

REPUBLIC INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LPPM UNIVERSITAS HASANUDDIN
Jl. Perintis Kemerdekaan Km.10, Tamalanrea,
Makassar 90245

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES PRODUKSI SIROP GLUKOSA DARI TAPIOKA
DENGAN SAKHARIFIKASI SISTEM SEMIKONTINYU
DENGAN IMOBILISASI AMILOGLUKOSIDASE PADA
MATRIKS BATU APUNG

Inventor : Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS
Prof. Dr. Ir. Salengke, M.Sc
Dr. Adiansyah Syarifuddin, S.TP., M.Si

Tanggal Penerimaan : 22 Agustus 2016

Nomor Paten : IDP000058423

Tanggal Pemberian : 07 Mei 2019

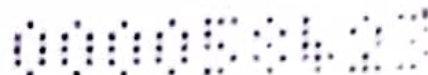
Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000058423 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 07 Mei 2019

(51) Klasifikasi IPC⁸ C 12P 19/00

(21) No. Permohonan Paten : P15201605497

(22) Tanggal Penerimaan: 22 Agustus 2016

(30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 16 Maret 2018

(56) Dokumen Pembanding
RTM Sutamihardja dkk, HIDROLISIS ASAM KLOORIDA TEPUNG
PATI SINGKONG (Manihot esculenta Crantz) DALAM
PEMBUATAN GULA CAIR, Jurnal Sains Natural Universitas Nusa
Bangsa Vol. 5, No 1, Januari 2015, hal 83 – 91
Membuat Gula Cair Dan Singkong, Mitra bisnis UKM,
<http://www.mitrabisnis-ukm.com/2015/03/membuat-gula-cair-dari-singkong.html>, 2015

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
LPPM UNIVERSITAS HASANUDDIN
Jl. Penntis Kemerdekaan Km.10, Tamalanrea,
Makassar 90245

(72) Nama Inventor :
Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS, ID
Prof. Dr. Ir. Salengke, M Sc, ID
Dr. Adiansyah Syarifuddin, S TP, M Si, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Dra. Sri Sulistiyani, M Si

Jumlah Klaim : 5

Judul Invensi : PROSES PRODUKSI SIROP GLUKOSA DARI TAPIOKA DENGAN SAKHARIFIKASI SISTEM SEMIKONTINYU DENGAN IMOBILISASI AMILOGLUKOSIDASE PADA MATRIKS BATU APUNG

Abstrak :

Invensi ini mengenai suatu proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioka dengan sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan enzim amiloglukosidase terimobil pada matriks batu apung dilakukan melalui tahap-tahap: (a) Penyiapan matriks batu apung dengan ukuran 1-2 cm3 direbus selama 30 menit sebanyak dua kali lalu dikeringkan pada suhu 60 -100 °C selama 2 -3 jam, (b) Imobilisasi enzim amiloglukosidase sebanyak 8 ml dalam buffer fosfat dicampur dengan matriks batu apung lalu di diamkan dalam refrigerator (suhu 0-1 °C) selama 24 jam, (c) Penyiapan suspensi tapioka sebanyak 30 % (b/v) dan pengaturan pH 5-7 dengan HCl dan penambahan ion alsiium sebanyak 60 ppm dan α-amilase sebanyak 0,1 % (b/b), (d) Gelatinisasi tapioka dengan pemanasan hingga suhu 105 °C selama 5 menit, (e) Likuifikasi tapioka menggunakan enzim α-amilase sebanyak 0,1 (b/b) pada suhu 90 °C selama 60-90 menit untuk menghasilkan hidrolisat tapioka (maltodekstrin), dan (f) Sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan substrat maltodekstrin dalam kolom dengan suhu 60 °C dan bensi enzim amiloglukosidase terimobil, selanjutnya sirop glukosa yang terbentuk dialirkan keluar dengan kecepatan rata-rata 10 ml per menit. Dengan demikian pemakaian batu apung sebagai matriks untuk imobilisasi enzim pada proses sakharifikasi sistem semikontinyu masih efektif digunakan hingga jam ke 252.





