

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Singkong (*Manihot utilissima* atau *Manihot esculenta crantz*) merupakan salah satu bahan pangan lokal alternatif yang mengandung karbohidrat selain beras dan jagung. Potensi singkong yang melimpah dan mudah didapat, menjadikan singkong sebagai bahan pangan yang diminati oleh semua kalangan masyarakat. Salah satu daerah penghasil utama singkong terbesar di Indonesia yaitu Provinsi Lampung. Dari data BPS (2020), produksi singkong pada Provinsi Lampung pada tahun 2020 mencapai 2.650.289 ton. Berdasarkan data Kementerian Perindustrian 2021, jumlah industri yang menggunakan bahan baku singkong sebanyak 59 industri. Hal ini menunjukkan bahwa limbah yang dihasilkan dari singkong pun akan relatif banyak. Sehingga produksi dengan bahan baku singkong akan menghasilkan limbah yang dapat mencemari lingkungan. Meningkatnya jumlah limbah singkong merupakan masalah yang dapat mencemari lingkungan dan perlu adanya upaya dalam pemanfaatannya.

Mastuti (2013) menyatakan bahwa persentase jumlah limbah kulit singkong bagian luar sebanyak 0,5-2% dari berat total singkong serta limbah kulit bagian dalam sebanyak 8-15%. Sehingga terdapat sekitar 0,28 juta ton kulit singkong bagian dalam di Provinsi Lampung per tahunnya. Sedangkan kandungan di dalam kulit singkong bagian dalam ini diantaranya terdapat pati berkisar 44-59%, kandungan air sebesar 7,9-10,32%, protein 1,5-3,7%, lemak 0,8-2,1%, dan juga serat berkisar 17,5-27,4% (Nur Richana, 2013).

Disamping itu, Indonesia merupakan salah satu negara yang masih bergantung pada impor untuk 5 bahan pokok, salah satunya yaitu gula. Produksi gula di dalam negeri masih belum mampu memenuhi kebutuhan gula nasional. Menurut data BPS RI, (2020) jumlah impor untuk kebutuhan gula nasional sebesar 5,6 juta ton. Berdasarkan data Asosiasi Gula Indonesia (AGI) dan Ikatan Ahli Gula Indonesia (IKAGI) yang dipublikasikan Badan Pusat Statistik (BPS), produksi gula kristal putih atau gula pasir turun 4,52% pada tahun 2020. Produksinya turun dari 2,2 juta ton pada tahun 2019 menjadi hanya 2,13 juta ton pada 2020.

Dari data potensi limbah kulit singkong bagian dalam yang cukup banyak serta kebutuhan impor gula yang cukup besar, pemanfaatan kulit singkong bagian dalam ini menjadi salah satu solusi yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan gula cair sehingga diharapkan akan mengurangi ketergantungan impor gula yang ada di dalam negeri. Jika industri makanan dan minuman menggunakan gula cair, maka kebutuhan impor gula pasir tentu juga akan berkurang.

Pemanis tidak hanya digunakan sebagai penambah cita rasa, melainkan juga sebagai penentu tekstur suatu makanan. Salah satu jenis pemanis yang banyak dipergunakan pada industri makanan dan minuman yaitu gula cair. Gula cair merupakan gula yang berasal dari hasil hidrolisis pati secara enzimatis ataupun asam. Hidrolisis pati secara enzimatis dapat dilakukan dengan menggunakan enzim alfa amilase dan glukoamilase. Salah satu keunggulan dari gula cair yang berasal dari pati yaitu mempunyai kelarutan yang lebih tinggi daripada pemanis sukrosa (Sutrisno, 2015).

Menurut Suropto *et al.*, (2013), gula cair dihasilkan dari proses hidrolisis pati oleh enzim dan hidrolisis asam, sehingga dihasilkan senyawa D-glukosa, maltosa, dan polimer D-glukosa. Gula cair yang sudah banyak beredar yaitu menggunakan hidrolisis dengan enzim. Dari hasil perbandingan dengan metode hidrolisis menggunakan enzim, kadar gula yang didapat dengan hidrolisis enzim memiliki kadar yang lebih besar.

Proses hidrolisis secara enzimatis memiliki keunggulan bila dibandingkan dengan hidrolisis asam, yaitu pemutusan rantai polimer lebih spesifik sehingga produk yang dihasilkan sesuai dengan keinginan, dihasilkan sedikit abu dan produk samping, serta lebih aman dan ramah lingkungan.

Secara umum, enzim bekerja optimum pada kisaran pH 5-6 sedangkan suhu tinggi diperlukan untuk proses gelatinisasi agar amilosa dan amilopektin dapat dengan mudah dihidrolisa oleh enzim. Konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase yang digunakan untuk produksi dekstrin dari tapioka berkisar antara 0,05-0,25%, dengan kisaran lama hidrolisa antara 30-150 menit (Langkong, 2006).

Waktu reaksi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kerja enzim dalam proses hidrolisis pati. Semakin lama waktu reaksi, maka kerja enzim pula akan semakin optimum. Namun setelah mencapai titik optimum, maka kerja enzim

akan menurun. Oleh karena itu, penentuan waktu optimum reaksi enzimatik sangat penting, karena hasilnya dapat dijadikan sebagai parameter dalam pembuatan gula cair (Murtiaz, 2015).

