



## Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Enzim Terhadap Produk Gula Reduksi Pada Pembuatan Gula Cair dari Tepung Sorgum Merah Secara Hidrolisis Enzimatis

Ayu Ratna Permanasari<sup>1\*</sup>, Fitria Yulistiani<sup>2</sup>, Mira Auliya Tsaqila<sup>3</sup>, Dahliana Alami<sup>4</sup>, dan Ari Wibowo<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Politeknik Negeri Bandung, Bandung, Indonesia

\*E-mail : [miratsaqila@gmail.com](mailto:miratsaqila@gmail.com)

### Abstract

*Red sorghum flour has not been widely used as food such as rice, cassava and corn, so it needs to find an alternative to further optimize utilization, one way is to process it into liquid sugar. This study aims to determine the optimum conditions of making liquid sugar from red sorghum flour with enzymatic hydrolysis process. In this experiment the size of the starch particles is 125 $\mu$ m. The enzyme used is  $\alpha$ -amylase for the process of liquification and glucoamylase for the saccharification process. The enzyme variations used were 0.033 ppm, 0.067 ppm, and 0.1 ppm. Substrate concentrations varied 10%, 20%, 30%, and 40% (w/v) in 300 ml of suspension. The liquification process is carried out at 90 ° C. for 60 minutes, while the saccharification process is carried out at 60 ° C. for 120 minutes with constant pH 6 of each process. The highest concentration of reducing sugar was obtained at a substrate concentration of 40% with an enzyme volume of 0.067 ppm of 115.7384 g/l.*

**Keywords :** Red Sorghum Flour, Liquid Sugar, Hydrolysis,  $\alpha$ -Amylase, Glucoamylase

### Pendahuluan

Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Biji sorgum mengandung karbohidrat 73%, lemak 3,5%, dan protein 10%, bergantung pada varietas dan lahan pertanaman. Kandungan amilosa tepung varietas sorgum termasuk sedang dan sesuai untuk pangan, mendekati terigu (20-25%) (Suarni, 2004). Berikut adalah data kandungan pati pada beberapa bahan makanan. Pati pada jagung 72-73%, pati singkong 85%, pati tepung beras 67,68%, pati tepung terigu 60,33% dan pati tepung tapioka 65,26% (Imaningsih, 2012). Sedangkan pati tepung sorgum yang peneliti gunakan sebesar 52.70 % yang telah diuji karakteristiknya pada penelitian sebelumnya. Kandungan pati tepung sorgum tidak terlalu tinggi jika dibandingkan dengan kandungan pati bahan lainnya, dan juga tepung sorgum tidak mengandung gluten seperti pada terigu. sehingga alternatif pemanfaatannya, yaitu dengan cara diolah menjadi gula cair.

Menurut Risnoyatiningsih (2011) Pati ubi jalar kuning dapat dibuat sebagai bahan baku pembuatan sirup glukosa dengan proses hidrolisis enzim. Untuk membuat glukosa dari pati ubi jalar kuning dan untuk mendapatkan hasil tertinggi 5,64% kadar glukosa, konversi 66,08%, diperlukan kondisi proses pada suhu 60°, pH 4,5 dengan penambahan enzim glucoamilase 0,07 ml dengan waktu hidrolisis 5 hari. Menurut Permanasari dan Yulistiani (2015) Gula cair dapat dihasilkan dari hidrolisis pati dengan bantuan  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase pada perbandingan 1:1. Kecepatan hidrolisis yang optimum diperoleh pada penambahan volume enzim sebanyak 0,3 ml dengan substrat 33,3% yaitu sebesar 32% Brix, dengan total waktu liquifikasi dan sakarifikasi 40 menit.

Melihat dari penelitian sebelumnya, maka pada penelitian ini akan dibuat gula cair dari pati sorgum merah dengan cara hidrolisis enzimatis menggunakan  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase. Hal tersebut yang menjadikan topik ini diangkat sebagai penelitian. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh konsentrasi substrat dan enzim pada pembuatan gula cair dari tepung sorgum merah secara hidrolisis dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase yang ditinjau dari konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dan menentukan kondisi optimum dari pembuatan gula cair dari tepung sorgum merah untuk menghasilkan gula reduksi maksimum.