Deskripsi

PROSES PRODUKSI SIROP GLUKOSA DARI TAPIOKA DENGAN SAKHARIFIKASI SISTEM SEMIKONTINYU DENGAN IMOBILISASI AMILOGLUKOSIDASE PADA MATRIKS BATU APUNG

5

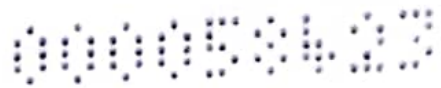
Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioka. Lebih khusus invensi ini berkaitan dengan proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioca dengan sakharifikasi dengan teknik immobilisasi pada sistem semikontinyu menggunakan batu apung sebagai matriks untuk immobilisasi enzim amiloglukosidase.

15 Latar Belakang Invensi

Gula sebagai salah satu kebutuhan pokok masyarakat, dari tahun ketahu cenderung meningkat seiring dengan peningkatan penduduk dan kesejahteraan masyarakat. Indonesia dengan penduduk sebesar 250 juta dengan kebutuhan gula 20 kg/kapita/tahun, maka kebutuhan gula nasional sebesar 5 juta ton/tahun. Saat ini produksi gula nasional belum mencukupi kebutuhan nasional. Produksi gula nasional pada tahun 2011 - 2013 berkisar antara 2,23 - 3 juta ton. Ketersediaan gula yang tidak mencukupi kebutuhan nasional memaksa pemerintah harus melakukan impor gula sekitar 2 juta ton per tahun. Olehnya itu salah satu solusi yang dapat ditempuh adalah melakukan diversifikasi sumber gula, seperti pemanfaatan tapioka sebagai bahan baku untuk produksi gula dekstrosa (sirop glukosa).

Gula merupakan salah satu kebutuhan pokok masyarakat sebagaimana fungsinya sebagai pemanis. Dewasa ini telah digunakan berbagai macam bahan pemanis alami berkalori rendah seperti gula hasil hidrolisis pati berupa sirop glukosa (dekstrosa) dan maltosa. Penggunaan sirop glukosa sebagai pemanis pada berbagai jenis industri makanan dan minuman, karena sirop glukosa memiliki beberapa kelebihan, diantaranya



sirop glukosa tidak mengkristal seperti halnya sukrosa jika dilakukan pemasakan pada suhu tinggi. Selain itu sirop glukosa juga tidak mengkristal jika dilakukan proses pendinginan. Oleh karena itu perlu dikembangkan sumber gula alternatif glukosa dengan pemanfaatan tapioka sebagai bahan baku. Pengembangan produksi sirop glukosa dengan pemanfaatan tapioka sebagai bahan baku dilakukan dengan reaksi enzimatik melalui hidrolisis parsial (reaksi likuifikasi) menggunakan enzim α -amilase dan dilanjutkan dengan reaksi sakharifikasi menggunakan enzim amiloglukosidase.

Proses produksi sirop glukosa secara enzimatik memiliki keunggulan dibandingkan dengan proses produksi secara kimia, antara lain produk lebih aman, ramah lingkungan dan biaya produksi lebih murah. Selama produksi berlangsung, enzim tersebut hanya bersifat sebagai biokatalisator, tidak ikut bereaksi dan tidak rusak selama kondisi reaksi terjaga. Untuk mengefisienkan pemakaian enzim pada proses sakharifikasi dilakukan teknik immobilisasi enzim, sehingga enzim dapat bekerja secara kontinyu dalam pembentukan sirop glukosa.

Immobilisasi enzim adalah enzim yang dilekatkan pada suatu bahan yang sifatnya inert, sehingga membatasi pergerakan enzim. Keuntungan sistem immobilisasi dalam proses biokatalik/bioproses diantaranya mempermudah proses pemisahan enzim dari produknya sehingga memungkinkan penggunaan ulang (*reuse*) dari enzim (biokatalis) tersebut. Pada invensi ini matriks yang digunakan untuk immobilisasi enzim adalah batu apung.