Penelitian yang telah dilakukan Ardiansyah *et al.*, (2018) diperoleh gula cair dengan waktu optimum kerja enzim selama 54 jam pada tahap sakarifikasi dengan diperoleh jumlah konsentrasi gula pereduksi tertinggi sebesar 9,186 g/L. Sedangkan penelitian yang telah dilakukan I Komang Putra Adnyana (2018) suhu optimum kerja enzim pada tahap sakarifikasi pada 55°C dengan nilai rata – rata 48% brix. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan optimasi proses sakarifikasi gula cair berbahan dasar pati kulit singkong menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan dua variabel yaitu suhu dan waktu sakarifikasi. Suhu yang digunakan adalah 55°C, 60°C, dan 65°C. Sedangkan waktu hidrolisis yang digunakan 2 jam, 4 jam dan 6 jam.

## 1.2 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Membuat dan mengetahui karakteristik fisik dan kimiawi gula cair dari pati kulit singkong yang dihasilkan.
2. Menentukan waktu dan suhu optimum proses sakarifikasi pembuatan gula cair dari pati kulit singkong dengan *Response Surface Methodology* (RSM) terhadap kadar gula pereduksi yang dihasilkan.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

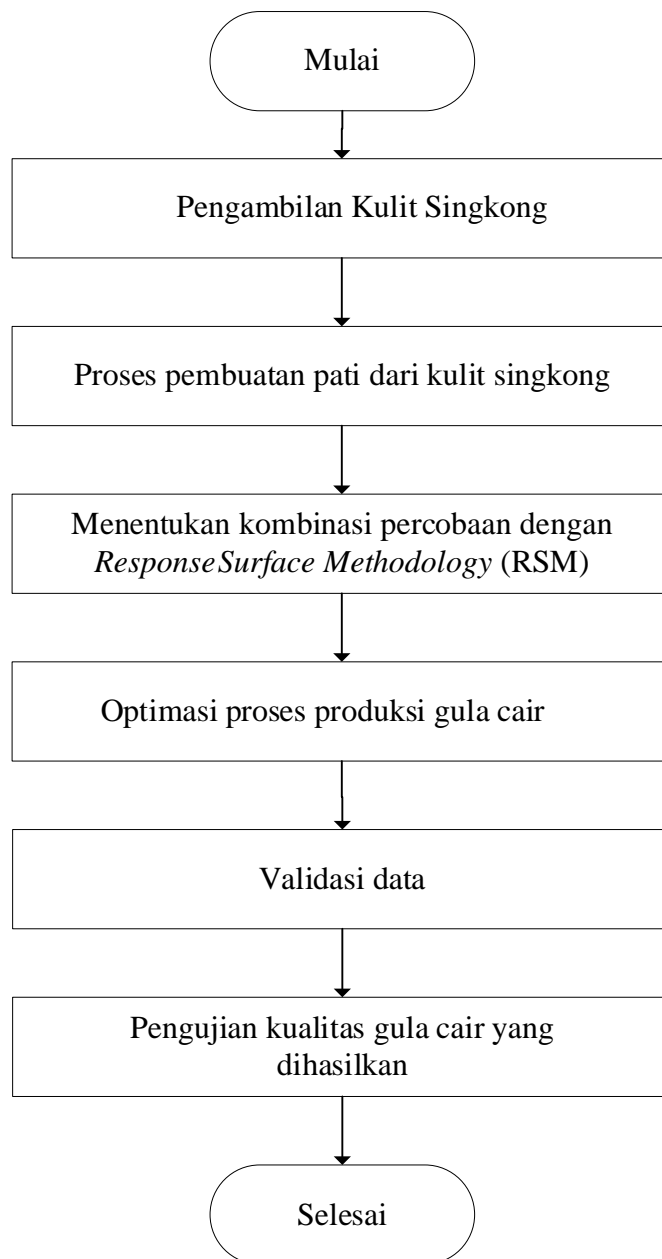
Singkong menghasilkan limbah kulit singkong dalam jumlah yang cukup besar, yaitu sebanyak 0,5-2% jumlah limbah kulit singkong bagian luar serta limbah kulit bagian dalam sebanyak 8-15% dari berat total singkong. Sehingga terdapat sekitar 0,28 juta ton kulit singkong bagian dalam di Provinsi Lampung per tahunnya. Sedangkan kandungan pati di dalam kulit singkong bagian dalam berkisar 44-59%.

Sehingga terdapat sekitar 135.800 ton pati kulit singkong bagian dalam yang dapat dimanfaatkan. Jumlah pati kulit singkong bagian dalam yang cukup banyak ini dapat berpotensi sebagai bahan baku yang dapat digunakan dalam pembuatan gula cair dari pati kulit singkong.

Untuk membuat gula cair dari pati kulit singkong ini terdapat beberapa metode, diantaranya yaitu secara asam dan enzimatis. Menurut Suropto *et al.*, (2013), gula cair dihasilkan dari proses hidrolisis pati oleh enzim dan hidrolisis asam, sehingga dihasilkan senyawa D-glukosa, maltosa, dan polimer D-glukosa. Gula cair yang sudah banyak beredar yaitu menggunakan hidrolisis dengan enzim.

Dari hasil perbandingan dengan metode hidrolisis menggunakan enzim, kadar gula yang didapat dengan hidrolisis enzim memiliki kadar yang lebih besar. Selain itu, proses hidrolisis secara enzimatis memiliki keunggulan bila dibandingkan dengan hidrolisis asam, yaitu pemutusan rantai polimer lebih spesifik sehingga produk yang dihasilkan sesuai dengan keinginan, dihasilkan sedikit abu dan produk samping, serta lebih aman dan ramah lingkungan.