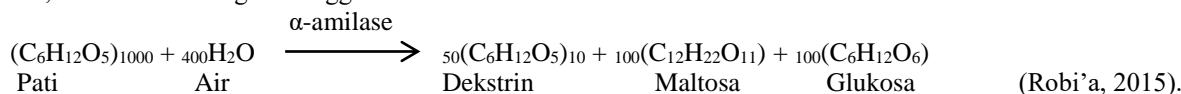
Ruang lingkup penelitian ini adalah menggunakan bahan baku yaitu tepung sorgum merah dengan ukuran partikel 125  $\mu$ m, menggunakan katalisator yaitu enzim  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase. Menggunakan variasi jumlah enzim 0,033 ppm, 0,067 ppm dan 0,1 ppm serta konsentrasi substrat 10%, 20%, 30%, dan 40% (b/v) serta dilakukan Analisis gula total dengan menggunakan Refraktometer, gula reduksi dengan Uji DNS dan karakteristik gula reduksi pada produk.



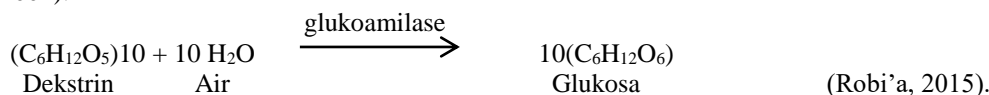
## Metodologi Penelitian

### 1) Persamaan Reaksi

Likuifikasi merupakan proses hidrolisis pati menjadi molekul-molekul yang lebih kecil seperti maltosa, glukosa, dan dekstrin dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase.



Pada tahap sakarifikasi dekstrin hasil likuifikasi akan dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim tunggal (glukoamilase) maupun enzim campuran (glukoamilase dan pullulanase) yang biasa disebut dextrozyme untuk dikonversi menjadi glukosa (Whitehursts, 2002).



### 2) Alat dan Bahan yang digunakan

Peralatan yang akan digunakan yaitu : Spektrofotometer UV-VIS, Refraktrometer, Erlenmeyer, Hotplate, Gelas Kimia, Gelas ukur, Pipet ukur, Pipet tetes, Batang pengaduk, Corong kaca, Spatula, Neraca analitik, Termometer, Magnetic stirrer, Kertas saring, Indikator pH universal, Kaca arloji, Tabung Reaksi, Gelas Kimia, Bola Pipet dan Aluminium Foil.

Bahan yang digunakan yaitu : Tepung sorgum merah yang diperoleh dari perkebunan di Lembang, Enzim  $\alpha$ -amilase, Enzim glukoamilase, Aquades, Karbon aktif serbuk, Kapur tohor (CaO), Asam Dinitrosalisilat (DNS), NaOH, Natrium Tartrat, Natrium Metabisulfid dan Glukosa

### 3) Material

Tepung Sorgum Merah dianalisis terlebih dahulu kandungan kadar airnya. Setelah itu, dilakukan perubahan ukuran tepung sorgum merah dengan menggunakan alat *grinding & sizing* dengan ukuran 125  $\mu\text{m}$ . Tepung sorghum merah ditimbang sesuai dengan konsentrasi substrat 10%, 20%, 30%, dan 40%. Berikut dibawah ini adalah kandungan tepung sorghum merah dan karakteristik enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase.

