



KARAKTERISASI PRODUK DAN PEMODELAN KINETIKA ENZIMATIK ALFA-AMILASE PADA PRODUKSI SIRUP GLUKOSA DARI PATI JAGUNG (*ZEAMAYS*)

Efri Mardawati¹, Budi Mandra Harahap¹, Robi Andoyo², Nisa Wulandari², Devi Maulida Rahmah¹

¹ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran
efri.mardawati@unpad.ac.id

² Departemen Teknologi Industri Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

Jagung (*Zea mays*) merupakan komoditas serealia yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Komponen utama jagung adalah pati sekitar 70% dari bobot biji. Salah satu varietas jagung yang dapat digunakan dalam pembuatan sirup glukosa adalah jagung hibrida Unpad. Sirup glukosa diproduksi menggunakan proses hidrolisis enzimatis, yang terdiri dari dua tahap yaitu likuifikasi menggunakan enzim α -amilase dan sakarifikasi menggunakan campuran enzim glucoamilase dan pullunase. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan karakteristik sirup glukosa yang dihasilkan dari pati jagung dan menentukan besarnya nilai K_M dan V_{maks} α -amilase dengan variasi konsentrasi substrat pada proses pembuatan sirup glukosa. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian utama adalah metode eksperimental yang dianalisis secara deskriptif, analisis dilanjutkan dengan analisis regresi dan korelasi. Penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan konsentrasi pati jagung, yaitu 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% (b/v) dengan 2 kali ulangan. Sirup glukosa dengan karakteristik terpilih dihasilkan pada konsentrasi substrat 35% (b/v) yang memiliki karakteristik: kadar abu 0,2095%; kadar gula pereduksi 78,478%; kadar padatan terlarut 55,70°Brix; dan *yield* hidrolisis 96,7129%. Pada pemodelan enzimatis, nilai K_M dan V_{maks} enzim α -amilase yang dihasilkan berdasarkan model Lineweaver-Burk pada proses hidrolisis pati jagung berturut-turut adalah 0,8574 g/g dan $1,331 \times 10^{-3}$ g/g/menit.

Kata Kunci: Jagung, Sirup Glukosa, Likuifikasi, Sakarifikasi

1. PENDAHULUAN

Jagung (*Zea mays*) merupakan komoditas serealia yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Komponen utama jagung adalah pati sekitar 70% dari bobot biji. Penggunaan pati jagung sangat luas, baik untuk bahan pangan maupun non pangan. Sebagai bahan pangan, pati jagung dapat digunakan untuk bahan baku pembuatan dekstrosa, sirup jagung fruktosa tinggi, sirup glukosa dan maltodekstrin.

Industri makanan dan minuman di Indonesia saat ini memiliki kecenderungan untuk menggunakan sirup glukosa. Hal ini didasari oleh beberapa kelebihan sirup glukosa dibandingkan sukrosa diantaranya sirup glukosa tidak mengkristal seperti sukrosa jika dilakukan pemasakan pada temperatur tinggi dan inti kristal tidak terbentuk sampai larutan

sirup glukosa mencapai kejenuhan 75% (Sa'id, 1987).

Sirup glukosa merupakan gula cair hasil hidrolisis pati secara enzimatis ataupun asam. Hidrolisis secara asam memutus rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisis secara enzimatis memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan, yaitu prosesnya lebih spesifik, kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dihasilkan lebih sedikit abu dan produk samping, dan kerusakan warna dapat diminimalkan (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Pembuatan sirup glukosa secara hidrolisis enzimatis terdiri dari dua tahap, yaitu tahap likuifikasi menggunakan enzim α -amilase dan tahap sakarifikasi menggunakan campuran enzim glucoamilase dan pullunase. Enzim α -

amilase akan memotong ikatan α -1,4-glikosidik di bagian dalam pati (rantai amilosa dan amilopektin), sedangkan enzim glukoamilase dan pullunase akan memutus ikatan glikosidik α -1,6 pada polimer amilopektin yang tidak mampu dilakukan oleh enzim α -amilase pada tahap likuifikasi.

Parameter dalam reaksi enzimatik salah satunya adalah kecepatan reaksi hidrolisis, yaitu penguraian atau reaksi katalisis lain yang disebut *velocity* (V). Kecepatan reaksi (V) yang dikatalisis enzim meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat [S], hingga dicapai keadaan dimana penambahan konsentrasi substrat [S] tidak lagi meningkatkan laju awal reaksi dan bila semua enzim dalam keadaan jenuh oleh substrat [ES] maka laju reaksi akan mencapai keadaan maksimum (V_{maks}). Kondisi dimana V tidak dapat bertambah lagi dengan bertambahnya [S] disebut kecepatan maksimum (V_{maks}). V_{maks} merupakan salah satu parameter kinetika enzim. Hubungan antara konsentrasi substrat dan kecepatan reaksi enzimatik dinyatakan sebagai K_M (tetapan Michaelis-Menten). Nilai K_M merupakan konsentrasi substrat yang dibutuhkan oleh suatu enzim agar menghasilkan kecepatan reaksi setengah dari kecepatan maksimumnya ($V_0 = 1/2 V_{maks}$) (Shuler dan Kargi, 2002).