Keterbaharuan dari penelitian ini mengkaji kondisi suhu proses sakarifikasi yang optimum untuk menghasilkan kadar gula pereduksi yang optimal. Untuk keberterimaan suatu produk di pasaran salah satunya yaitu standar, standar dari gula cair ini yaitu SNI 01-2978-1992. Penelitian ini akan mengkaji parameter fisik dan kimia dari gula cair yang dihasilkan. Adapun skema pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Pelaksanaan Penelitian

#### **1.4 Hipotesis**

Penelitian ini memodifikasi proses pembuatan gula cair berbahan baku pati kulit singkong dengan memvariasikan waktu dan suhu proses sakarifikasi secara enzimatis menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Dengan metode ini diduga gula cair dari pati kulit singkong yang dihasilkan memenuhi karakteristik mutu gula cair SNI 01-2978-1992.

#### **1.5 Kontribusi**

Penelitian ini dapat memberikan kontribusi yaitu dapat memanfaatkan limbah kulit singkong yang belum dimanfaatkan secara maksimal untuk dijadikan sebagai gula cair. Gula cair ini dapat digunakan dalam aplikasi yang sangat luas, yaitu dalam industri makanan maupun minuman. Aplikasi gula cair dapat digunakan sebagai alternative pengganti gula kristal putih.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Singkong

Singkong atau ubi kayu (*Manihot utilissima*) merupakan tanaman pangan dan perdagangan (*cash crop*). Sebagai tanaman pangan, umbi kayu merupakan sumber karbohidrat bagi masyarakat luas. Di Indonesia, tanaman ini merupakan komoditas tanaman pangan dengan urutan ketiga dalam pemenuhan kebutuhan karbohidrat setelah padi dan jagung (Widaningsih, 2016).

Selain dijadikan sebagai sumber karbohidrat dalam bahan pangan, ubi kayu dapat digunakan sebagai bahan pakan ternak dan bahan baku pada industri. Oleh sebab itu, pengembangan ubi kayu penting untuk dilakukan dalam upaya penyediaan bahan pangan karbohidrat selain beras, pengembangan industri pengolahan hasil dan agro industri, sumber devisa melalui ekspor serta untuk mendukung peningkatan ketahanan pangan dan kemandirian pangan lokal. Ubi kayu memiliki nilai gizi yang terbilang cukup baik dan sangat dibutuhkan untuk menjaga kesehatan tubuh sebagai bahan pangan terutama sebagai sumber karbohidrat. Kandungan di dalam ubi kayu ini diantaranya air sekitar 60%, pati 25%-35%, serta protein, mineral, serat, kalsium, dan fosfat. Ubi kayu merupakan tanaman pangan dengan sumber energi yang lebih tinggi dibandingkan padi, jagung, ubi jalar, dan sorgum (Widaningsih, 2016).

Ubi kayu juga tergolong polisakarida yang mengandung pati dengan kandungan amilopektin tinggi tetapi lebih rendah daripada ketan yaitu amilopektin 83% dan amilosa 17% (Yulistiani, 2017).

Beberapa keunggulan dari ubi kayu diantaranya adalah kadar gizi makro dan mikro tinggi, sehingga relatif sedikit jumlah penderita anemia dan kekurangan vitamin A dan C di tengah masyarakat yang menjadikan ubi kayu sebagai bahan pangan pokok, kadar glikemik di dalam darah bernilai rendah, kadar serat pangan larut tinggi, berpotensi menjadi probiotik di dalam usus dan lambung, serta merupakan sumber kalori potensial di wilayah yang didominasi oleh lahan beriklim kering. Permintaan ubi kayu terus mengalami peningkatan baik untuk konsumsi, pakan ternak, industri olahan (gaplek, *chips*, tapioka dan tepung kasava) serta sebagai bahan energi baru terbarukan (Widaningsih, 2016).

## 2.2 Kulit Singkong

Kulit singkong sering kali dianggap limbah yang tidak berguna oleh sebagian industri berbahan baku singkong. Oleh karena itu, bahan ini masih belum banyak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja dan umumnya hanya digunakan sebagai pakan ternak. Kulit singkong dapat menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi, antara lain diolah menjadi tepung *mocaf*. Persentase kulit singkong kurang lebih 20% dari umbinya sehingga per kilogram umbi singkong menghasilkan sekitar 0,2 kg kulit singkong (N. Rahmawati *et al.*, 2017).

Racun asam biru kulit singkong lebih banyak dibandingkan daging umbinya yakni 3-5 kali lebih besar, tergantung singkong manis atau pahit. Jika rasanya manis, kandungan asam birunya rendah sedangkan jika rasanya pahit, kandungan asam birunya lebih banyak. Kulit singkong memiliki kandungan HCN yang sangat tinggi yaitu sebesar 18,0 – 309,4 ppm untuk per 100 gram kulit singkong (Hersoelistyorini, 2012).

Jumlah asam sianida (HCN) sangat bervariasi mulai dari dosis yang tidak berbahaya (<50 ppm) sampai yang mematikan (>250 ppm). Asam sianida ini mempunyai dosis ambang batas 0,5-3 mg/kg berat badan. Jika dikonsumsi terus-menerus dengan dosis ambang batas ini maka akan menimbulkan penyakit *tropical ataxic neuropathy* dengan gejala timbulnya lesi pada saraf mata dan pendengaran, meningkatkan kadar tiosianat dalam darah serta menyebabkan penyakit gondok (Purwati, 2006).