Tabel 1. Kandungan Tepung Sorghum Merah

Komponen	Kandungan
Pati	52.70 %
- Amilosa	18.57 %
- Amilopektin	34.13 %
Protein	8.86 %
Serat Kasar	9.77 %
Kadar Air	0,81%

Sumber : (Permanasari, 2017)

Tabel 2. Karakteristik enzim yang digunakan

No	Karakteristik Enzim	Enzim	
		$\alpha$ -amilase	Glukoamilase
1	Bentuk	Cair	Cair
2	Aktivitas Enzim	148,39(KNU/g)	293(AGU/g)
3	Densitas (g/ml)	1,244 g	1,155
4	Total viable count (/g)	< 100	< 200
5	Bakteri Koliform (/g)	< 4	< 4

### 4) Prosedur Percobaan

#### a) Proses Gelatinasi

Membuat suspensi pati sebagai substrat sebanyak 300 ml dengan variasi konsentrasi 10% , 20%, 30% dan 40 (b/v) yang dipanaskan hingga suhu 50oC sebagai proses gelatinasi hingga larutan mengental.

#### b) Proses Likuifikasi

Setelah proses gelatinisasi dilanjutkan dengan Likuifikasi suhu operasi diatur 90oC. Ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase dengan variasi volume enzim 0,033 ppm , 0,067 ppm dan 0,1 ppm , diaduk menggunakan magnetic stirrer

lalu pH diatur 6-6,4 dengan menambahkan kapur CaO jika diperlukan. Substrat disampling setiap 10 menit untuk dilakukan analisis kadar gula total menggunakan alat Refraktometer. Sedangkan pada menit 30 dan 60 dilakukan analisis gula reduksi dengan uji DNS menggunakan spektrofotometer. Lalu setelah itu, suhu larutan kemudian diturunkan hingga 60 °C.

#### c) Proses Sakarifikasi

Proses sakarifikasi, yaitu larutan substrat dengan suhu 60 °C ditambahkan enzim glukoamilase dengan perbandingan yang sama terhadap enzim  $\alpha$ -amilase yang digunakan sebelumnya. Suhu larutan substrat dipertahankan 60 °C sambil terus diaduk menggunakan magnetic stirer.

#### d) Pemurnian dan Penyaringan

Proses pemurnian gula reduksi dilakukan dengan proses pemucatan larutan. Larutan hidrolisis dicampurkan dengan sedikit arang aktif dan dipanaskan hingga suhu 80 °C selama 15 menit. Campuran substrat dan arang aktif selanjutnya disaring hingga diperoleh filtrat berwarna kuning muda.

### 5) Analisis

a) Analisis yang dilakukan adalah analisis kandungan gula total menggunakan metode refraktometer untuk mengetahui nilai %brix

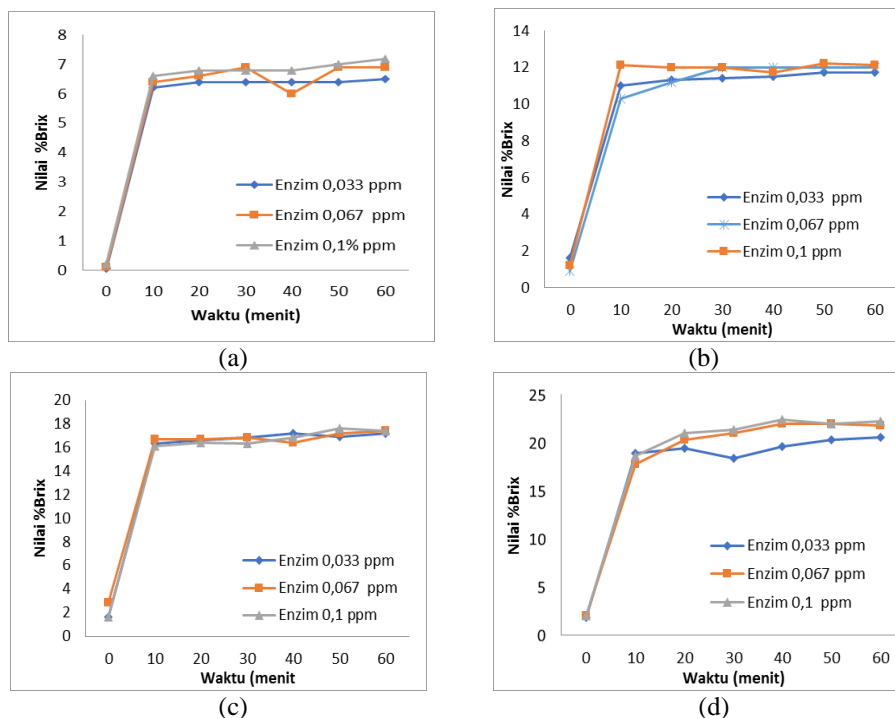
b) Analisis gula reduksi menggunakan metode Uji DNS dengan alat Spektrofotometer UV-VIS dengan ukuran gelombang 540 nm.