Batu apung (*pumice*) adalah jenis batuan yang berwarna terang, mengandung buih yang terbuat dari gelembung dan biasanya disebut juga sebagai batuan gelas vulkanik silikat. Batuan ini terbentuk dari magma asam oleh aksi letusan gunung api yang mengeluarkan materialnya ke udara, lalu terakumulasi sebagai batuan piroklastik. Batu apung mempunyai sifat vesicular yang tinggi, mengandung jumlah sel yang banyak



(berstruktur selular) akibat ekspansi buih gas alam yang terkandung di dalamnya, dan pada umumnya terdapat sebagai bahan lepas atau fragmen-fragmen dalam aksi gunung api. Sifat fisik batu apung antara lain: bobot isi ruah 480-960 kg/cm³, adsorpsi air yang rendah (16,67 %), grafitasi fisik 0,8 g/cm³, hantaran udara rendah, rasio tekanan terhadap beban tinggi, konduktifitas panas rendah dan ketahanan terhadap api hingga enam jam.

Batu apung dengan kandungan silika (SiO₂) yang tinggi mampu membentuk ikatan hidrogen, ionic dan gaya *van der Waals*, sehingga enzim relatif dapat bertahan dan tidak terlepas selama proses sakharifikasi berlangsung. Komponen silika menciptakan lingkungan enkapsulasi yang stabil bagi enzim, karena aktifitas enzim terlindungi dari agregasi. Selain itu silika memiliki kekuatan mekanik dan stabil terhadap panas yang tinggi. Juga memiliki sifat inert dan hidrofilik dan tidak mengembang dalam pelarut organik. Matriks silika juga dapat bertindak sebagai tempat penyimpanan air, sehingga meningkatkan kemampuan untuk mempertahankan aktivitas enzim terimobil.

Invensi produksi sirup glukosa sebelumnya, antara lain: (1) "Production of Glucose from Starch Using alpha-Amilases from *Bacillus Subtilis* (US 2009/0305935 A1)" dilakukan produksi glukosa dengan enzim alfa-amilase dari *Bacillus subtilis*, menggunakan substrat karbohidrat termasuk pati sayuran, maltohepsosa dan maltotriosa. Proses produksi dilakukan dengan mengurangi atau meniadakan penggunaan glukoamilase, sehingga secara signifikan meningkatkan efisiensi produk. (2) "Method for the Production of an Aqueous Glucose Solution" dengan nomor US 2010/0196964 A1. Invensi ini berhubungan dengan produksi larutan glukosa dari bahan baku jagung dengan tahapan-tahapan penggilingan, fraksinasi, likuifikasi dan sakharifikasi. (3) "Method for Manufacturing an Aqueous Glucose Solution from Plants of the Triticeae



Species" dengan nomor US 2011/0033896 A1. Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan larutan glukosa dari pati biji-bijian gandum tertentu (*Triticeae*), proses ini menghasilkan kadar glukosa minimal 32 % dari berat pati biji yang digunakan. Proses produksi glukosa pada invensi ini dilakukan dengan langkah-langkah penggilingan, fraksinasi tepung, likuifikasi dan sakharifikasi.

Pada ketiga invensi tersebut, produksi sirop glukosa pada tahap reaksi sakharifikasi (pembentukan glukosa) dilakukan dengan menggunakan enzim dalam keadaan tidak terimobil, sehingga pemakaian enzim hanya dapat digunakan satu kali. Sedangkan produksi sirop glukosa dari tapioka pada invensi ini, enzim diimobil pada matriks batu apung dan ditempatkan di dalam kolom sakharifikasi, lalu substrat hidrolisat dialirkan kedalam kolom melewati enzim terimobil tersebut, selanjutnya produk dialirkan keluar secara kontinyu dalam bentuk sirop glukosa.

Ringkasan Invensi

Invensi ini mengenai suatu proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioka dengan sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan enzim amiloglukosidase terimobil pada matriks batu apung dilakukan melalui tahap-tahap: (a) Penyiapan matriks batu apung dengan ukuran 1-2 cm³ direbus selama 30 menit sebanyak dua kali lalu dikeringkan pada suhu 60 -100 °C selama 2 -3 jam, (b) Imobilisasi enzim amilogluosidase sebanyak 8 ml dalam buffer fosfat dicampur dengan matriks batu apung lalu di diamkan dalam refrigerator (suhu 0-4 °C) selama 24 jam, (c) Penyiapan suspensi tapioka sebanyak 30 % (b/v) dan pengaturan pH 5-7 dengan HCl dan penambahan ion kalsium sebanyak 60 ppm dan α-amilase sebanyak 0,1 % (b/b), (d) Gelatinisasi tapioka dengan pemanasan hingga suhu 105 °C selama 5 menit, (e) Likuifikasi tapioka menggunakan enzim α-amilase sebanyak 0,1 (b/b) pada suhu 90 °C