2. METODOLOGI

2.1. BAHAN DAN ALAT

Bahan-bahan yang digunakan antara lain biji jagung hibrida Unpad, enzim α -amilase (Liquozyme Supra produksi Novozyme AS), dan campuran enzim glukoamilase dan pullunase (Dextrozyme DX 1.5X produksi Novozyme AS). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah aquades, Na_2SO_3 0,2%, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, larutan Luff Schoolr, larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, HCl 2,5%, NaOH 4 N, indikator amilum 1%, KI 30%, H_2SO_4 6 N, indikator PP 1%, pereaksi DNS, dan larutan glukosa.

Alat-alat yang digunakan antara lain *waterbath*, oven *blower*, oven, *centrifuge*, *rotary evaporator*, *vacuum filter*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, neraca analitik, termometer, pH meter, *micropipet*, kertas saring, *incubator shaker*, spektrofotometer, spatula, *grinder*, ayakan 100 mesh, desikator, krustang, ball pipet, pipet ukur, labu ukur, *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, corong kaca, buret, klem, baskom, loyang aluminium, dan botol kaca.

2.2. PEMBUATAN PATI JAGUNG

Pati jagung dibuat dengan metode penggilingan basah (BeMiller dan Whistler, 2009). Biji jagung dibersihkan kotoran dan kontaminan asing, kemudian direndam dalam larutan Na_2SO_3 konsentrasi 0,20%(b/v) dengan perbandingan 1:2. Perendaman dilakukan selama 48 jam pada temperatur 50°C. Biji jagung hasil perendaman digiling kasar dengan penambahan air (1:1) menggunakan *blender* kecepatan rendah selama 15 detik.

Lembaga dipisahkan dari pecahan kernel jagung dengan cara pencucian (air : jagung; 4:1) dan pengapungan. Pecahan endosperm jagung digiling halus dalam *blender* kecepatan tinggi selama 2 menit dengan penambahan air (1 : 0,3). Bubur jagung disaring dengan kain saring untuk memisahkan ampas dan filtrat. Pemisahan dilakukan dengan penambahan air : jagung (6:1).

Filtrat didekantasi selama 12 jam, kemudian bagian airnya dibuang sedangkan endapan (pati) dibilas kembali menggunakan NaOH 0,1 N dengan perbandingan NaOH : biji jagung (0,25:1). Setelah itu dilakukan pengadukan dan sentrifugasi untuk memisahkan NaOH 0,1N. Endapan dicuci dengan cara menambahkan air (2:1). Proses pencucian diulang sebanyak 3 kali. Pati dikeringkan menggunakan oven dengan temperatur 50°C \pm 2°C selama 6 jam hingga kadar air kurang dari 15%.

2.3. LIKUIFIKASI PATI

Suspensi pati jagung 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% (b/v) dikondisikan pada pH 5,4 dengan melakukan penambahan HCl 0,1 N. Hidrolisis

pati jagung dilakukan pada temperatur 90°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) selama 50 menit, dengan penambahan enzim α -amilase sebanyak 0,65 mL/kg (v/b).

Pengambilan sampel dilakukan pada menit ke-0, 10, 20, 30, 40, dan 50 menit. Sampel tersebut diinaktivasi dengan penambahan HCl 0,1 N hingga mencapai pH 3,8. Supernatan dipisahkan dari padatan dengan melakukan sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm, kemudian supernatan tersebut diuji kandungan gula pereduksi dengan metode DNS (Miller, 1959). Inaktivasi enzim hasil likuifikasi dilakukan dengan penambahan HCl 0,1 N hingga pH 4,3.

2.4. SAKARIFIKASI

Dextrozyme DX 1,5X (campuran glucoamilase dan pullunase) ditambahkan ke dalam dekstrin sebanyak 0,84 mL/kg (v/b), hidrolisis dilakukan selama 48 jam pada temperatur 60°C. Inaktivasi enzim hasil sakarifikasi dilakukan dengan penambahan HCl 0,1 N hingga pH 3,8. Sirup glukosa kemudian dinetralkan menggunakan NaOH 0,1 N hingga mencapai pH 7.

Sirup glukosa hasil sakarifikasi selanjutnya disaring untuk memisahkan partikel-partikel kasar, serat, lemak, dan protein yang menggumpal selama proses sakarifikasi. Filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga memiliki kekentalan 40% (b/v).