## Hasil dan Pembahasan

### 1) Proses Hidrolisis Enzimatis

Pada proses hidrolisis pati terjadi menjadi glukosa melalui tiga tahapan, yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Gelatinisasi untuk merenggangkan ikatan-ikatan yang ada pada amilosa dan amilopektin sehingga lebih memudahkan enzim bekerja. Pemecahan amilosa dan amilopektin yang terdapat pada tepung sorghum merah menjadi gula reduksi (glukosa) terjadi melalui proses likufikasi dan sakarifikasi yang terjadi selama tiga jam dengan variasi konsentrasi substrat dan volume enzim. Sebagai batasan untuk proses hidrolisis (likufikasi dan sakarifikasi) adalah waktu hidrolisis selama tiga jam.

Gula total dapat diukur menggunakan refraktometer untuk mengetahui nilai %brixnya. Nilai brix diukur setiap 10 menit selama proses berlangsung. Kenaikan konsentrasi gula total sebanding dengan pembentukan gula reduksi dari proses hidrolisis tepung sorghum merah. Pada proses likuifikasi dengan enzim  $\alpha$ -amilase yang divariasikan volumenya terjadi selama satu jam dengan temperatur 90°C. Hasil dari proses likufikasi dapat ditinjau dari gambar dibawah ini.

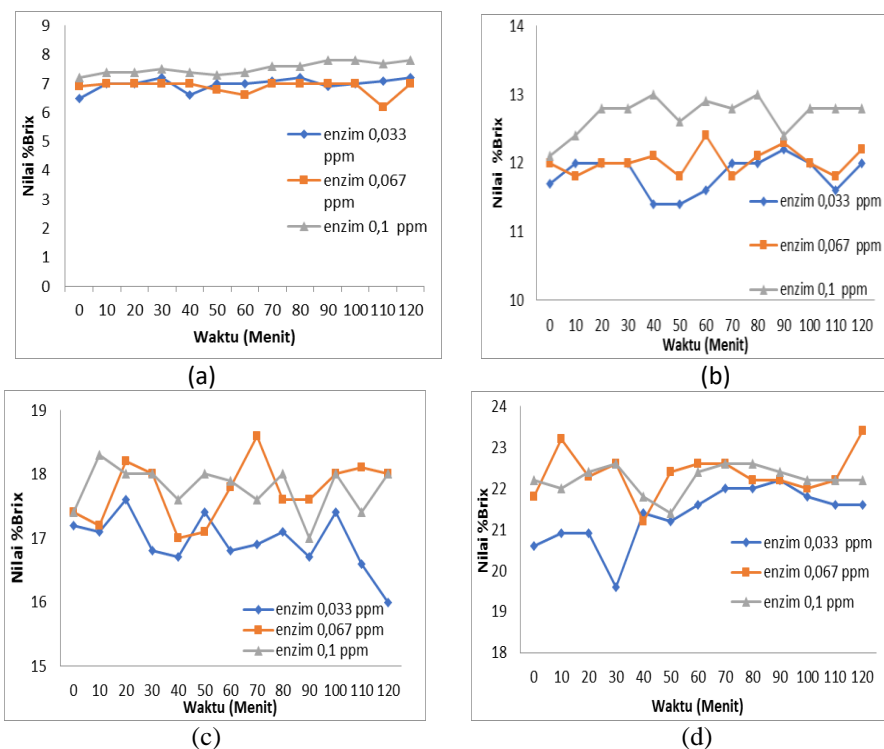


**Gambar 1.** Kurva peningkatan konsentrasi gula total pada proses likuifikasi dengan variasi konsentrasi substrat 10% (a), 20% (b), 30% (c) dan 40% (d) dengan masing-masing variasi konsentrasi enzim.