selama 60-90 menit untuk menghasilkan hidrolisat tapioka (maltodekstrin), dan (f) Sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan substrat maltodekstrin dalam kolom dengan suhu 60 °C dan berisi enzim amiloglukosidase terimobil, selanjutnya sirop glukosa yang terbentuk dialirkan keluar dengan kecepatan rata-rata 10 ml per menit.

Uraian Lengkap Invensi

Proses produksi sirop glukosa dari tapioka melalui sakharifikasi sistem semikontinyu dengan mengimobil enzim amiloglukosidase pada matriks batu apung. Sistem semikontinyu dimaksudkan pada invensi ini adalah produk sirop glukosa dialirkan secara kontinyu dari kolom imobilisasi setelah waktu tinggal 12 jam, sedangkan substrat dialirkan secara berkala ke dalam kolom dimana enzim amologlukosidase terimobil. Aliran susbtrat (maltodekstrin) ke dalam kolom secara berkala untuk tetap menjaga enzim imobil pada matriks batu apung tetap terendam dengan substrat.

Invensi ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi penggunaan enzim dan pada produksi sirop glukosa dengan mengimobilisasi enzim amiloglukosidase pada matriks batu apung. Proses produksi sirop glukosa diawali dengan proses gelatinisasi yang dilanjutkan dengan likuifikasi menggunakan enzim α -amilase. Enzim α -amilase diperlukan untuk reaksi hidrolisis parsial (likuifikasi) tapioka untuk menghasilkan maltodekstrin. Maltodekstrin yang dihasilkan dalam bentuk hidrolisat digunakan sebagai substrat untuk proses sakharifikasi membentuk sirop glukosa. Proses sakarifikasi pada invensi ini dilakukan secara semikontinyu dengan mengimobilisasi enzim amiloglukosidase pada matriks batu apung. Peranan enzim amiloglukosidase dalam proses sakharifikasi adalah untuk menghidrolisis komponen maltoologosakarida secara sempurna menjadi unit-unit glukosa.



Mekanisme amiloglukosidase menghidrolisis maltooligosakarida, amilosa dan amilopektin pada ikatan α -1.4 D glikosidik dari rantai ujung non-pereduksi dengan melepaskan satu per satu unit glukosa. Enzim amiloglukosidase juga dapat menghidrolisis ikatan α -1.6 dan α -1.3 pada titik percabangan amilopektin.

Produksi sirop glukosa pada invensi ini dilakukan dengan tahapan-tahapan: (1) penyiapan matriks batu apung, (2) imobilisasi enzim amiloglukosidase, (3) penyiapan suspensi tapioka, (4) gelatinisasi tapioka, (5) likuifikasi tapioka menjadi maltodekstrin, dan (6) sakharifikasi dengan teknik imobilisasi sistem semikontinyu.

1. Penyiapan Matriks Batu Apung

Penyiapan matriks batu apung dilakukan dengan tahapan-tahapan: (1) pemilihan dan sortasi batu apung, (2) batu apung dipotong-potong kecil dengan ukuran 1-2 cm³, lalu dicuci dengan air bersih, (3) batu apung direbus pada suhu 100 °C selama 30 menit lalu didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam, (4) batu apung direbus kembali pada suhu 100 °C selama 30 menit lalu didinginkan dan ditiriskan, (5) batu apung diaktifkan dengan pengeringan dalam oven pada suhu 60 sampai 100 °C selama 2 sampai 3 jam.

2. Imobilisasi Enzim Amiloglukosidase

Imobilisasi enzim dimulai dengan pembuatan larutan buffer fosfat 0,2 M pada pH 6,0, lalu enzim amiloglukosidase (200 AGU/ml) sebanyak 8 ml disuspensikan ke dalam buffer tersebut. Kemudian suspensi enzim dicampurkan dengan matriks batu apung, lalu didiamkan selama 24 jam dalam refrigerator pada suhu (0-4 °C), selanjutnya matriks batu apung yang telah mengikat enzim amiloglukosidase (enzim imobil) dipisahkan dari buffer fosfat, lalu enzim imobil siap digunakan pada proses sakharifikasi.