2.5. STUDI KINETIKA REAKSI ENZIMATIK α -AMILASE

Tingkat likuifikasi dinyatakan sebagai *dextrose equivalent* (DE), merupakan total gula pereduksi yang dinyatakan sebagai dekstroza dan dikalkulasikan sebagai presentase dari bahan kering. Nilai DE pada beberapa konsentrasi substrat (15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% (b/v)) dan waktu pengamatan (0, 10, 20, 30, 40, dan 50 menit) digunakan dalam studi kinetika enzimatik α -amilase pada proses likuifikasi. Kinetika reaksi enzimatik α -amilase dimodelkan berdasarkan persamaan Michaelis-Menten sebagai berikut (Mardawati, 2014):

$$V = \frac{V_{\text{maks}}[S]}{K_M + [S]} \quad (1)$$

2.6. ANALISIS

Analisis yang dilakukan terhadap sirup glukosa meliputi kadar abu (AOAC, 1995), kadar gula pereduksi metode DNS (Miller, 1959), kadar padatan terlarut metode refraktometri (AOAC, 1984), *yield* hidrolisis (Chen *et al.*, 2007), dan penentuan perlakuan terpilih (De Garmo *et al.*, 1984). *Yield* hidrolisis dapat diketahui berdasarkan kadar gula pereduksi sirup glukosa dan kadar pati dari substrat yang digunakan. *Yield* hidrolisis enzimatik dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Yield hidrolisis (\%)} = (\text{Gula pereduksi (\%)} \times 0,9 \times 100) / \text{Kadar pati (\%)} \quad (2)$$

Analisis yang dilakukan terhadap dekstrin meliputi nilai DE, kinetika reaksi enzimatik α -amilase (Nilai K_M dan V_{maks}), dan validasi nilai konstanta Michaelis-Menten.

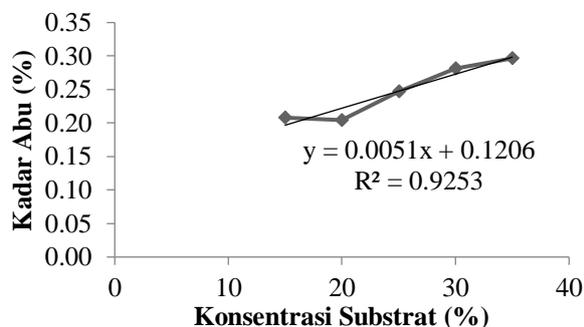
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. KADAR ABU SIRUP GLUKOSA

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran organik (Sudarmadji, 1996). Pengaruh kadar abu sirup glukosa terhadap konsentrasi substrat dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan hasil analisis regresi terdapat hubungan antara kadar abu sirup glukosa terhadap konsentrasi substrat. Bentuk hubungan keduanya berupa kurva linier $y = 0,0051x + 0,1206$.

Berdasarkan Gambar 1., kadar abu sirup glukosa yang dihasilkan berkisar antara 0,2044%-0,2965% (b/v). Kadar abu sirup glukosa yang dihasilkan memenuhi standar SNI 01-2978-1992 untuk sirup glukosa, yaitu maksimal 1%. Kadar abu yang terdapat dalam sirup glukosa dapat berasal dari sumber pati yang digunakan atau penyesuaian pH selama proses hidrolisis atau pemurnian (Kearsley dan Dziedzic, 1995). Menurut Swinkles (1985), setiap pati mengandung zat anorganik dalam

jumlah sedikit. Kandungan zat anorganik yang terdapat pada pati komersial umumnya terdiri dari natrium, potasium, kalsium, dan magnesium.



Gambar 1. Hubungan antara Kadar Abu Sirup Glukosa terhadap Konsentrasi Substrat

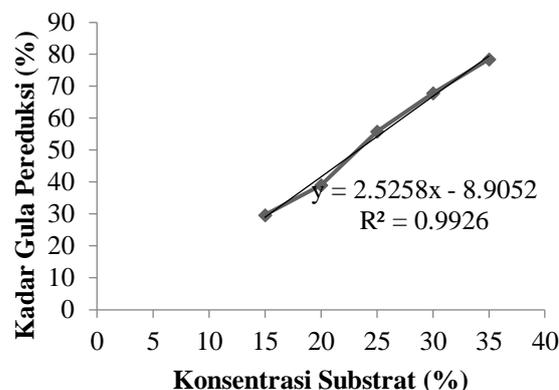
3.2. KADAR GULA PEREDUKSI SIRUP GLUKOSA

Sebagian besar gula yang dihasilkan pada proses hidrolisis pati adalah gula pereduksi, sehingga pengukuran kandungan gula pereduksi dapat dijadikan alat pengontrol kualitas hasil penelitian hidrolisis pati. Berdasarkan hasil analisis regresi terdapat hubungan antara kadar gula pereduksi sirup glukosa terhadap konsentrasi substrat. Bentuk hubungan keduanya berupa persamaan linier $y = 2,5258x - 8,9052$; seperti dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil tertinggi kadar gula pereduksi yang dihasilkan yaitu sebesar 78,478% terdapat pada konsentrasi substrat 35% (b/v), sedangkan kadar gula pereduksi terendah sebesar 29,742% terdapat pada konsentrasi substrat 15% (b/v). Kadar gula pereduksi sirup glukosa yang dihasilkan memenuhi standar SNI 01-2978-1992 untuk sirup glukosa yaitu minimal 30%.