Berdasarkan gambar diatas, untuk semua variasi enzim diberbagai konsentrasi pada menit 10 nilai brix mulai meningkat. Peningkatan nilai brix terjadi secara perlahan ini menunjukkan bahwa  $\alpha$ -amilase dapat mengubah pati sorgum merah dengan cepat karena aktivitas enzim yang tinggi. Peningkatan konsentrasi gula total yang ditunjukkan dengan% brix sama dengan kenaikan konsentrasi gula pereduksi (Permanasari, 2017).

Pada gambar 4.1 (a) nilai brix konstan pada 6-7%, (b) konstan pada 12%, (c) konstan pada 16-17%, (d) nilai brix konstan pada 22%. Hal ini menunjukkan bahwa setiap konsentrasi substrat menghasilkan gula total cukup tinggi pada proses likufisasi dalam 10 menit pertama, dan akan meningkat hingga konstan karena substrat (amilosa dan amilopektin) hampir habis pada larutan susbrat tersebut. Sedangkan untuk konsentrasi substrat terendah (a) total gula maksimum terbentuk sampai brix 7% karena 10% merupakan konsentrasi substrat terendah sehingga kandungan amilosa dan amilopektin yang menjdai glukosa juga paling rendah. Selain itu konsentrasi enzim juga berpengaruh terhadap likuifikasi sebab efektivitas kerja enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, sehingga semakin optimal kerja enzim, maka proses hidrolisis juga akan semakin cepat (Jariyah, 2002).

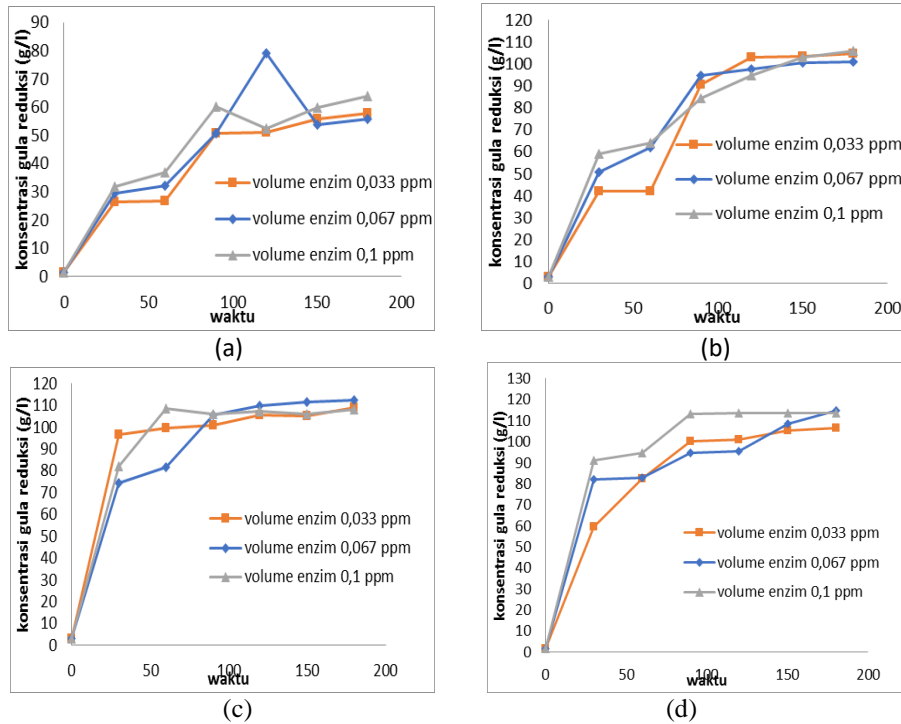
Proses sakarafikasi terjadi pada saat proses likufisasi berakhir yaitu pada menit 60 dengan suhu diturunkan menjadi 60°C. Proses sakarafikasi dilakukan selama dua jam dengan variasi konsentrasi substrat dan volume enzim. Enzim yang bekerja yaitu menggunakan enzim glukoamilase.