Namun, asam sianida ini mudah hilang selama kulit singkong diproses terlebih dahulu dengan cara perendaman, pengeringan, dan perebusan. Kandungan pati di dalam kulit singkong berkisar 44-59%. Komposisi kimia kulit singkong ditunjukkan pada Tabel 1.



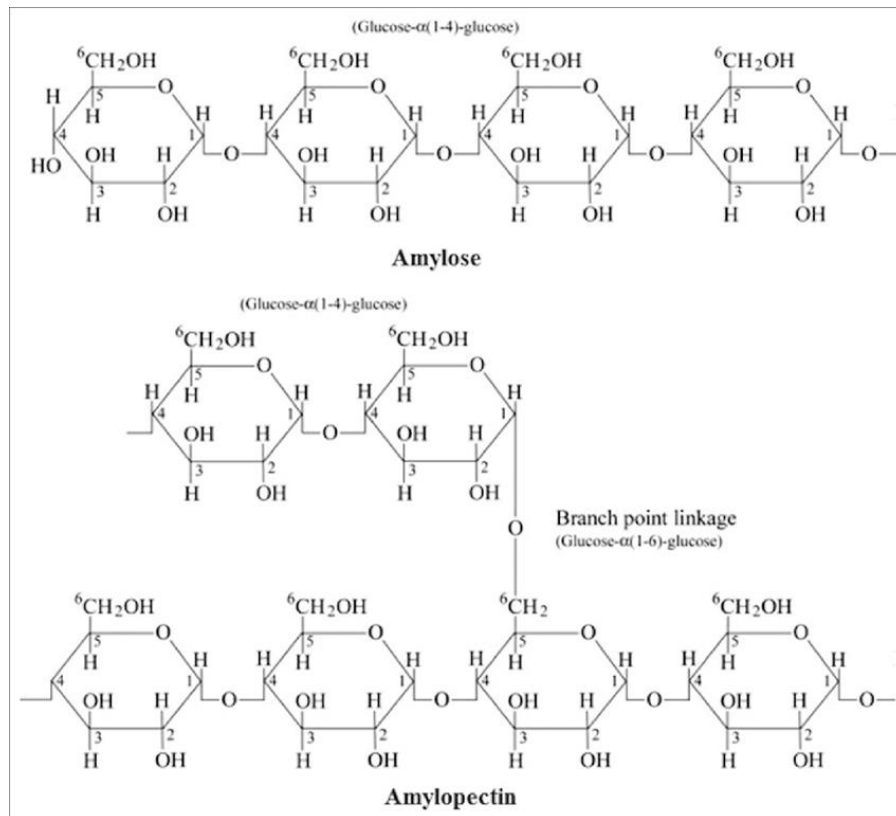
Tabel 1. Komposisi Kimia Kulit Singkong

Komposisi Kimia	Jumlah
Air	7,9 – 10,32 %
Pati ( <i>starch</i> )	44 – 59 %
Protein	1,5 – 3,7 %
Lemak	0,8 – 2,1 %
Abu	0,2 – 2,3 %
Serat	17,5 – 27,4 %
Kalsium (Ca)	0,42 – 0,77 %
Magnesium (Mg)	0,12 – 0,24 %
Fosfor (P)	0,02 – 0,10 %
Asam Sianida (HCN)	18,0 – 309,4 ppm

Sumber: Richana (2013)

### 2.3 Pati

Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan  $\alpha$ -glikosidik. Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai C-nya serta lurus atau bercabang rantai molekulnya. Rangka struktur pati terdiri atas dua komponen utama yaitu amilosa dan amilopektin yang tersusun oleh rangkaian unit-unit (glukosa) yang saling berikatan. Amilosa merupakan suatu polimer rantai tunggal tidak bercabang, terbentuk dari 500-20.000 monomer  $\alpha$ -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik. Struktur yang lurus ini membuat amilosa dapat dihidrolisis sempurna oleh satu enzim saja ( $\alpha$ -amilase), dengan kata lain mudah dicerna. Sedangkan amilopektin adalah suatu polimer rantai bercabang dan memiliki ukuran molekul lebih besar dibandingkan dengan amilosa. Amilopektin terbentuk dari 100.000 monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik pada rantai utama dan  $\alpha$ -1,6 glikosidik pada percabangannya (Sari *et al.*, 2020). Oleh karena itu, untuk menghidrolisis amilopektin diperlukan dua enzim ( $\alpha$ -amilase dan gluko amilase) sehingga lebih sulit. Struktur dari amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 2.



Sumber : (Paul *et al.*, 2016)

Gambar 2. Struktur amilosa (a) dan amilopektin (b)

## 2.4 Hidrolisis Pati

Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan satu zat baru atau lebih dan juga dekomposisi suatu larutan dengan menggunakan air. Proses ini melibatkan pengionan molekul air ataupun penguraian senyawa lain. Hidrolisis diterapkan pada reaksi kimia yang berupa organik atau anorganik dimana air mempengaruhi dekomposisi ganda dengan campuran yang lain, hidrogen akan membentuk satu komponen dan hidroksil ke komponen yang lain (Wahyudi, dkk. 2011).

Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang melibatkan air atau asam sebagai reaktan agar suatu persenyawaan dapat terpecah atau terurai. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi yang berlangsung lambat karenanya untuk mempercepat laju sering ditambahkan katalis.

