serat (pektin, selulosa, hemiselulosa), selain itu beberapa kultivar juga mengandung karatenoid yang tinggi (Ukom *et al.*, 2009). Kadar pati di dalam ubi jalar segar sekitar 20%. Pati ubi jalar

berbentuk bulat sampai oval, dengan diameter 3 – 40 μm dengan kandungan fraksi amilosa sekitar 15 – 25% (Ukom *et al.*, 2009).

Pengolahan ubi jalar menjadi pati, warna daging mempengaruhi pati ubi jalar yang dihasilkan. Secara umum, ubi jalar dengan warna daging putih atau kekuningan putih lebih disukai daripada daging yang dengan warna oranye. Perendaman irisan umbi di dalam air selama 20 jam dengan penggunaan 0,5-1 persen natrium bisulfit menghasilkan warna tepung yang cerah (Rahayuningsih dkk. 2000).

Pati

Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan \pm -glikosidik, yang banyak terdapat pada tumbuhan terutama pada biji-bijian, umbi-umbian. Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai atom karbonnya, serta lurus atau bercabang (Jane, 1995; Koswara, 2006).

Dalam bentuk aslinya secara alami pati merupakan butiran-butiran kecil yang sering disebut granula. Bentuk dan ukuran granula merupakan karakteristik setiap jenis pati, karena itu digunakan untuk identifikasi. Pati tersusun paling sedikit oleh tiga komponen utama yaitu amilosa, amilopektin dan material antara seperti, protein dan lemak. Umumnya pati mengandung 15-30% amilosa, 70-85% amilopektin dan 5-10% material antara. Struktur dan jenis material antara tiap sumber pati berbeda tergantung sifat-sifat botani sumber pati tersebut (Greenwood dkk., 1979).

Sumber pati utama di Indonesia adalah beras. Disamping itu dijumpai beberapa sumber pati lainnya yaitu; ubi jalar, jagung, kentang, tapioka, sagu, gandum, dan lain-lain (Tharanathan dkk., 2005). Dalam keadaan murni granula pati berwarna putih, mengkilat, tidak berbau dan tidak berasa, dimana secara mikroskopik granula pati dibentuk oleh molekul-molekul yang membentuk lapisan tipis yang tersusun terpusat (Koswara, 2006; Niba dkk., 2002).

Granula Pati

Pati dalam jaringan tanaman mempunyai bentuk granula (butiran) yang berbeda-beda. Penampakan mikroskopik dari granula pati seperti bentuk, ukuran, keseragaman, bersifat khas untuk

setiap jenis pati. Bentuk butiran pati secara fisik berupa semikristalin yang terdiri dari unit kristal dan unit amorf (Greenwood dkk., 1979). Unit kristal lebih tahan terhadap perlakuan asam kuat dan enzim. Bagian amorf dapat menyerap air dingin sampai 30% tanpa merusak struktur pati secara keseluruhan (Jane, 1995).

Pati yang berasal dari biji-bijian tertentu hanya mengandung amilopektin saja yang dikenal dengan istilah *waxy* atau lilin. Spesies yang penting adalah sorgum lilin, jagung lilin dan beras lilin (Jane, 1995).

Granula pati bervariasi dalam bentuk dan ukuran, dimana ada yang berbentuk bulat, oval, atau bentuk tak beraturan. Demikian juga ukurannya, mulai kurang dari 1 mikron sampai 150 mikron ini tergantung sumber patinya

Amilosa

Pati adalah karbohidrat yang merupakan polimer glukosa yang terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan bagian polimer dengan ikatan α - (1,4) dari unit glukosa, yang membentuk rantai lurus, yang umumnya dikatakan sebagai linier dari pati. Meskipun sebenarnya amilase dihidrolisa dengan β -amilase pada beberapa jenis pati tidak diperoleh hasil hidrolisis yang sempurna, β -amilase menghidrolisis amilosa menjadi unit-unit residu glukosa dengan memutus ikatan α -(1,4) dari ujung non pereduksi rantai amilosa menghasilkan maltosa (Hee-Joung An, 2005).

Suatu karakteristik dari amilosa dalam suatu larutan adalah kecenderungan membentuk koil yang sangat panjang dan fleksibel yang selalu bergerak melingkar. Struktur ini mendasari terjadinya interaksi iod amilosa membentuk warna biru. Dalam masakan, amilosa memberikan efek keras bagi pati. Struktur rantai amilosa cenderung membentuk rantai yang linear (Hee-Joung An, 2005).

Amilopektin

Amilopektin seperti amilosa juga mempunyai ikatan α -(1,4) pada rantai lurusnya, serta ikatan β -(1,6) pada titik percabangannya. Struktur rantai amilopektin cenderung membentuk rantai yang bercabang. Ikatan percabangan tersebut berjumlah sekitar 4-5 % dari seluruh ikatan yang ada pada amilopektin (Ann-Charlotte Eliasson,

2004). Biasanya amilopektin mengandung 1000 atau lebih unit molekul glukosa untuk setiap rantai. Berat molekul amilopektin glukosa untuk setiap rantai bervariasi tergantung pada sumbernya. Amilopektin pada pati umbi-umbian mengandung sejumlah kecil ester fosfat yang terikat pada atom karbon ke 6 dari cincin glukosa (Koswara, 2006).

Amilopektin dan amilosa mempunyai sifat fisik yang berbeda. Amilosa lebih mudah larut dalam air dibandingkan amilopektin. Bila amilosa direaksikan dengan larutan iod akan membentuk warna biru tua, sedangkan amilopektin akan membentuk warna merah (Greenwood dkk., 1979).