Berdasarkan Gambar 2., gula pereduksi sirup glukosa yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi pati jagung. Hal ini disebabkan peningkatan konsentrasi substrat tersebut dapat meningkatkan reaksi enzim. Kecepatan reaksi (V) yang dikatalisis enzim meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat [S], hingga

dicapai keadaan dimana penambahan konsentrasi substrat [S] tidak lagi meningkatkan laju awal reaksi dan bila semua enzim dalam keadaan jenuh oleh substrat [ES] maka laju reaksi akan mencapai keadaan maksimum (Shuler dan Kargi, 2002).

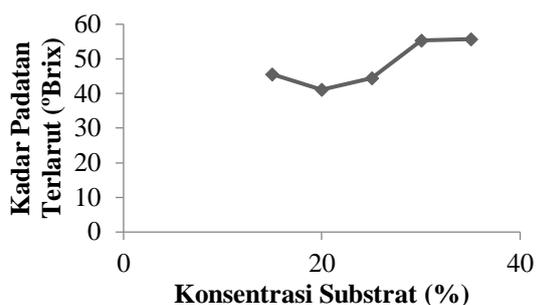


Gambar 2. Hubungan antara Kadar Gula Pereduksi Sirup Glukosa terhadap Konsentrasi Substrat

3.3. KADAR PADATAN TERLARUT SIRUP GLUKOSA

Konsentrasi zat murni yang terlarut di dalam air sebanding dengan indeks bias ketika diukur pada suhu tertentu. Indeks bias sirup glukosa dapat diukur menggunakan refraktometer, yang berkaitan langsung dengan kandungan padatan kering, dan digunakan oleh industri untuk mengontrol proses evaporasi (Kearsley dan Dziedzic, 1995). Hubungan antara kadar padatan terlarut terhadap konsentrasi substrat dapat dilihat pada Gambar 3.

Kadar padatan terlarut yang dihasilkan (Gambar 3.) berkisar antara 41,10°-55,70°Brix. Derajat Brix adalah jumlah zat pada semua yang larut (dalam g) setiap 100 g larutan baik itu sukrosa, fruktosa, dan lain sebagainya (Munte, 2014). Kadar padatan terlarut sirup glukosa cenderung mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat.



Gambar 3. Hubungan antara Kadar Padatan Terlarut Sirup Glukosa terhadap Konsentrasi Substrat

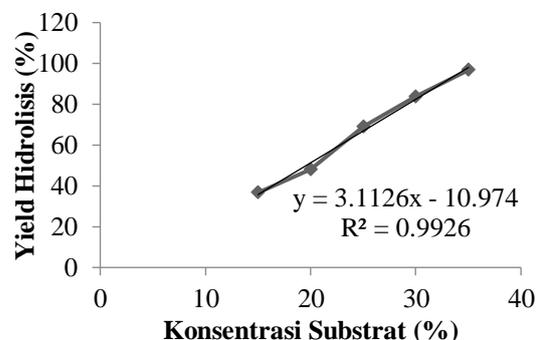
Menurut Buckle *et al.*, (1987), semakin tinggi kadar gula maka total padatan terlarut pada produk akan semakin besar. Akan tetapi, pada konsentrasi substrat 20% dan 25% (b/v) kadar padatan terlarut sirup glukosa lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi substrat 15% (b/v). Tren nilai kadar padatan terlarut yang tidak sesuai dengan tren nilai kadar gula pereduksi dapat disebabkan terdapat komponen lain selain glukosa yang terukur sebagai kadar padatan terlarut sirup glukosa. Komponen yang terukur sebagai total padatan terlarut dapat berupa asam organik, sukrosa, gula reduksi, garam dan protein yang sangat berpengaruh terhadap nilai °Brix (Ranken dan Kill, 1993 *dikutip* Andriani, 2015).

3.4. YIELD HIDROLISIS SIRUP GLUKOSA

Yield hidrolisis menunjukkan seberapa besar glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis dalam satuan persen. Berdasarkan hasil analisis regresi (Lampiran 7.) terdapat hubungan antara *yield* hidrolisis sirup glukosa terhadap konsentrasi substrat. Bentuk hubungan keduanya berupa persamaan linier $y = 3,1126x - 10,974$; seperti dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 2. dan Gambar 4. menunjukkan kadar gula pereduksi dan *yield* hidrolisis memiliki tren yang sama, yaitu dengan meningkatnya konsentrasi substrat kadar gula pereduksi dan *yield* hidrolisis yang dihasilkan mengalami peningkatan. *Yield* hidrolisis sirup glukosa yang dihasilkan berkisar antara 36,6530% - 96,7129%. Besarnya nilai *yield* hidrolisis

bergantung pada konsentrasi substrat, jenis pati, konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, kecepatan agitasi, ukuran granula pati, dan viskositas pati (Ramachandran *et al.*, 2013).