Katalis yang dapat dipakai pada reaksi hidrolisis pati adalah katalis asam seperti asam HCl atau H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Salsabila, dkk. 2013). Menurut Wahyudi, dkk (2011) menyatakan bahwa zat-zat penghidrolisis pati yaitu air, asam, basa, enzim. Menurut Artita, Novia dan Widhie (2010) menyatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis yaitu:

- a. Suhu, semakin tinggi suhu reaksi dalam kinetika reaksi maka semakin cepat pula jalannya reaksi tetapi kalau proses berlangsung pada suhu yang tinggi, konversi akan menurun. Hal ini disebabkan adanya glukosa yang pecah menjadi arang.
- b. Waktu, semakin lama waktu hidrolisis, konversi yang dicapai semakin besar dan pada batas waktu tertentu akan diperoleh konversi yang relatif baik dan apabila waktu tersebut diperpanjang maka penambahan konversi kecil sekali.
- c. Pencampuran pereaksi. Pati tidak larut dalam air maka pengadukan perlu diadakan agar persentuhan butir-butir air dan pati dapat berlangsung dengan baik.
- d. Konsentrasi katalisator. Penambahan katalisator bertujuan memperbesar kecepatan reaksi. Semakin banyak jumlah katalisator yang dipakai maka semakin cepat reaksi hidrolisis terjadi.
- e. Kadar suspensi pati. Perbandingan antara air dan pati yang tepat akan membuat reaksi hidrolisis berjalan lebih cepat.

## **2.5 Metode Hidrolisis Pati**

### **2.5.1 Metode Hidrolisis Asam**

Hidrolisis asam merupakan proses pemasukan/penggantian atom H ke dalam gugus OH pada pati sehingga membentuk rantai yang cenderung lebih panjang dan dapat mengubah sifat-sifat psikokimia dan rheologi dari pati. Molekul amilosa mudah terpecah dibanding dengan molekul amilopektin sehingga saat hidrolisis asam berlangsung akan menurunkan gugus amilosa (Pudjihastuti dan Siswo, 2011).

Asam akan mendegradasi dinding sel yang menyebabkan kerusakan dan integritas granula pati sehingga menyebabkan pati menyerap air. Proses pembebasan granula pati ini menyebabkan perubahan karakteristik dari pati yang

dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi, dan kemudian kemudahan melarut (Subagio, 2007).

Selama proses modifikasi asam, asam menghidrolisis ikatan glikosidik dan memperpendek panjang rantai pati. Sutamihardja *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa pada tahap awal proses modifikasi asam, jumlah amilosa atau fraksi linear meningkat, yang mengindikasikan bahwa asam turut menghidrolisis bagian amilopektin yang mudah dijangkau.

Sutamihardja *et al.*, (2015) menunjukkan pula bahwa selama modifikasi asam tidak terjadi pembengkakan granula pati dan pati tidak kehilangan sifat *birefringence*, yang membuktikan bahwa asam akan lebih cenderung menyerang bagian *amorfous* dibandingkan bagian kristalin. Bagian *amorfous* lebih banyak tersusun rantai amilopektin, sedangkan bagian kristalin lebih banyak tersusun rantai amilosa. Selama proses modifikasi asam terjadi dua tahap penyerangan, tahap awal terjadi penyerangan cepat pada bagian *amorfous* yang mengandung amilopektin, lalu dilanjutkan dengan penyerangan yang lebih lambat terhadap kedua fraksi (amilosa dan amilopektin) pada bagian yang lebih kristalin.

### 2.5.2 Metode Hidrolisis Enzimatis

Gula cair dapat dibuat dengan cara hidrolisis pati menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase (Chandra *et al.*, 2013). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses hidrolisis pati secara enzimatis diantaranya yaitu konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH, dan waktu proses hidrolisis. Hidrolisis pati menjadi sirup glukosa dilakukan melalui 3 tahapan, yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi (Sutrisno, 2015). Tahap gelatinisasi merupakan tahap awal yang dilakukan dengan cara memanaskan campuran pati dan air (suspensi pati) hingga terjadi perubahan bentuk menjadi kental.

Tahap selanjutnya yaitu likuifikasi merupakan proses hidrolisis pati menjadi molekul-molekul yang lebih kecil seperti maltosa, glukosa dan dekstrin dengan bantuan enzim  $\alpha$ -amilase. Waktu reaksi yang diperlukan untuk mengubah pati menjadi dekstrin dengan bantuan enzim alfa amilase yaitu sekitar 30-180 menit. Tahap sakarifikasi merupakan tahap hidrolisis lanjutan dari tahap likuifikasi dengan menggunakan enzim glukoamilase.

Waktu reaksi yang diperlukan untuk mengubah dekstrin menjadi glukosa dengan bantuan enzim glukoamilase yaitu sekitar 48-96 jam (Rahmawati, 2015). Waktu reaksi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kerja enzim dalam proses hidrolisis pati. Semakin lama waktu reaksi, maka kerja enzim pula akan semakin optimum. Namun setelah mencapai titik optimum, maka kerja enzim akan menurun. Oleh karena itu, penentuan waktu optimum reaksi enzimatik sangat penting, karena hasilnya dapat dijadikan sebagai parameter dalam pembuatan gula cair (Murtiaz, 2015).

Enzim dapat mempercepat reaksi (sebagai katalis), enzim tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya, dan enzim tidak mengubah kedudukan normal dari keseimbangan kimia. Dengan kata lain enzim dapat membantu mempercepat pembentukan produk, tetapi akhirnya jumlah produk tetap sama dengan produk yang diperoleh tanpa enzim (Richana, 2016). Berikut beberapa enzim yang biasa digunakan dalam proses hidrolisis pati:

1. Enzim alfa amilase

Enzim alfa amilase ( $\alpha$ -1,4 glukon-4-glukan hidrolase) dapat diperoleh dari *malt* (barley), ludah manusia, pankreas, dan diisolasi dari *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis* (pada suhu 70°C-90°C dan pH 6-10), serta *Bacillus licheniformis* (pada suhu 60°C dan pH 6).