Dalam produk makanan, amilopektin bersifat merangsang terjadinya proses mekar (*puffing*) dimana produk makan yang berasal dari pati yang kandungan amilopektinnya tinggi akan bersifat ringan, porous, garing dan renyah. Kebalikannya pati dengan kandungan amilosa tinggi, cenderung menghasilkan produk yang keras, pejal, karena proses mekarnya terjadi secara terbatas (Hee-Joung An, 2005).

Hidrolisis Pati

Hidrolisis adalah proses dekomposisi kimia dengan menggunakan air untuk memisahkan ikatan kimia dari substansinya. Hidrolisis pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa (Purba, 2009).

Proses hidrolisis pati menjadi sirup glukosa dapat menggunakan katalis enzim, asam atau gabungan keduanya. Hidrolisis secara enzimatis memiliki perbedaan mendasar dengan hidrolisis secara asam. Hidrolisis secara asam memutus rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisis secara enzimatis memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu. Hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibandingkan hidrolisis asam, karena prosesnya lebih spesifik, kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dan kerusakan warna dapat diminimalkan (Virlandi, 2008).

Menurut Purba (2009) proses hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: Enzim, ukuran partikel, Suhu, pH, waktu hidrolisis, perbandingan cairan terhadap bahan baku (volume substrat), dan pengadukan. Enzim yang dapat digunakan adalah α -amilase, β -amilase, amiloglukosidase, glukosa isomerase, pullulanase, dan isoamilase. Enzim yang biasa digunakan untuk proses pembuatan sirup glukosa secara sinergis adalah enzim α -amilase dan enzim glukamilase. Enzim α -amilase akan memotong ikatan amilosa dengan cepat pada pati kental yang telah mengalami gelatinisasi. Kemudian enzim glukamilase akan menguraikan pati secara sempurna menjadi glukosa pada tahap sakarifikasi.

Secara garis besar, tahap hidrolisis pati Menurut Purba (2009) adalah gelatinisasi, likuifikasi dan sakarifikasi

Gelatinisasi

Gelatinisasi, yaitu memecah pati yang berbentuk granular menjadi suspensi yang viscous. Granular pati dibuat membengkak akibat peningkatan volume oleh air dan tidak dapat kembali lagi ke kondisi semula. Perubahan inilah yang disebut gelatinisasi. Suhu pada saat granular pecah disebut suhu gelatinisasi yang dapat dilakukan dengan adanya panas

Liquifikasi

Tahap liquifikasi secara enzimatis merupakan proses hidrolisa pati menjadi dekstrin oleh enzim pada suhu diatas suhu gelatinisasi dan pH optimum aktivitas enzim, selama waktu yang telah ditentukan untuk setiap jenis enzim. Proses liquifikasi selesai ditandai dengan parameter dimana larutan menjadi lebih encer seperti sup.

Sakarifikasi

Tahap sakarifikasi adalah tahap pemecahan gula kompleks menjadi gula sederhana dengan penambahan enzim glukamilase. Pada tahap ini dekstrin diubah menjadi glukosa.

Sirup Glukosa

Glukosa merupakan monosakarida yang ada di alam sebagai produk fotosintesis. Dalam bentuk bebas, glukosa terdapat di dalam buah-buahan, sayur-sayuran, madu, darah dan cairan tubuh. Selain itu, glukosa juga dapat dihasilkan melalui hidrolisis polisakarida atau disakarida baik dengan asam, enzim atau gabungan keduanya. Sirup glukosa merupakan larutan dengan kekentalan antara 32-35 °Be yang dihasilkan melalui hidrolisis pati dengan katalis asam, enzim dan gabungan keduanya. Zat pati yang dapat dihidrolisis berasal dari bahan yang mengandung pati seperti jagung, gandum, ubi kayu, dan sebagainya (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Hidrolisis dengan menggunakan enzim memberikan keuntungan antara lain produk lebih murni, biaya pemurnian lebih murah dan tanpa produk-produk sampingan yang berbahaya. Hidrolisa pati kimpul ini menggunakan enzim alfa amilase dan glukamilase sebagai biokatalis. Enzim α -amilase ini berfungsi dalam hidrolisa molekul pati, glikogen dan α -1,4-glukan. Viskositas larutan pati secara cepat menurun pada saat terjadi hidrolisis oleh α -amilase (terjadi likuifikasi pati). Enzim glukamilase (EC. 3.2.1.3) atau sering disebut amiloglukosidase atau α -1,4-glukan glukohidrolase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisa ikatan α -1,4 pada rantai amilosa, amilopektin, glikogen, dan pullulan. Enzim glukamilase juga dapat menyerang ikatan α -1,6 pada titik percabangan, walaupun dengan laju yang lebih rendah. Hal ini berarti bahwa pati dapat diuraikan secara sempurna menjadi glukosa (Azwar dan Erwanti, 2008).

Kadar glukosa yang terbesar yaitu terdapat pada kondisi suhu sakarifikasi 65 °C dan 35% suspensi pati. Hal ini disebabkan adanya aktivitas enzim yang bertambah dengan naiknya suhu sampai pada aktivitas optimumnya dicapai, dan kenaikan suhu lebih lanjut berakibat pada berkurangnya aktivitas enzim hingga pada akhirnya terjadi denaturasi enzim. Pada proses sakarifikasi menggunakan enzim glukamilase yang bekerja dengan baik pada kondisi 35% suspensi pati dan suhu sakarifikasi 65 °C dan apabila terjadi kenaikan dan penurunan dari kondisi operasi tersebut, maka akan terjadi penurunan kadar glukosa (Azwar dan Erwanti, 2008).