Gambar 4. Hubungan antara Yield Hidrolisis Sirup Glukosa terhadap Konsentrasi Substrat

3.5. PERLAKUAN TERPILIH

Penentuan perlakuan terpilih dilakukan dengan menggunakan metode indeks efektivitas (*effectiveness index*) (De Garmo *et al.*, 1984). Hasil analisis dengan metode De Garmo perlakuan terpilih dipilih berdasarkan nilai total perlakuan yang tertinggi. Matriks dari perlakuan terpilih dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan matriks perlakuan terpilih (Tabel 1.) dapat diketahui bahwa penggunaan konsentrasi pati jagung 35% (b/v) dapat menghasilkan hasil yang baik dari hampir setiap kriteria pengamatan untuk sirup glukosa, berupa kadar gula pereduksi, *yield* hidrolisis, dan kadar padatan terlarut.

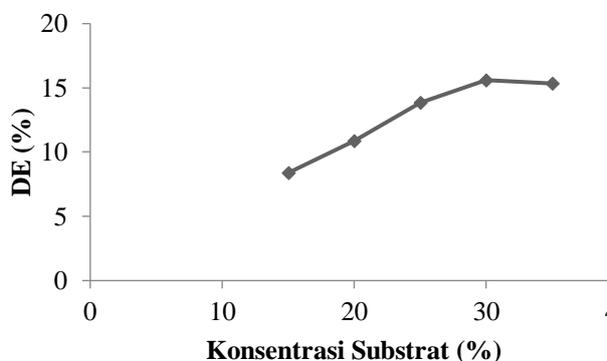
Kadar gula pereduksi dan kadar abu sirup glukosa dengan perlakuan konsentrasi substrat 35% (b/v) masing-masing sebesar 78,478% dan 0,2965% memenuhi standar SNI 01-2978-1992, yaitu minimal 30% untuk kadar gula pereduksi dan maksimal 1% untuk kadar abu. Dengan demikian perlakuan terpilih dari perlakuan yang digunakan adalah perlakuan penggunaan konsentrasi pati jagung sebesar 35% (b/v).

Tabel 1. Jumlah Matriks Perlakuan Terpilih Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan	Kadar Gula Pereduksi	Yield Hidrolisis	Kadar Padatan Terlarut	Kadar Abu	Total
Konsentrasi 15%	0,0000	0,0000	0,0730	0,1976	0,2706
Konsentrasi 20%	0,0565	0,0509	0,0000	0,2059	0,3132
Konsentrasi 25%	0,1581	0,1423	0,0553	0,1102	0,4660
Konsentrasi 30%	0,2304	0,2074	0,2298	0,0335	0,7011
Konsentrasi 35%	0,2941	0,2647	0,2353	0,0000	0,7941

3.6. DE (DEXTROSE EQUIVALENT) DEKSTRIN

DE merupakan ukuran dari total gula pereduksi yang dihitung sebagai D-glukosa berdasarkan berat kering (BeMiller dan Whistler, 2009). Hubungan antara nilai DE dekstrin dengan konsentrasi substrat dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan Nilai DE Dekstrin terhadap Konsentrasi Substrat

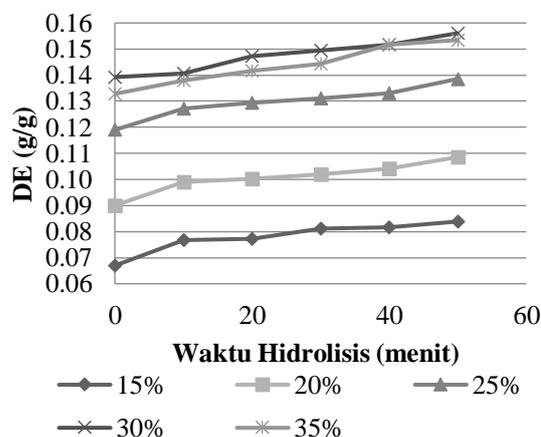
Berdasarkan Gambar 5., semakin tinggi konsentrasi substrat maka nilai DE dekstrin akan semakin meningkat hingga konsentrasi substrat 30% (b/v). Nilai DE yang dihasilkan pada konsentrasi substrat 35% (b/v) sudah tidak mengalami peningkatan.

Menurut Poedjadi (1994), pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif enzim telah dipenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Enzim α -amilase

(Liquozyme Supra) sudah dalam keadaan jenuh oleh substrat, sesuai dengan model Michaelis-Menten. Model ini menjelaskan pada konsentrasi enzim tertentu, meningkatnya konsentrasi substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi sampai akhirnya terjadi kejenuhan dimana kecepatan reaksi tidak naik lagi (sudah jenuh).