3. Penyiapan Suspensi Tapioka

Penyiapan suspensi tapioka dimulai dengan penimbangan tapioka, lalu suspensi tapioka dibuat dengan menggunakan konsentrasi 30 % (b/v) dalam pelarut air. Keasaman suspensi diatur pada pH 5-7 (6,5) serta penambahan ion kalsium sebanyak \pm 60 ppm, lalu ditambahkan enzim α -amilase (Thermamil 120 KNU/g) tahap pertama sebanyak 0,1 % (b/b). Homogenitas suspensi tapioka selalu dipertahankan dengan cara pengadukan.

4. Proses Gelatinisasi

Gelatinisasi adalah terjadinya pembengkakan (*swell*) granula pati pada suhu tertentu lalu diikuti dengan absorpsi air akibat terputusnya ikatan hidrogen antara rantai pati spesifik yang terdapat pada bagian kristal granula. Proses gelatinisasi dimulai dengan memasukan suspensi tapioka ke dalam ketel pemanas. Suspensi tapioka dipanaskan sambil diaduk. Pemanasan suspensi dilakukan hingga mencapai suhu 105 °C dan dipertahankan pada suhu tersebut selama lima menit.

Proses gelatinisasi ditujukan selain untuk memecahkan granula pati, juga untuk membuka struktur kristalin pada molekul pati, sehingga molekul pati dapat diaktivasi oleh enzim baik pada tahap likuifikasi dengan α -amilase, maupun pada tahap sakharifikasi dengan enzim amiloglukosidase. Gelatinisasi merupakan fenomena kompleks yang bergantung dari ukuran granula, persentase amilosa, bobot molekul, dan derajat kristalisasi dari molekul pati di dalam granula. Makin besar bobot molekul dan derajat kristalisasi dari granula pati, pembentukan gel semakin lambat.

5. Proses Likuifikasi

Likuifikasi pati adalah proses perubahan suspensi granula pati menjadi larutan dengan viskositas yang



rendah. Likuifikasi dengan α -amilase yang diperoleh dari bakteri termostabil menghasilkan maltodekstrin dengan komponen produk yang bervariasi berupa glukosa, maltosa, maltotriosa, maltotetraosa, maltopentaosa dan maltoheksosa.

5 Proses likuifikasi dimulai dengan penambahan enzim α -amilase (Thermamil 120 KNU/g) tahap kedua sebanyak 0,1 % (b/b) ke dalam pati gelatinisasi. Reaksi likuifikasi dilakukan dalam ketel berpengaduk dengan memanaskan suspensi tapioka tergelatinisasi pada suhu 90 °C. Reaksi
10 likuifikasi dipertahankan selama 60 - 90 menit. Proses likuifikasi tersebut menyebabkan hidrolisis parsial dari komponen pati hingga diperoleh tingkat dekstrosa ekuivalen 15-20 %. Hasil likuifikasi tersebut dalam bentuk hidrolisat tapioka atau maltodekstrin disaring dan untuk selanjutnya
15 digunakan sebagai substrat pada proses sakharifikasi.

6. Proses Sakharifikasi

Proses sakharifikasi merupakan tahapan pembentukan gula melalui proses konversi maltodekstrin (hidrolisat tapioka) menjadi glukosa dengan aktifitas enzim
20 amiloglukosidase. Amiloglukosidase (EC 3.2.1.3) adalah enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis maltosa dan maltotriosa menjadi glukosa. Enzim ini melakukan pemecahan dari luar dan melepaskan unit-unit glukosa secara teratur dari ujung non-pereduksi.