**Gambar 2.** Kurva peningkatan konsentrasi gula total pada proses sakarafikasi dengan variasi konsentrasi substrat 10% (a), 20% (b), 30% (c) dan 40% (d) dengan masing-masing variasi konsentrasi enzim

## 2) Analisis Gula Reduksi menggunakan Uji DNS (Asam Dinitrosalisilat)

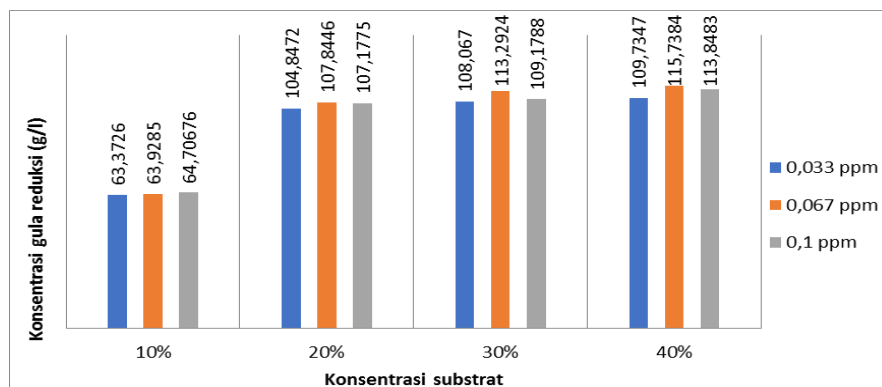
Analisis gula reduksi dengan menggunakan spektrofotometer lebih akurat dibandingkan dengan analisis menggunakan refraktometer, karena menggunakan reagen. Reagen yang digunakan adalah DNA (Asam Dinitrosalisilat) atau biasa disebut dengan uji DNS, metode ini digunakan untuk menguji keberadaan gugus karbonil bebas atau yang biasa disebut dengan gula reduksi. (Miller, 1959) sehingga dapat diketahui konsentrasi glukosa yang didapatkan. Hasil dari analisis gula reduksi menggunakan spektrofotometer dapat dilihat pada dibawah ini.



**Gambar 3.** Kurva Peningkatan Konsentrasi gula reduksi dengan variasi konsentrasi substrat 10% (a), 20% (b), 30% (c) dan 40%(d) dengan variasi volume enzim

Berdasarkan gambar diatas terjadi peningkatan gula reduksi secara signifikan di setiap konsentrasi. Kinerja enzim bekerja dengan konsentrasi substrat dengan mendegradasi amilosa dan amilopektin menjadi glukosa. Peningkatan gula reduksi pada menit 60 (likuifikasi) hingga 90 (sakarafikasi) terjadi peningkatan yang cukup tinggi yaitu pada saat proses sakarafikasi. Hal ini terjadi karena pada proses sakarafikasi dengan menggunakan enzim glukamilase dapat memotong ikatan  $\alpha$ -1,4 dan  $\alpha$ -1,6 pada amilosa dan amilokpetin menjadi molekul-molekul glukosa bebas.

### 3) Kandungan Gula Reduksi Pada Hasil Akhir



**Gambar 4.** Grafik Peningkatan Gula Reduksi Pada Hasil Akhir

Berdasarkan Gambar 4.13 Konsentrasi gula reduksi tertinggi dihasilkan oleh konsentrasi substrat 40% dan terendah 10%. Semakin tinggi konsentrasi substrat semakin tinggi produk yang dihasilkan, produk yang paling tinggi adalah pada konsentrasi substrat 40% dengan volume enzim 0,067 ppm. Konsentrasi substrat 10% mempunyai nilai produk yang paling kecil karena amilosa dan amilokleptin lebih sedikit dan larutan sangat encer karena banyak mengandung air.