Sifat-sifat produk hidrolisis meliputi kelarutan dan kemanisan, dimana dekstrosa lebih larut dibandingkan dengan sukrosa. Dekstrosa tidak

mengkristal secepat sukrosa. Pembentukan inti Kristal pada larutan dekstrosa baru terjadi setelah kondisi lewat jenuh mencapai 75%. Kelarutan dekstrosa yang rendah tersebut berarti bahwa hidrolisat-hidrolisat pati dengan kandungan bahan kering yang umum (sekitar 76-82% berat) harus disimpan pada suhu yang agak tinggi agar dekstrosa tidak mengkristal sedangkan kemanisan *glucose syrup* meningkat sehubungan dengan meningkatnya konsentrasi larutan (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Pada hidrolisis sempurna, pati seluruhnya dikonversi menjadi dekstrosa, derajat konversi tersebut dinyatakan dengan *dextrose equivalent* (DE), dari larutan tersebut diberi indeks 100 (Tjokroadikoesoemo, 1986). *Dextrose Equivalent* (DE) adalah besaran yang menyatakan nilai total pereduksi pati atau produk modifikasi pati dalam satuan persen. Semakin besar DE berarti semakin besar juga persentase pati yang berubah menjadi gula pereduksi (Lynn, 1997).

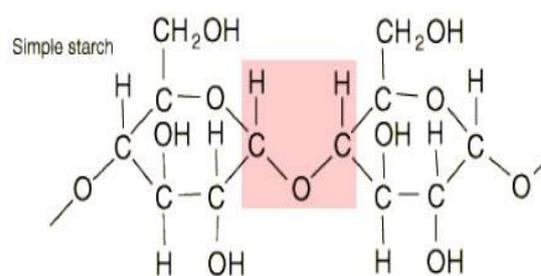
Enzim

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia organik. Molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk. Jenis produk yang akan dihasilkan bergantung pada suatu kondisi/zat, yang disebut promotor. Semua proses biologis sel memerlukan enzim agar dapat berlangsung dengan cukup cepat dalam suatu arah lintasan metabolisme yang ditentukan oleh hormon sebagai promotor. Enzim bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat untuk menghasilkan senyawa intermediat melalui suatu reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah, sehingga percepatan reaksi kimia terjadi karena reaksi kimia dengan energi aktivasi lebih tinggi membutuhkan waktu lebih lama (Lehninger, 1993).

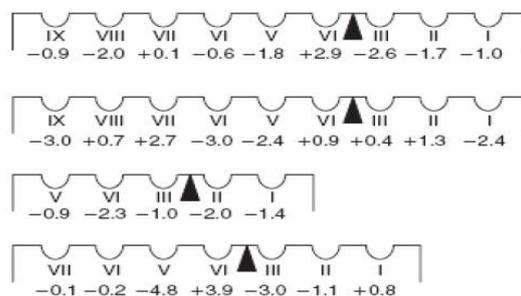
Beberapa jenis enzim yang sering digunakan dalam menghidrolisis pati, menurut Lehninger (1993), yaitu α -amilase, pullulanase, dan amiloglukosidase (AMG) yang memiliki karakteristik yang berbeda-beda satu-sama lainnya.

II.5.1. Alfa amilase

Enzim alfa-amilase, atau yang biasa disebut juga 1,4- α -D-glucan *glucanohydrolase* (karena hanya memotong pada ikatan α 1,4 pada ikatan glikosida), biasa juga disebut pancreatic alpha-amilase adalah salah satu enzim yang berperan dalam proses degradasi pati, sejenis makromolekul karbohidrat. Struktur molekuler dari enzim ini adalah α -1,4-glukanohidrolase. Bersama dengan enzim pendegradasi pati lain, pululanase, α -amilase termasuk ke dalam golongan enzim kelas 3 glikosil hidrolase. Alpha-amilase ini memiliki beberapa sisi aktif yang dapat mengikat 4 hingga 10 molekul substrat sekaligus sehingga proses hidrolisisnya lebih cepat.



Gambar 1. Ikatan α 1,4 Glikosida Yang Diputus Oleh Enzim Alfa Amilase Alfa-amilase pada umumnya aktif bekerja pada kisaran suhu 25 °C hingga 95 °C. Penambahan ion kalsium dan klorida dapat meningkatkan aktivitas kerja dan menjaga kestabilan enzim ini. Alfa-amilase akan memotong ikatan glikosidik α -1,4 pada molekul pati (karbohidrat) sehingga terbentuk molekul-molekul karbohidrat yang lebih pendek. Hasil dari pemotongan enzim ini antara lain maltosa, maltotriosa, dan glukosa.



Gambar 2. Representatif Lokasi Pemutusan yang Dilakukan Secara Acak oleh Enzim Alfa Amilase (Segitiga Hitam Adalah Lokasi Untuk Memotong

Kerja enzim ini bersifat endo enzim yaitu memotong ikatan α 1,4 glikosida pada amilosa

ataupun amilopektin dari dalam dan memotong secara acak, enzim ini juga bekerja pada pati yang telah tergelatinisasi. Pada hidrolisis pati mentah enzim ini dihasilkan oleh *Saccaromyces cerevisiae* (*Raw starch digesting amilase*). Alfa amilase biasa juga disebut sebagai *liquifying* enzim, karena enzim alfa amilase bekerja pada proses liquifikasi yg memecah pati menjadi rantai yang lebih pendek.