Isolasi dan pemurnian enzim dilakukan berdasarkan fraksinasi dengan garam (pada suhu lebih besar dari 65°C), juga dengan penggunaan panas selektif (biasanya 70°C pada waktu 15 menit). Kemudian dilakukan pencampuran glikogen sehingga terjadi kompleks enzim-glikogen (Soebijanto, 1986).

Alfa amilase menghidrolisis ikatan alfa 1,4-glikosidik baik pada amilosa maupun amilopektin secara acak menghasilkan dekstrin, oligosakarida dan monosakarida. Sehingga, enzim ini tidak dapat mengubah pati menjadi glukosa secara menyeluruh karena beberapa pati akan diubah menjadi produk dekstrin dan maltosa. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti pH, volume enzim, dan suhu. Pada proses likuifikasi diperlukan enzim  $\alpha$ -amilase sebagai katalisator.

Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dipengaruhi oleh beberapa faktor yang diantaranya yaitu pH dan suhu. Enzim alfa amilase mempunyai kondisi optimum pada suhu 90-105°C dengan pH 5,6-6,0. Suhu yang terlampaui tinggi dari kondisi optimum akan mengganggu dan merusak enzim, sedangkan pemberian suhu yang terlampaui rendah dari kondisi optimum akan menyebabkan gelatinisasi pati tidak sempurna (Richardson, 2002).

Cara kerja alfa amilase pada molekul amilosa terjadi 2 tahap pertama yaitu degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat pula. Yang kedua, relatif sangat lambat yaitu pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir yang terjadi secara tidak acak.

Sedangkan cara kerja alfa amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan  $\alpha$ -limit dekstrin. Jenis  $\alpha$ -limit dekstrin yaitu oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6.

Aktivitas alfa amilase ditentukan dengan mengukur hasil degradasi pati, biasanya dari penurunan kadar pati yang larut atau dari kadar amilosa bereaksi dengan iodium akan berwarna coklat. Selain itu keaktifan alfa amilase dapat dinyatakan dengan cara pengukuran viskositas dan jumlah gula pereduksi yang terbentuk (Rahmawati *et al.*, 2017).

## 2. Enzim $\beta$ -amilase

Enzim  $\beta$ -amilase ( $\beta$ -1,4 glukon maltohidrolase) dapat diisolasi dari kecambah barley, ubi jalar, dan kacang kedelai. Enzim amilase memecah ikatan glukosida  $\beta$ -1,4 pada pati dan glikogen dengan membalikkan konfigurasi karbon anomeri (C) glukosa dari  $\alpha$  menjadi  $\beta$ , maka disebut  $\beta$ -amilase.

Cara hidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 oleh amilase terjadi dengan memotong dua unit glukosa dan secara bertahap pemotongan dari ujung rantai gula yang bukan pereduksi, disebut Eksiamilase. Enzim  $\beta$ -amilase aktif pada pH 5-6 (A. Y. Rahmawati & Sutrisno, 2015).

### 3. Enzim Glukoamilase

Enzim glukoamilase diproduksi dari *Aspergillus* dan *Rhizopus*, enzim ini dapat memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 dan  $\alpha$ -1,6 glikosidik. Enzim glukoamilase memecah pati dari luar dengan mengeluarkan unit-unit glukosa dari ujung bukan pereduksi polimer pati. Hasil reaksinya hanya glukosa, sehingga dapat dibedakan dengan alfa amilase dan  $\beta$ -amilase.

Enzim tersebut dapat menghidrolisis pati sampai mencapai DE 95-98 (*Dextrosa Ekuivalen* yaitu kenaikan derajat konversi) dan dengan dextrosa 93-95%. Dengan pengaruh enzim glukoamilase posisi glukosa  $\alpha$  dapat diubah menjadi  $\beta$  dengan pH optimalnya 4-5 dan suhu optimalnya 50°C-65°C. Enzim glukoamilase mempunyai standar produktivitas 2000-3000 substansi kering perkilogram enzim (Megavitry *et al.*, 2019).

## 2.6 Mekanisme Hidrolisis Pati secara Enzimatis

Hidrolisis dengan menggunakan enzim berlangsung dalam 2 tahap, yaitu:

1. Proses Likuifikasi, proses pencairan gel pati dengan menggunakan enzim alfa amilase. Hasil hidrolisisnya adalah dekstrin. Proses ini berlangsung pada suhu 85-90°C, waktu proses 30 menit, perbandingan pati dan enzim 1:0,002. Jika proses ini dilakukan pada pH dan suhu tidak optimal maka aktivitas enzim akan berkurang dan enzim akan rusak dan mati.

Reaksi:

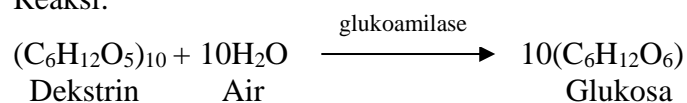


$\alpha$ -amilase adalah endo-enzim yang bekerjanya memutus ikatan  $\alpha$  – 1,4 di bagian dalam molekul pada amilosa. Alfa amilase relatif tahan panas, tetapi tidak tahan terhadap pH yang rendah. Enzim alfa amilase mempunyai suhu optimum 90 – 110°C dan pH optimum 5,0 – 7,0.