Dapat dilihat perbedaan nilai konsentrasi gula yang dihasilkan dari tabel diatas pada konsentrasi substrat 10% konsentrasi gula reduksi rata rata 81 g/l untuk konsentrasi substrat 20% rata rata konsentrasi gula reduksi 135 g/l kenaikan konsentrasi gula yang dihasilkan sekitar 45%. Tetapi untuk selanjutnya pada konsentrasi 30% dan 40%





konsentrasi gula rata rata yang dihasilkan adalah 138 g/l dan 144 g/l. Kenaikan konsentrasi gula reduksi pada konsentrasi substrat 20%, 30% dan 40% tidak terlalu signifikan. Sehingga, dengan konsentrasi substrat 20% dapat menghasilkan produk yang tinggi karena ditinjau dari segi ekonomis perbedaannya dengan konsentrasi substrat 40% tidak terlalu tinggi. Bertambahnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambahnya konsentrasi kompleks enzim substrat, sehingga produk reaksi tidak bertambah besar (Poedjadi, 1994).

Kemampuan enzim paling baik adalah 0,067 ppm karena produk paling tinggi pada konsentrasi enzim 0,067 ppm. Tetapi untuk kecepatan hidrolisis yang paling baik adalah 0,1 ppm. Semakin banyak enzim laju hidrolisis semakin cepat, tetapi tidak selalu menghasilkan produk yang paling tinggi. Pada proses hidrolisis aktivitas enzim berpengaruh pada produksi gula reduksi. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka kecepatan reaksi akan meningkat hingga batas konsentrasi tertentu. Namun, hasil hidrolisis substrat akan konstan dengan naiknya konsentrasi enzim. Hal ini disebabkan penambahan enzim sudah tidak efektif lagi (Reed, 1975). Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya kadar substrat sampai suatu titik. Sekali enzim jenuh dengan substrat, penambahan kadar substrat tidak akan berpengaruh pada kecepatan reaksi (Volk dan Wheeler, 1988).

### Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Dari *range* konsentrasi substrat 10%-40%, konsentrasi gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi substrat 40% dengan volume enzim 0,067 ppm sebesar 115,7384 g/l.
2. Kerja enzim yang paling baik adalah pada volume 0,067 pada proses likuifikasi ppm tidak pada 0,1 ppm.

### Ucapan Terima Kasih

Dalam penelitian ini kami mengucapkan terimakasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kasih dan berkatNya, kedua orangtua kami atas kasih sayang dan dukungannya, Dr. Ir. Bintang Iwhan Moehady selaku kepala Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Bandung, Ayu Ratna Permanasari, ST., MT selaku dosen pembimbing penelitian atas bimbingan dan nasehatnya.