Enzim alpha-amilase merupakan enzim yang banyak digunakan pada berbagai macam makanan, minuman, detergen, industri pemrosesan dan industri tekstil. Enzim ini terdapat dialam misalnya pada: Bisa dalam bentuk tepung malt, gandum yang berkecambah; berasal dari bakteri *Bacillus subtilis*; Disintesa kapang *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*; Bisa berasal dari cacing tanah; Pakai cendawan *Aspergillus sp.* Bisa berasal dari pancreas sapi dan babi; dan banyak terdapat di air ludah dan pencernaan manusia.

Enzim α -amilase yang diisolasi dari *Bacillus Subtilis* sangat stabil pada suhu tinggi. Tergantung kepada pemanfaatannya, suhu optimum untuk enzim ini adalah 70-90 °C. pada suhu rendah, enzim ini masih cukup stabil meskipun pada pH dibawah 6. Walaupun demikian enzim ini tidak dapat dihadapkan pada pH dibawah 5. Pada suhu 70 °C enzim ini dengan cepat kehilangan aktivitasnya jika pH dibawah 6. Namun pada suhu tersebut enzim ini cukup stabil dalam kisaran antara 6-10. Kondisi optimum untuk proses hidrolisis pati dalam industri adalah pH 6-6,5. *Liquifaction* tahap pertama dengan *jet cooker* dilakukan pada suhu 105 °C. dan tahap berikutnya pada 95 °C selama 15-30 menit didalam tangki khusus. Bakteri lain yang menghasilkan α -amilase yaitu *Bacillus licheniformis*. pH optimum untuk enzim ini sekitar 6 pada suhu 60 °C. Jika suhu ditingkatkan pH optimum juga meningkat sekitar 7. Jika α -amilase yang diperoleh dari *B. Subtilis* menghidrolisis pati dengan hasil utama maltoheksosa, maltopentosa dan sedikit glukosa (4-5%), maka α -amilase yang dihasilkan oleh *B. Licheniformis* menghasilkan maltosa, maltoriosa, dan maltopentosa, glukosa yang dihasilkan agak lebih tinggi yaitu 8-10%.

Enzim α -amilase yang diperoleh dari fungi banyak dihasilkan dari *Aspergillus oryzae*. Di dalam hidrolisis, enzim ini mula-mula berkelakuan seperti maltenzyme atau enzim dari bakteri. Namun pada tahap berikutnya, lebih banyak maltosa dan maltoriosa yang terbentuk. Sedikit atau banyak α -amilase dari fungi ini berkelakuan seperti gabungan antara α dan β

amilase dari malt. Meskipun enzim ini diperdagangkan dalam bentuk serbuk, namun enzim ini sangat mudah larut dalam air. Suhu optimumnya yaitu pada suhu 50 °C pada saat pelarutan, meskipun aktivitas enzim meningkat pada suhu 55 °C, namun aktivitas tersebut cepat menurun, demikian juga stabilitasnya. Untuk reaksi dalam waktu pendek, pH optimum adalah sekitar 4,7.

Pullulanase

Pullulanase adalah enzim pemecah ikatan α -1,6 pada gugus makromolekul karbohidrat, seperti pati. Ikatan α -1,6 berperan dalam pembentukan struktur percabangan pada karbohidrat. Bersama dengan enzim α -amilase, pullulanase dapat menghasilkan pemotongan molekul karbohidrat yang sempurna. Enzim ini dapat diperoleh pada ekstrak beras dan kacang-kacangan.

Beberapa jenis mikroorganisme mesofilik juga dapat menyintesis enzim ini, seperti *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Bacillus*, dan *Streptomyces*.

Pullulanase yang dihasilkan oleh bakteri mesofilik ini tidak bersifat tahan suhu tinggi, sehingga suhu kerjanya tidak boleh melebihi 60 °C. Apabila suhunya melebihi batas tersebut maka enzim ini akan mengalami denaturasi yang menyebabkan kerusakan struktur protein secara umum. Walau demikian, terdapat beberapa jenis enzim pullulanase yang bersifat tahan suhu tinggi. Enzim ini diperoleh dari bakteri *Thermus caldophilus*. Penelitian menunjukkan bahwa enzim pullulanase yang diperoleh dari bakteri ini mampu bertahan hingga suhu 90 °C (Nakamura *et al.*, 1989).

Enzim ini memiliki spesifikasi memutus ikatan cabang pada α 1,6 glikosida. Bersifat exoenzim amilolitik. Contoh jenis enzim ini antara lain contoh iso-amilase dan limit dekstrinase. Hasil pemutusan oleh ini enzim ini menghasilkan pati rantai panjang dan limit dekstrin. Dalam berbagai pengolahan untuk menghasilkan gula, digunakan variasi penggunaan berbagai jenis enzim yang digunakan secara bertahap (BeMiller, 2009)

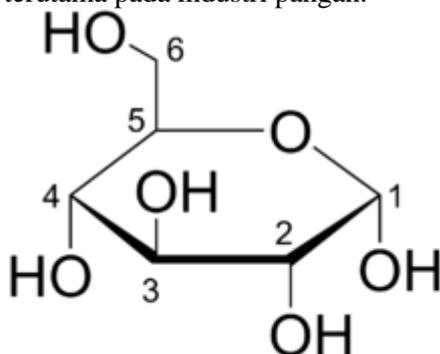
Amiloglukosidase (AMG)