2. Proses Sakarifikasi, proses hidrolisis dekstrin menjadi glukosa dengan bantuan enzim glukoamilase. Proses ini berlangsung pada pH 4,5, suhu 60°C, dan waktu reaksi 48-96 jam. Proses ini dilakukan pada suhu dan waktu yang optimal sesuai dengan kereaktifan enzim glukoamilase, untuk waktu dan penambahan enzim

juga harus sesuai dengan substrat yang di tambahkan sehingga didapatkan kadar glukosa yang maksimal.

Reaksi:



Enzim glukoamilase bersifat eksoamilase, yaitu dapat memotong ikatan  $\alpha$ -1,4 pada pati. Disamping itu glukoamilase juga dapat memotong ikatan  $\alpha$ -1,6, sehingga molekul-molekul pati dapat dikonversikan menjadi molekul-molekul glukosa bebas. Enzim glukoamilase mempunyai suhu optimum  $50^\circ\text{C} - 65^\circ\text{C}$  dan pH optimum 4,0 – 5,0 (Robi'a & Sutrisno, 2015).

## 2.7 Faktor – faktor yang berpengaruh pada hidrolisis pati secara enzimatis

Faktor-faktor yang berpengaruh pada hidrolisis pati secara enzimatis diantaranya adalah:

### 1. Suhu

Pada umumnya semakin tinggi suhu, semakin naik laju reaksi kimia. Tetapi perlu diingat bahwa semakin tinggi suhu reaksi, inaktivasi enzim juga semakin meningkat. Suhu mempengaruhi aktivitas dan stabilitas operasi, makin besar aktivitas enzim, akan menurunkan stabilitasnya. Sebaliknya suhu yang makin rendah dapat meningkatkan stabilitas, namun produktifitas dan aktivitas enzim menurun. Hidrolisa dengan enzim glukoamilase hanya dapat dilakukan pada suhu  $60^\circ\text{C}$ .

### 2. Waktu

Semakin lama waktu reaksi, maka kadar glukosa yang dihasilkan semakin besar. Lamanya waktu reaksi juga dipengaruhi atau bergantung oleh banyaknya substrat yang dihidrolisa dan jumlah enzim yang ditambahkan.

### 3. pH

Sebagian besar aktivitas enzim dipengaruhi derajat keasaman media tempat enzim tersebut melakukan kegiatan katalitiknya. Derajat keasaman optimal yang ditunjukkan oleh enzim tertentu tidak selalu konstan. Masih ada berbagai faktor lain yang memberikan pengaruh atas aktivitas enzim tersebut.



#### 4. Kadar Suspensi Pati

Pada penggunaan kadar rendah, keseimbangan akan bergeser ke kanan dengan baik. Pada kadar suspensi tinggi mengakibatkan kekentalan campuran semakin meningkat, sehingga jumlah kandungan partikel pati tidak larut semakin meningkat.

Hal ini mengakibatkan proses hidrolisa tidak dapat berjalan dengan baik atau sempurna. Semakin banyak kadar suspensi pati yang dihidrolisa, maka waktu proses yang diperlukan untuk menghidrolisa pati tersebut akan semakin lama. Jumlah enzim yang dibutuhkan juga semakin banyak.

#### 5. Jumlah Penambahan Enzim

Semakin banyak jumlah enzim yang ditambahkan pada pati, akan menghasilkan kadar glukosa yang semakin banyak pula. Keadaan ini juga semakin mempercepat reaksi hidrolisa, untuk enzim alfa amilase digunakan perbandingan 2 kg enzim untuk setiap ton pati, sedangkan untuk enzim glukomaliase digunakan sebanyak 0,5-1,1 lt untuk setiap ton pati (A. Y. Rahmawati & Sutrisno, 2015).

### 2.8 Gula Cair

Gula cair merupakan cairan jernih dan kental yang mengandung D-glukosa, maltosa, dan polimer D-glukosa yang diperoleh dari hidrolisis pati, seperti tapioka, sagu, pati jagung, dan pati umbi-umbian. Hidrolisis dapat dilakukan dengan cara kimia atau enzimatis pada waktu dan suhu, dan pH tertentu (Budyanto, A., Martosuyono, P., & Richana, 2006).

Gula cair memiliki derajat kemanisan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan sukrosa. Gula cair termasuk golongan monosakarida yang terdiri atas satu monomer yaitu glukosa (Fратиwi, 2017).

Hidrolisis enzimatis dalam proses pembuatan gula cair memiliki beberapa kelebihan, seperti prosesnya lebih spesifik dan bisa diperoleh produk seperti yang diharapkan, proses pembuatan bisa dikontrol, biaya permurnian lebih murah, serta produk sampingan yang lebih sedikit (Azis *et al.*, 2013).

Secara singkat proses pembuatan gula cair dengan cara enzimatik adalah sebagai berikut:

1. Tahap Likuifikasi: Larutkan pati dipanaskan dan ditambahkan enzim alfa amilase, pada proses ini akan diperoleh dekstrin.
2. Tahap Sakarifikasi: Dekstrin, ditambahkan enzim glukoamilase, diperoleh gula cair.
3. Tahap penyaringan: ditujukan untuk menghilangkan kotoran serta menghentikan aktivitas enzim, sehingga diperoleh gula cair yang jernih.
4. Tahap evaporasi: proses ini untuk menaikkan kemurnian gula. Dengan pemurnian tersebut kadar kemanisan gula cair meningkat dari 30-36 °brix menjadi 60-80 °brix.