3.7. KINETIKA REAKSI ENZIMATIK (NILAI K_M DAN V_{MAKS}) α -AMILASE

Penentuan kinetika enzimatik α -amilase dilakukan menggunakan beberapa variasi konsentrasi substrat pati jagung, yaitu 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35% (b/v). Proses hidrolisis dilakukan selama 50 menit dengan selang waktu pengamatan 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 menit. Hubungan antara nilai DE yang dihasilkan pada beberapa konsentrasi substrat dengan selang waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan *Dextrose Equivalent* pada Berbagai Konsentrasi Substrat terhadap Waktu Hidrolisis

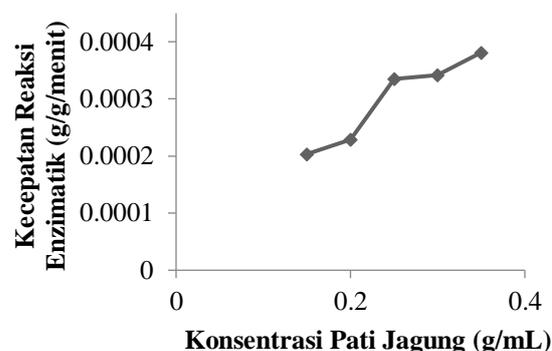
Berdasarkan Gambar 6., pada menit ke-0 proses hidrolisis pati jagung nilai DE dekstrin pada setiap konsentrasi substrat berbeda. Hal ini disebabkan pati jagung telah mengalami hidrolisis asam terlebih dahulu akibat penyesuaian pH menggunakan larutan HCl 0,1 N dan terjadi proses pemanasan hingga mencapai suhu 90°C. HCl akan merusak ikatan polisakarida dalam bahan dengan memotong secara acak molekul polisakarida menjadi bagian yang lebih kecil. Akibatnya, jumlah polisakarida yang terhidrolisis lebih banyak dan jumlah gula pereduksi dalam hidrolisat lebih tinggi (Setiawan dan Sunarti, 2006).

Gambar 6. menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka nilai DE yang dihasilkan semakin besar dan pada waktu hidrolisis 40 menit, peningkatan nilai DE sangat kecil. Hal ini disebabkan semakin lama waktu hidrolisis, maka semakin banyak pati yang dipecah menjadi glukosa. Namun, semakin lama waktu dan bertambahnya konsentrasi substrat menyebabkan *yield* glukosa yang dihasilkan menurun disebabkan kemampuan enzim untuk mengubah pati menjadi glukosa semakin menurun (Jamilatun *et al.*, 2004).

Laju reaksi (v) yang didapatkan merupakan kecepatan awal yang didapat pada konsentrasi substrat dan enzim tertentu, kemudian produk yang terbentuk dihubungkan dengan waktu hidrolisis. Slope awal dari hubungan antara produk yang dihasilkan dengan waktu hidrolisis merupakan kecepatan awal dari reaksi yang dikatalisis oleh enzim dan konsentrasi substrat tertentu, sehingga $v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{-d[S]}{dt}$. Selanjutnya konsentrasi substrat divariasikan dengan menggunakan konsentrasi enzim yang sama, sehingga dihasilkan satu set data yang menghubungkan kecepatan reaksi (kecepatan awal, v) dengan konsentrasi substrat.

Hubungan antara konsentrasi substrat pati jagung dengan kecepatan awal enzim (slope)

dapat dilihat pada Gambar 7. Pengambilan slope pada penelitian ini adalah pada waktu 20-50 menit untuk konsentrasi substrat 15% (b/v), 10-50 menit untuk konsentrasi substrat 20% (b/v), 0-50 menit untuk konsentrasi substrat 25-30% (b/v) dan 10-30 menit untuk konsentrasi substrat 35% (b/v).



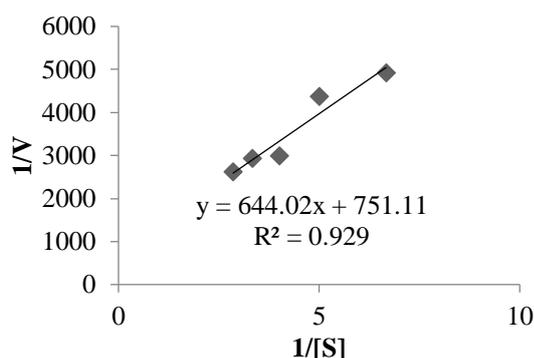
Gambar 7. Hubungan antara Kecepatan Reaksi Enzimatis terhadap Konsentrasi Pati Jagung pada Proses Hidrolisis Pati Jagung

Gambar 7. menunjukkan bahwa kecepatan reaksi hidrolisis meningkat tajam hingga mencapai konsentrasi substrat 25% (b/v) (0,25 g/mL), kemudian meningkat hingga konsentrasi substrat 35% (b/v) (0,35 g/mL) tetapi peningkatannya sudah mengecil. Hal ini disebabkan enzim sudah dalam keadaan jenuh oleh substrat, sesuai dengan model Michaelis-Menten. Model ini menjelaskan pada konsentrasi enzim tertentu, meningkatnya konsentrasi substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi sampai akhirnya terjadi kejenuhan dimana kecepatan reaksi tidak naik lagi (sudah jenuh). Sehingga Model Michaelis-Menten sering disebut sebagai model kinetika jenuh (*saturation kinetic*).