Amiloglukosidase (AMG) adalah salah satu yang berperan dalam proses sakarifikasi pati. Serupa dengan enzim beta-amilase, glukoamilase dapat memecah struktur pati yang merupakan polisakarida kompleks berukuran besar menjadi molekul yang berukuran kecil. Kelebihan enzim ini yaitu selain memutus ikatan α 1,4 glikosida,

juga memutus ikatan α 1,6 glikosida. Enzim ini bersifat eksoenzim. Pada umumnya, enzim ini bekerja pada suhu 45-60 °C dengan kisaran pH 4,5-5,0. Produk akhir yang dihasilkan dari enzim ini yaitu glukosa. Enzim ini memiliki peranan yang cukup besar di dalam metabolisme energi di berbagai jenis organisme. Oleh karena itu, enzim ini banyak ditemukan pada beragam jenis tanaman dan mikroorganisme, seperti *Saccharomyces*, *Endomycopsis*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, dan *Clostridium* (Tjokroadikoesoemo, 1989).

Glukosa

Glukosa suatu gula monosakarida, adalah salah satu karbohidrat terpenting yang digunakan sebagai sumber tenaga bagi hewan dan tumbuhan. Glukosa merupakan salah satu hasil utama fotosintesis dan awal bagi respirasi. Bentuk alami (D-glukosa) disebut juga **dekstrosa**, terutama pada industri pangan.

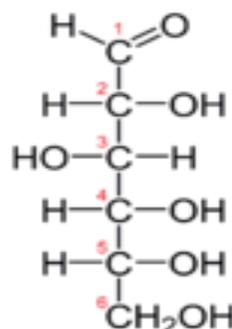


Gambaran proyeksi Haworthstruktur glukosa (α -D-glukopiranososa)

Glukosa ($C_6H_{12}O_6$, berat molekul 180.18) adalah heksosa-monosakarida yang mengandung enam atom karbon. Glukosa merupakan aldehida (mengandung gugus -CHO). Lima karbon dan satu oksigennya membentuk cincin yang disebut "cincin piranososa", bentuk paling stabil untuk aldosa berkabon enam. Dalam cincin ini, tiap karbon terikat pada gugus samping hidroksil dan hydrogen kecuali atom kelimanya, yang terikat pada atom karbon keenam di luar cincin, membentuk suatu gugus CH_2OH . Struktur cincin ini berada dalam kesetimbangan dengan bentuk yang lebih reaktif, yang proporsinya 0.0026% pada pH 7.

Glukosa merupakan sumber tenaga yang terdapat di mana-mana dalam biologi. Kita dapat menduga alasan mengapa glukosa, dan bukan monosakarida lain seperti fruktosa, begitu banyak digunakan. Glukosa dapat dibentuk dari formaldehida pada keadaan abiotik, sehingga akan mudah tersedia bagi sistem biokimia primitif.

Hal yang lebih penting bagi organisme tingkat atas adalah kecenderungan glukosa, dibandingkan dengan gula heksosa lainnya, yang tidak mudah bereaksi secara nonspesifik dengan gugus amino suatu protein. Reaksi ini (glikosilasi) mereduksi atau bahkan merusak fungsi berbagai enzim. Rendahnya laju glikosilasi ini dikarenakan glukosa yang kebanyakan berada dalam isomer siklik yang kurang reaktif. Meski begitu, komplikasi akut seperti diabetes, kebutaan, gagal ginjal, dan kerusakan saraf perifer (‘peripheral neuropathy’), kemungkinan disebabkan oleh glikosilasi protein.



Bentuk rantai D-Glukosa.

Dalam respirasi, melalui serangkaian reaksi terkatalisis enzim, glukosa teroksidasi hingga akhirnya membentuk karbon dioksida dan air, menghasilkan energi, terutama dalam bentuk ATP. Sebelum digunakan, glukosa dipecah dari polisakarida.