Syarat mutu sirup glukosa diatur dalam standar SNI 01-2978-1992 yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Standar Mutu Sirup Glukosa

No	Keadaan	Standar Mutu Sirup Glukosa
1	Bau	Tidak Berbau
2	Rasa	Manis
3	Warna	Tidak berwarna
4	Air (%b/b)	Maks 20
5	Abu (%)	Maks 1
6	Gula Pereduksi (Dihitung sebagai D-Glukosa) (%b/b)	Min 30
7	Pati	Tidak Nyata
	Cemaran Logam:	
8	Timbal (Pb) mg/kg	Maks 1,0
9	Tembaga (Cu) mg/kg	Maks 10,0
10	Seng (Zn) mg/kg	Maks 25,0
11	Arsen (As) mg/kg	Maks 0,5
	Cemaran Mikroba:	
12	Angka Lempeng Total	Maks $5 \times 10^2$ koloni/g
13	Bakteri coliform	Maks.20 APM/g
14	<i>E. coli</i>	< 3 APM/g
15	Kapang	Maks.50 koloni/g
16	Khamir	Maks.50 koloni/g

Sumber: (SNI 01-2978-1992)

## 2.9 Kadar Gula Pereduksi

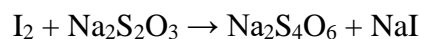
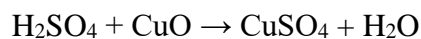
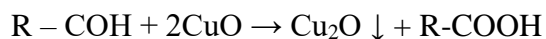
Gula pereduksi merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Contohnya adalah glukosa dan fruktosa. Ujung dari suatu gula pereduksi adalah ujung yang mengandung gugus aldehida atau keton bebas. Semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa), kecuali sukrosa dan pati (polisakarida), termasuk sebagai gula pereduksi yang berfungsi memberikan rasa manis dan penyedia energi bagi tubuh (Afriza *et al.*, 2018).

Prinsip penentuan kadar gula pereduksi ini menggunakan metode *Modified Somogyi*. Metode *Modified Somogyi* adalah suatu metode atau cara penentuan gula pereduksi dengan cara enzimatik. Pada penentuan metode ini, yang ditentukan bukannya kuprooksida yang mengendap tapi dengan menentukan kuprioksida dalam larutan sebelum direaksikan dengan gula reduksi (titrasi blanko) dan sesudah direaksikan dengan sampel gula reduksi (titrasi sampel).

Metode ini merupakan titrasi iodometri (titrasi tidak langsung) yang menggunakan Natrium tiosulfat sebagai larutan titrannya. Selisih titrasi blanko dengan titrasi sampel ekuivalen dengan kuprooksida yang terbentuk dan juga ekuivalen dengan jumlah gula pereduksi yang ada dalam bahan. Monosakarida akan mereduksikan CuO dalam larutan *Modified Somogyi* menjadi Cu<sub>2</sub>O. Kelebihan CuO akan direduksikan dengan KI berlebih, sehingga dilepaskan I<sub>2</sub>. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan banyaknya kuprioksida (Di *et al.*, 2017).

Prinsip metode analisa yang digunakan adalah Iodometri karena akan menganalisa I<sub>2</sub> yang bebas untuk dijadikan dasar penetapan kadar. Proses iodometri adalah proses titrasi terhadap iodium (I<sub>2</sub>) bebas dalam larutan. Apabila terdapat zat oksidator kuat (misal H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dalam larutannya yang bersifat netral atau sedikit asam penambahan ion iodida berlebih akan membuat zat oksidator tersebut tereduksi dan membebaskan I<sub>2</sub> yang setara jumlahnya dengan banyaknya oksidator. I<sub>2</sub> bebas ini selanjutnya akan dititrasi dengan larutan standar Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sehingga I<sub>2</sub> akan membentuk kompleks iod-amilum yang tidak larut dalam air. Oleh karena itu, dalam titrasi ini membutuhkan indikator amilum, penambahan amilum dilakukan sebelum titik ekuivalen.

Titration will be stopped when a color change from green to blue has occurred (Teknik *et al.*, 2017). The reaction that occurs in the *Modified Somogyi* method can be written as follows:



### 2.10 Response Surface Methodology (RSM)

Optimization of process conditions must be carried out to obtain a process that is optimum or efficient. *Response Surface Methodology* (RSM) is a collection of mathematical and statistical techniques, used for modeling and analysis of problems in a response that is influenced by several variables whose purpose is to optimize the response or to optimize the level of variables in order to achieve the best system performance (Deswati, 2015).

The response surface method is a strategy of experimentation that is useful if the response is influenced by several factors and the purpose of the experiment is to find the optimum response. This method covers the problem of selection of experimental design that is suitable for optimization by looking for the center point and the method of exploring the factor space to reach the optimum area quickly (Trihaditia, 2015).

*Response Surface Methodology* (RSM) is used to study the relationship between response and several factors that influence it (Hidayat *et al.*, 2008). The advantage of the RSM method is that it does not require a large number of experimental data and does not require a long time because the combination of experimental data has been determined by the RSM program.

In *Response Surface Methodology* (RSM) independent variables are defined as  $X_1, X_2, \dots, X_k$  and assumed as continuous variables, while the response variable is defined as independent variable  $Y$  (Montgomery, 2009). The general experimental design used in RSM is *Central Composite Design* (CCD) and *Box-Behnken Design* (BBD).