Beberapa pakar berusaha memperoleh hubungan kinetik tersebut dalam bentuk garis lurus. Tiga cara linearisasi klasik dari model Michaelis-Menten didasarkan pada hubungan $y=ax+b$. Metode linearisasi yang digunakan adalah *Double Reciprocal plot* (Lineweaver-Burk *plot*). Persamaan Lineweaver-Burk merupakan kebalikan dari persamaan Michaelis-Menten sehingga hubungan antara laju reaksi enzim dan konsentrasi substrat akan

berubah menjadi $\frac{1}{V}$ dan $\frac{1}{[S]}$. Persamaan ini menghubungkan $\frac{1}{V}$ dan $\frac{1}{[S]}$: $\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}}$. Grafik hubungan antara $\frac{1}{V}$ sebagai sumbu y dan $\frac{1}{[S]}$ sebagai sumbu x dapat dilihat pada Gambar 8.

Berdasarkan Gambar 8. terlihat bahwa kinetika reaksi enzimatik dapat dimodelkan dengan baik mengikuti model Michaelis-Menten, hal tersebut dibuktikan dengan nilai R^2 sebesar 0,929. Persamaan regresi linier $y = 644,02x + 751,11$ dimasukkan ke dalam persamaan Lineweaver-Burk $\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{maks}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}}$, maka diperoleh nilai $K_M = 0,8574 \text{ g/g}$ and $V_{maks} = 1,331 \times 10^{-3} \text{ g/g/menit}$, sehingga persamaan Michaelis-Menten menjadi $V = \frac{1,331 \times 10^{-3} [S]}{0,8574 + [S]}$.



Gambar 8. Hubungan antara $\frac{1}{V}$ dan $\frac{1}{[S]}$ pada Proses Hidrolisis Pati Jagung Metode Linearisasi *Lineweaver-Burk Plot*

Nilai K_M sangat bervariasi untuk setiap enzim, bahkan untuk substrat yang berbeda dengan enzim yang sama. Nilai K_M yang kecil menunjukkan enzim memiliki afinitas yang tinggi terhadap substrat, sehingga semakin rendah konsentrasi substrat yang dibutuhkan untuk mencapai kecepatan reaksi katalitik

maksimumnya (V_{maks}). Sedangkan nilai K_M yang besar menunjukkan bahwa enzim tersebut memiliki afinitas yang rendah terhadap substrat (Hamilton *et al.*, 1999).

3.8. VALIDASI NILAI KONSTANTA MICHAELIS-MENTEN

Validasi nilai konstanta pada persamaan Michaelis-Menten dilakukan untuk mengetahui nilai V_{maks} dan K_M yang didapatkan dapat diaplikasikan pada proses hidrolisis pati jagung menjadi dekstrin menggunakan enzim α -amilase.

Validasi nilai V_{maks} dan K_M dilakukan terhadap proses likuifikasi pati jagung dengan konsentrasi suspensi pati jagung di luar konsentrasi substrat yang menjadi perlakuan namun masih berada dalam rentang 15%-35% (b/v) dan dipilih secara acak, yaitu sebesar 22% dan 33% (b/v). Konsentrasi pati jagung yang digunakan dimasukkan ke dalam persamaan Michaelis-Menten $V = \frac{1,331 \times 10^{-3} [S]}{0,8574 + [S]}$ sehingga nilai kecepatan reaksi enzim masing-masing konsentrasi substrat dapat diketahui. Tabel validasi nilai konstanta Michaelis-Menten dapat dilihat pada Tabel 2.

Nilai validasi persamaan Michaelis-Menten yang diujikan pada konsentrasi substrat 22% (b/v) dan 33% (b/v) cukup tinggi, masing-masing sebesar 64,758% dan 64,714%. Adanya penyimpangan nilai DE yang dihasilkan dengan nilai DE yang diperkirakan berdasarkan persamaan Michaelis-Menten dapat disebabkan waktu hidrolisis yang terlalu lama. Semakin lama waktu hidrolisis pati, maka semakin banyak pati yang dipecah menjadi molekul lebih sederhana. Hal ini disebabkan waktu kontak antara enzim dan substrat menjadi lebih lama (Risnoyatiningih, 2011).