METODE PENELITIAN

Tempat Dan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pangan Unhas

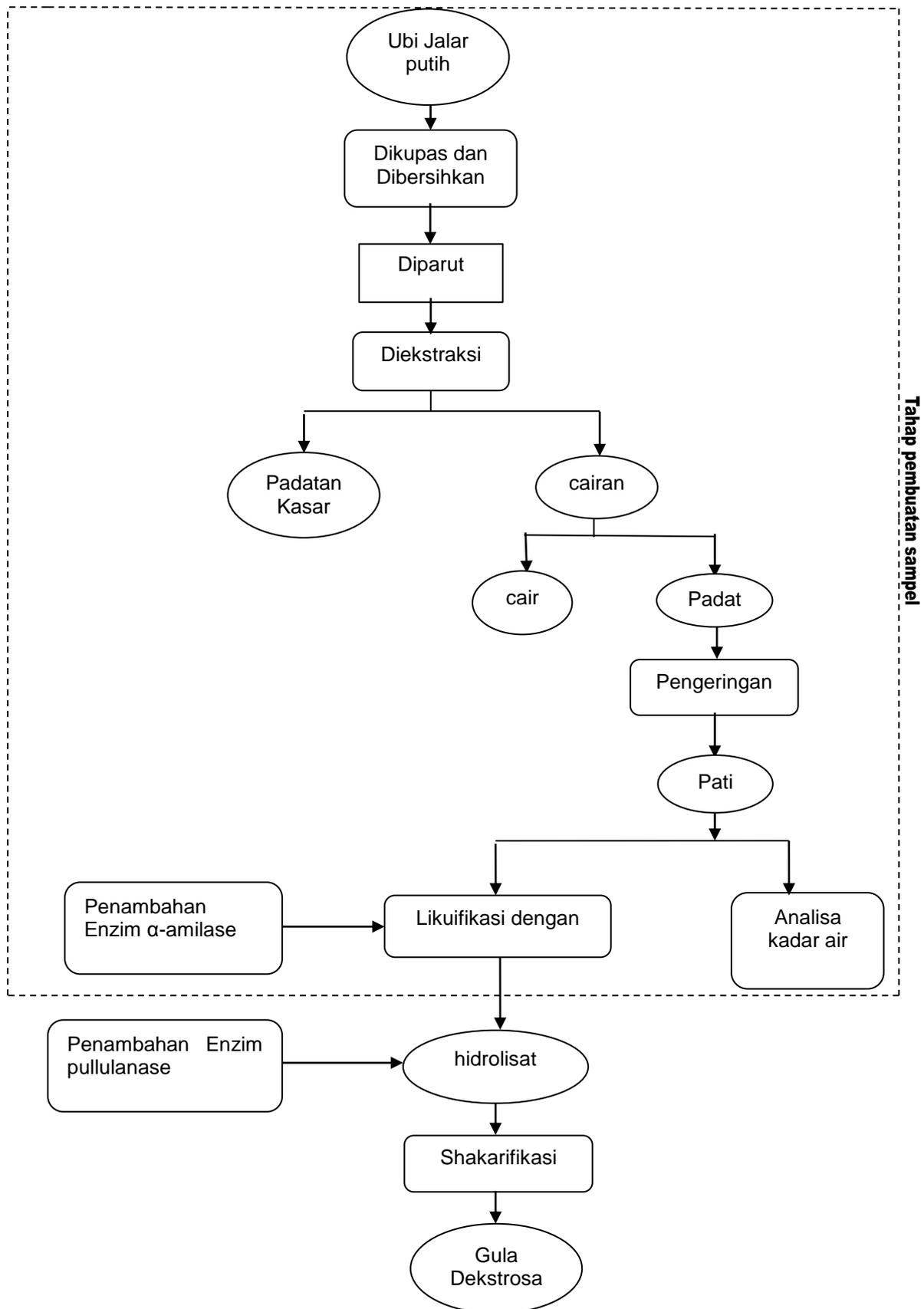
Bahan yang di gunakan

1. Ubi jalar putih
2. Enzim α -amilase (Termamyl 120 KNU/g)
3. Pullulanase
4. Amiloglukosedase
5. Pb-asetat
6. $CaCl_2$
7. $CaCO_3$
8. PbO
9. Asam dinitrosalisilat (DNS)
10. NaOH
11. NaK-tartrat
12. fenol
13. Na-metabisilfi

Alat yang digunakan

1. Pisau
2. Mesin pamarut
3. Peralatan ekstraksi
4. Hot plate stirer
5. Shaker inkubator
6. Kolom penyaringan
7. Evaporator
8. Oven
9. Spektrofotometer
10. pH meter
11. Mikropipet
12. Kuvet
13. Sentrifugasi
14. Erlenmeyer
15. Peralatan gelas lainnya

Gambar 3. Diagram Alir



Produksi Sirup Glukosa

Proses produksi sirup glukosa dilakukan dengan melibatkan 3 (tiga) jenis enzim, yakni α -amilase, pullulanase dan amilodlukosidase. Proses produksi mulai dengan melakukan likuifikasi dengan α -amilase kemudian dilanjutkan dengan proses sakharifikasi secara enzimatik menggunakan enzim glukamilase dan enzim *debranching*.

Pada proses sakharifikasi menurut Kanno (1988) digunakan glukamilase dari *A. niger* (200 AGU/ml) sebanyak 0,8 ml/kg substrat dan enzim *debranching* (pullulanase) (200 PUN/g) sebanyak 0,3 g/kg substrat. Keasaman diatur pada pH 4,5

Dari penelitian penentuan waktu sakrifikasi pati ubi jalar putih didapatkan waktu optimal 72 jam (Hermawati)

Penentuan Konsentrasi Substrat (Hidrolisat) yang Optimal

Setelah lama reaksi pembentukan glukosa yang optimal sudah diketahui, maka dilanjutkan dengan variasi penggunaan konsentrasi substrat. Konsentrasi substrat (hidrolisat pati ubi jalar) yang akan digunakan adalah 30, 35 dan 40% b/v. Kondisi reaksi sakharifikasi sama pada tahap pertama yakni, keasaman substrat diatur pada pH 4,5 lalu ditambahkan enzim glukamilase (200 AGU/ml) sebanyak 0,8 ml/kg substrat dan enzim *debranching* (pullulanase) (200 PUN/g) sebanyak 0,3 g/kg substrat. Tahap selanjutnya adalah reaksi sakharifikasi pada suhu 60 °C dengan lama reaksi terbaik yang diperoleh pada tahap sebelumnya. Penelitian dilakukan dengan ulangan sebanyak 2 kali. Parameter yang diamati adalah kadar gula pereduksi metode DNS, dekstrosa equivalent (DE), tingkat kemanisan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sirup glukosa atau gula cair merupakan monosakarida yang dihasilkan dari proses hidrolisis pati ubi jalar putih menggunakan katalis enzim α -amilase, pullulanase, dan amiloglukosidase.