### Daftar Pustaka

- Imaningsih, Nelis. 2012. Profil Gelatinisasi Beberapa Formulasi Tepung-tepungan. Untuk Pendugaan Sifat Pemasakan. *Penel Gizi Makan* 2012, 35(1): 13-22.
- Jariyah. 2002. Analisis Komponen Gula Pada Sirup Maltosa Hasil Hidrolisis Pati Garut Secara Enzimatis. Tesis. UB. Malang.
- Miller, G.L., 1958. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry - ANAL CHEM*, vol. 31, no. 3, pp. 426-428.
- Permanasari, Ayu R., Yulistiani, Fitria. 2015. "Pembuatan Gula Cair Dari Pati Singkong Dengan Menggunakan Hidrolisis Enzimatis" *Jurnal Fluida Teknik Kimia Polban*.
- Permanasari A R, Yulistiani F, Djenar N S. 2017. *Liquid Sugar Production From Red Sorghum Starch As Raw Material To Produce High Fructose Syrup (HFS)*. *Advanced Science Letters Volume 23 Number 6 June 2017 American Scientific Publishers* pp: 5775-5779.
- Permanasari, Ayu R., Yulistiani, Fitria., 2017. *Production of High Fructose Syrup by Enzymatic Hydrolysis in Various Enzyme and Substrate Concentration of Red Sorghum Starch*.
- Permanasari A R, Yulistiani F, Purnama R W, Widjaja T, Gunawan S. 2017. *The Effect of Enzyme and Substrate Concentration on the Fructose Syrup Production by Enzymatic Hydrolysis*. Unpublished.
- Reed, G. 1975. *Enzymes in Food Processing*. Academic Press. New York. 212.
- Richardson, T.H, Tan, X., Frey, G., Callen, W., Cabell, M., Lam, D. Macomber, J., Short, J.M., Robertson, D.E., and Miller, C. 2002. *A Novel, High Performance Enzyme for Starch Liquefaction Discovery and Optimization of a Low pH, Thermostable  $\alpha$  Amylase*. *J. Biol Chem* 277, 26501-26507.
- Risnoyatiningih, Sri., 2011, "Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa Secara Enzimatis", UPN Veteran Jawa Timur: *Jurnal Teknik Kimia* Vol.5, N0.2.
- Robi'a, Sutrisno, Aji., 2015, "Karakteristik Sirup Glukosa Dari Tepung Ubi Ungu (Kajian Suhu Likuifikasi Dan Konsentrasi A-Amilase)", *Kajian Pustaka. Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 4 p.1531-1537.
- Ruiz, Monica I., Shancez, Clara I., Torres, Rodrigo G., Molina, Daniel R., 2011, "Enzymatic Hydrolysis of Cassava Starch for Production of Bioethanol with a Colombian Wild Yeast Strain", *Brazil: J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 22, No. 12, 2337-2343.
- Suarni, 2012, "Potensi Sorgum sebagai Bahan Pangan Fungsional", *IPTEK TANAMAN PANGAN VOL. 7 NO. 1* (58-66).
- Terahara, N., Konczak, I., Ono, H., Yoshimoto, M., Yamakawa, O., 2004, "Characterization of Acylated Anthocyanins in Callus Induced From Storage Root of Purple-Fleshed Sweet Potato, *Ipomoea batatas* L." *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2004:5. 279-286.





- Volk WA and MF Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 1. S Adisoemarto (Ed.). Erlangga, Jakarta. Terjemahan dari *Basic Microbiology* 5\* Ed.
- Winarno, F.G dan Fardianz, S. 1984. *Biofermentasi dan Biosintesa Protein*. Penerbit Angkasa. Bandung.



## Lembar Tanya Jawab

**Moderator : Tedi Hudaya (Universitas Katolik Parahiyangan)**  
**Notulen : Alfiena Intan Zahirah (UPN "Veteran" Yogyakarta)**

1. Penanya : Sawitri Kusuma Sari (UPN "Veteran" Yogyakarta)  
Pertanyaan : Apa enzim yang digunakan dan mengapa menggunakan enzim tersebut?  
Jawaban : Enzim yang digunakan adalah  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase. Kedua enzim tersebut digunakan agar hasilnya lebih optimum, karena mekanisme kerja enzim dan substratnya adalah *lock and key*.
2. Penanya : Zaerra Regita (UPN "Veteran" Yogyakarta)  
Pertanyaan : Dengan menggunakan bahan baku yang mengandung banyak pati, apakah bahan tersebut lebih baik diolah menjadi gula atau menjadi *bioethanol*?  
Jawaban : Tepung sorgum merah belum banyak digunakan. Penelitian ini hanya mengubah tepung sorgum merah sampai menjadi glukosa.
3. Penanya : Radhityo Ari Prabowo (UPN "Veteran" Yogyakarta)  
Pertanyaan : Apa hubungan antara  $\alpha$ -amilase dengan glukoamilase? Mengapa  $\alpha$ -amilase digunakan terlebih dahulu?  
Jawaban : Likuifikasi dan sakarifikasi berjalan secara seri.  $\alpha$ -amilase pada proses hidrolisis memecah ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida, kemudian glukoamilase memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 dan  $\alpha$ -1,6-glikosida.