Tabel 2. Validasi Nilai Konstanta Michaelis-Menten

Konsentrasi Pati Jagung (%)	Kecepatan Reaksi Enzim (V) (g/g/menit)	DE model (%)	DE Hasil Eksperimen (%)	Nilai Validasi (%)
22	$1,281 \times 10^{-3}$	10	15,442	64,758

33

 $1,297 \times 10^{-3}$

15

23,179

64,714

4. SIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi pati jagung 35% (b/v) menghasilkan sirup glukosa dengan karakteristik terpilih yaitu kadar abu 0,2965%; kadar gula pereduksi 78,478%; kadar padatan terlarut 55,70 °Brix; dan *yield* hidrolisis 96,7129%. Nilai K_M dan V_{maks} enzim α -amilase yang dihasilkan berdasarkan model Lineweaver-Burk pada proses hidrolisis pati jagung berturut-turut adalah 0,8574 g/g dan $1,331 \times 10^{-3}$ g/g/menit, sehingga persamaan Michaelis-Menten yang didapatkan adalah $V = \frac{1,331 \times 10^{-3} [S]}{0,8574 + [S]}$. Nilai validasi persamaan Michaelis-Menten yang diujikan pada konsentrasi substrat 22% (b/v) dan 33% (b/v) masing-masing sebesar 64,758% dan 64,714%. Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan proses pemurnian menggunakan karbon aktif atau membran filtrasi untuk meningkatkan kemurnian sirup glukosa agar dihasilkan sirup glukosa dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi.

5. DAFTAR PUSTAKA

Andriani, S dan Yunianta. (2015). Pembuatan Sirup Glukosa Berantioksidan dari Pati Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) Secara Hidrolisis Enzimatis. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (3), 1128-1135.

AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis*. Washington D C: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. Washington D C: Association of Official Analytical Chemists.

Bemiller, J. dan R, Whistler. (2009). *Starch Chemistry and Technology*. Third Edition. Academic Press, USA.

Chen, M., L. Xia., dan P. Xue. (2007). Enzymatic Hydrolysis of Corn cob and Ethanol Production from Cellulosic

Hydrolysate. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59, 85–89.

De Garmo, E. D., W. G. Sullivan and J. R. Canada. (1984). *Engineering Economics*. New York: Mc. Millan Publishing Company.

Hamilton, L. M., Catherine, T. K., dan William, M. F. (1999). Purification And Properties Of The Raw Starch-Degrading α -Amylase of *Bacillus* sp. IMD 434. *Biotechnology Letters*, 21, 111–115.

Jamilatun, S., Sumiyati, Y. dan Handayani, R. N. (2004). Pengambilan Glukosa dari Tepung Biji Nangka dengan cara Hidrolisis Enzimatis Kecambah Jagung. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa kimia dan Proses*, 1-5.

Kearsley, M.W. dan Dziedzic, S.Z. (1995). *Handbook of Starch Hydrolysis Product and Their Derivatives First Edition*. Cambridge: Great Britain By University Press.

Mardawati, E., Werner, A., Bley, T., Kresnowati, MTAP., Setiadi, T. (2014). The Enzymatic Hydrolysis of Oil Palm Empty Fruit Bunches to Xylose. *Journal of The Japan Institute of Energy*, 93, 973-978.

Miller, G. L. (1959). *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar*. *Analytical Chemistry*. 31 (3).

Munte, C. U., Lubis, Z., dan limbong, L. N. (2014). Pengaruh Penambahan Sari Markisa dan Perbandingan Gula dengan Sorbitol terhadap Mutu Selai Lembaran Jambu Biji Merah. *J.Rekayasa Pangan dan Pert.*, 2 (2).

Poedjadi, A. (1994). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

Ramachandran, Veena., N. Pujari., T. Matey., dan S. Kulkarni. (2013). Enzymatic

Hydrolysis for Glucose-A Review.
*International Journal of Science,
Engineering and Technology Research
(IJSETR)*, 2 (10).

Risnoyatiningsih, Sri. (2011). Hidrolisis Pati Ubi
Jalar Kuning Menjadi Glukosa secara
Enzimatis. *Jurnal Teknik Kimia*, 5 (2).

Sa'id, G. (1987). *Biokonversi Penerapan
Teknologi Fermentasi*. Jakarta: Widyatama
Sarana Perkasa.

Shuler, M. L. dan F. Kargi. (2002). *Bioprocess
Engineering Basic Concepts 2nd Edition*.
United States: Prentice-Hall, Inc.

Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi.
(1996). *Analisa Bahan Makanan dan
Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.

Swinkles. (1985). *Source of Starch, Its
Chemistry and Physics*. In : G. M. A. V.
Beynum and J. A. Roels. *Starch Conversion
Technology*. New York: Marcel Dekker, Inc.

Tjokroadikoesoemo, S. (1986). *HFS dan
Industri Ubi Kayu Lainnya*. Jakarta: PT
Gramedia.

6. NOMENKLATUR

V	Kecepatan reaksi enzimatis (g/g/menit)
V_{max}	Kecepatan maksimum reaksi enzimatik (g/g/menit)
K_M	Konstanta Michaelis-Menten (g/mL)
[S]	Konsentrasi substrat (g/mL)