Penggunaan enzim pada proses likuifikasi yaitu α -amilase yang berfungsi untuk memotong ikatan glikosidik α -1,4 pada molekul pati (karbohidrat) sehingga menghasilkan molekul-molekul yang lebih pendek. Kemudian dilanjutkan pada proses sakharifikasi pada suhu 60 °C dengan menggunakan enzim **amiloglukosidase** yang memutus ikatan α 1,4 glikosida. Selain **amiloglukosidase**, enzim **pullulanase**

digunakan juga yang berfungsi untuk pemecah ikatan α -1,6 pada gugus makromolekul karbohidrat.

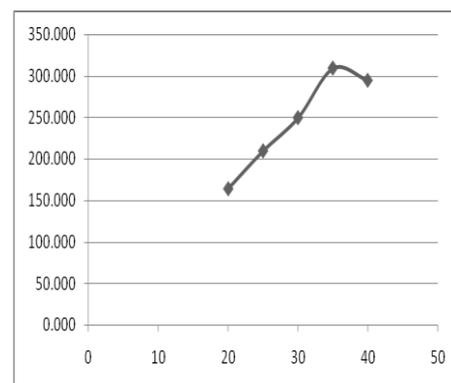
Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Sakharifikasi

Waktu optimum yang sudah didapatkan pada penelitian sebelumnya didapatkan pada waktu 72 jam dan digunakan untuk menentukan pengaruh konsentrasi substrat terhadap sakharifikasi. Setelah itu waktu optimum yang sudah didapat divariasikan dengan konsentrasi 20 %, 25 %, 30 %, 35 % dan 40 %. Kemudian dianalisis gula pereduksi dan tingkat kemanisannya.

1. Gula Pereduksi

Analisa gula pereduksi menggunakan metode DNS dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Sebelum dianalisis larutan gula pereduksi di jernihkan terlebih dahulu menggunakan larutan penjernih untuk menghilangkan padatan-padatannya.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini terhadap gula pereduksi pada pengaruh konsentrasi substrat terhadap sakharifikasi dapat dilihat pada gambar 7. Dari gambar 7 didapatkan bahwa nilai konsentrasi gula pereduksi kecenderungannya meningkat. Pada konsentrasi 35 % didapatkan nilai optimum 309,319 g/L. Setelah konsentrasi 35 % nilai konsentrasi gula pereduksi kecenderungan mengalami penurunan. Hal ini memungkinkan karena gula pereduksi yang terbentuk dipengaruhi oleh total padatan sehingga proses kerja enzim tidak begitu baik.



Gambar 7. Grafik Perubahan Gula Pereduksi Pada Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Sakharifikasi.

Saat konsentrasi substrat naik maka konsentrasi glukosa akan semakin naik, namun jika substrat melebihi dari optimum maka konversinya menjadi turun. Konsentrasi substrat

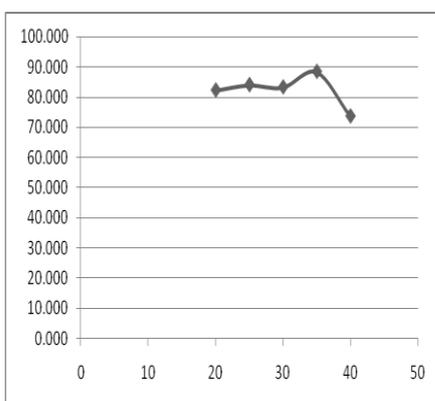
pati yang tinggi akan memberikan efek kestabilan pada enzim, namun dapat menyebabkan proses gelatinisasi tidak sempurna.

2. Destrosa Equivalen

Tingkat konversi pati menjadi komponen-komponen glukosa, maltose, dan dekstrin, dihitung sebagai dekstrosa equivalen (DE) adalah besaran yang menyatakan nilai total pereduksi pati atau produk modifikasi pati dalam satuan persen.

Hasil penelitian nilai dekstrosa equivalen pada pengaruh konsentrasi substrat terhadap sakharifikasi dapat dilihat pada gambar 8. Dari gambar 8 didapatkan bahwa nilai dekstrosa equivalen kecenderungannya mengalami peningkatan dan pada konsentrasi 35 % didapatkan nilai optimum 91,674 %. Besarnya nilai dekstrosa equivalen berbanding lurus dengan gula pereduksi dan berbanding terbalik dengan total padatan sehingga dari grafik terlihat peningkatan DE tidak terlalu besar. Total padatan yang tinggi jika konsentrasi substrat juga tinggi. Pada konsentrasi substrat 40 %, DE mengalami penurunan karena kelebihan substrat yang diberikan tidak terkonversi menjadi gula pereduksi karena enzim yang digunakan tetap. Aktivitas enzim akan menurun jika konsentrasi substrat melebihi konsentrasi optimumnya, karena kelebihan substrat dapat menjadi inhibitor bagi aktifitas enzim.

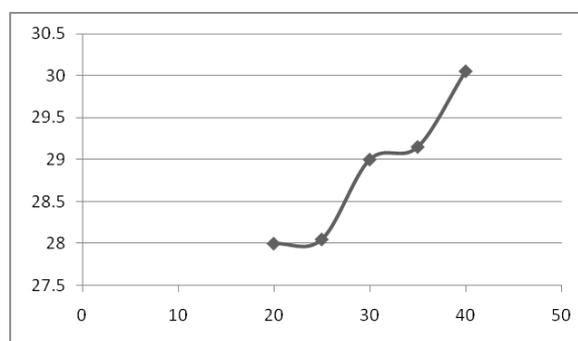
Semakin besar nilai DE berarti semakin besar juga persentase pati yang berubah menjadi gula pereduksi begitupula sebaliknya. Menurut Lynn (1997), bahwa banyaknya hidrolisis ikatan glukosida dari pati biasanya dijelaskan dengan dekstrosa equivalen (DE). Nilai dekstrose ekuivalen (DE) adalah kemanisan relatif gula, oligosakarida, atau berbanding dengan campuran dekstrose, baik dinyatakan sebagai peratusan. Semakin kecil kadar gula reduksi semakin kecil nilai DE.



Gambar 8. Grafik Perubahan Dekstrosa Equivalen Pada Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Sakharifikasi.

3. Tingkat Kemanisan

Parameter tingkat kemanisan diukur menggunakan alat Hand refraktometer brix 0 - 32 %. Hasil analisis tingkat kemanisan pada pengaruh konsentrasi substrat dapat dilihat pada gambar 9. Dari gambar 9 didapatkan bahwa nilai tingkat kemanisan cenderung mengalami peningkatan. Pada konsentrasi 40 %, tingkat kemanisan 30,05 %. Hal ini dimungkinkan karena total padatan yang lain selain gula pereduksi lebih banyak akibat penggunaan konsentrasi substrat yang lebih besar dari yang lainnya.



Gambar 9. Grafik Perubahan Tingkat Kemanisan Pada Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Sakharifikasi

Tingkat kemanisan sama halnya dengan banyaknya monosakarida yang terbentuk terutama glukosa yang merupakan produk akhir. Semakin tinggi glukosa yang terbentuk maka semakin tinggi pula tingkat kemanisan.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari penelitian didapatkan:

Konsentrasi substrat yang optimal adalah 35 % dengan gula Pereduksi 309,319 g/L, DE 88,377 % dan tingkat kemanisan 30,05 %

B. Saran

Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat melakukan penelitian dengan cara yang maksimal dengan memperhatikan setiap proses pembuatan gula dekstrosa cair agar selalu memperhatikan pengukuran pH serta memperhatikan bahaya kontaminasi mikroorganisme yang tidak dapat

menguntungkan pada alat dan bahan yang digunakan sehingga produk yang dihasilkan tidak dapat dimanfaatkan lebih lanjut untuk industri.

REFERENSI

- Azwar, D dan R. Erwanti. 2008. *Pembuatan Sirup Glukosa dari Kimpul (Xanthosomaviolaceumschott) dengan hidrolisa enzimatis*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.Semarang
- BeMiller, J.N., and R. Whistler,. 2009. *Starch: Chemistry and Technology*. Academic Press, Inc
- Greenwood, C.T. dan D.N. Munro.,1979, *Carbohydrates*. Di dalam R.J. Priestley,ed. *Effects of Heat on Foodstuffs*. Applied Science Publ. Ltd., London
- Hee-Young An., 2005, *Effects of Ozonation and Addition of Amino acids on Properties of Rice Starches*. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana
- Jane, J., 1995, *Starch Properties, Modifications, and Application*, Journal of Macromolecular Science, Part A.32:4,751-757.
- Koswara, 2006, *Teknologi Modifikasi Pati*. Ebook Pangan
- Lehninger, A.L. 1993. *Dasar-Dasar Biokimia. Jilid 1. Thenawidjaja M, Penerjemah; Jakarta : Erlangga. Terjemahan dari : Principles of Biochemistry*
- Limbongan J. dan A. Soplanit. 2007. Ketersediaan Teknologi dan Potensi Pengembangan Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L*) di Papua. J. Litbang Pertanian, 26(4). p131-138.
- Lynn, A.K. 1997. *Making the Most of Maltodextrins*.
www.foodproductdesign.comSamarang, Sitti. 2010. *Budidaya Sagu*.
<http://epetani.deptan.go.id/budidaya/budidaya-sagu-1442>. Akses Tanggal 28 februari 2014
- Parker K., M. Salas and V. C. Nwosu. 2010. High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. J. of Biotechnology and Molecular Biology Review Vol. 5(5), pp. 71 – 78
- Purba, E, (2009), “*Hidrolisis Pati Ubi Kayu (Manihot Esculenta) dan Pati Ubi Jalar (Ipomonea batatas) menjadi Glukosa secara Cold Process dengan Acid Fungal Amilase dan Glukoamilase*”, Universitas Lampung, Lampung.
- Rahayuningsi, Y.Widodo dan T. S. Wahyuni (2000). Evaluasi daya hasil klon harapan ubi jalar dan kondisi terdara kekeringan di Muneg. Edisi khusus Balitkabi No. 16 – 2000.
- Richana, N. 2006. *Gula Dari Kasava*, Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pasca Panen, Badan Litbang Pertanian, Jakarta.
- Tharanathan., Rudrapatman., 2005, *Starch-Value Addition by Modification*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Vol 45, 371-384.
- Tjokoadikoesoemo, P.S. 1986. *HFS dan industri Ubi kayu lainnya grameia*, Jakarta
- Ukom A.N., P.C. Ojmelukwe1 and D.A. Okpara. 2009. Nutrient Composition of Selected Sweet Potato [*Ipomea batatas (L) Lam*] Varieties as Influenced by Different Levels of Nitrogen Fertilizer Application. Pakistan Journal of Nutrition 8 (11): 1791-1795.
- Virlandia, F, (2008), “*Pembuatan Sirup Glukosa dari Pati Ubi Jalar (Ipomonea batatas) dengan metode Enzimatis*”.
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan Dan Gizi*, Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.