25 Persiapan proses sakharifikasi terdiri dari dua tahap, yakni: (1) pengaturan keasaman substrat, dan (2) penyusunan enzim terimobil dalam kolom. Substrat yang digunakan pada tahap sakharifikasi adalah maltodekstrin sebagai produk proses likuifikasi. Substrat (maltodekstrin)
30 dengan konsentrasi 30 % b/v diatur keasamannya pada pH 4,5 dengan menggunakan HCL 0,2 N. Kemudian enzim amiloglukosidase yang terimobil pada matriks batu apung dimasukkan ke dalam kolom sakharifikasi hingga $\frac{3}{4}$ dari volume

kolom. Pada bagian dasar kolom dilapisi dengan pasir setinggi lima sentimeter dan pada bagian atas enzim terimobil (batu apung) juga dilapisi dengan pasir yang disusun dalam bentuk catridge yang berperan sebagai pemberat dan penyaring.

Sebelum proses sakharifikasi dimulai, enzim imobil disusun dalam kolom dan substrat (maltodekstrin) dialirkan ke dalam kolom hingga semua matriks batu apung terendam. Selanjutnya kolom sakharifikasi diatur pemanasannya pada suhu 60 °C, substrat dalam kolom ditahan selama 12 jam, dan untuk selanjutnya produk glukosa yang terbentuk mulai dialirkan keluar dengan kecepatan laju alir antara 5-20 ml per menit dengan laju alir rata-rata 10 ml per menit. Pada saat yang bersamaan substrat yang baru dialirkan secara bertahap ke dalam kolom untuk mempertahankan volume konstan substrat dalam kolom. Kondisi dalam kolom tetap dipertahankan pada suhu 60 °C dan produk sirup glukosa tetap dialirkan ke luar kolom secara kontinyu. Pengambilan sampel dari aliran produk sirup glukosa diambil setiap 6 jam selama proses sakharifikasi berlangsung 252 jam dengan enzim amiloglukosidase terimobil.

Perolehan gula pereduksi saat produk sirup glukosa mulai dialirkan keluar kolom terhitung sebagai 0 (nol) jam atau setelah waktu tinggal substrat dalam kolom selama 12 jam sebesar 245,64 g/L, kemudian setelah produk glukosa dialirkan secara kontinyu keluar kolom perolehan gula pereduksi cenderung meningkat sampai 320 g/L (jam ke 108). Perolehan gula pereduksi lebih lanjut cenderung stabil, kendatipun terjadi fluktuasi hingga jam ke 252 dengan nilai 289,12 g/L (Tabel 1).

Perolehan dekstrosa ekuivalen (DE) setelah waktu tinggal substrat dalam kolom selama 12 jam sebesar 74,35 %. Setelah produk sirup glukosa dialirkan secara kontinyu dari kolom imobilisasi diperoleh nilai DE yang cenderung meningkat hingga

jam ke 42 (84,54 %), lalu cenderung stabil hingga jam ke 126 (70,11 %). Pemakaian enzim imobil hingga jam ke 252 perolehan nilai DE cenderung penurunan hingga 53,23 % (Tabel 1). Akan tetapi jika mengacu pada SNI 01-2978-1992 tentang Standar Mutu Sirup Glukosa yakni kandungan glukosa minimal 30 % (b/b), maka pemakaian enzim imobil hingga jam ke 252, sirup glukosa yang dihasilkan masih memenuhi standar SNI dengan nilai dekstrosa equivalen (DE) sebesar 53,23 %. Dengan demikian pemakaian batu apung sebagai matriks untuk imobilisasi enzim pada proses sakharifikasi sistem semi kontinyu masih efektif digunakan hingga jam ke 252.

Hasil invensi ini menunjukkan bahwa penggunaan batu apung sebagai matriks imobil sistem adsorpsi efektif digunakan, karena pada matriks tersebut enzim terikat melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals antara enzim dan matriks batu apung. Keterikatan enzim pada matriks batu apung juga didukung dengan porositas yang besar yakni dapat mencapai 90 %. Keterikatan enzim amiloglukosidase pada matriks batu apung sebagai katalisator dalam proses hidrolisis amilopektin dan amilosa serta malto-oligosakarisa menjadi unit-unit glukosa, melalui pemutusan ikatan α -1.4 glikosidik dari ujung-ujung rantai non-pereduksi. Enzim amiloglukosidase juga dapat menghidrolisis ikatan α -1.6 dan α -1.3 pada titik-titik percabangan.

25

30

Tabel 1. Perolehan Gula Pereduksi dan Dekstrosa Ekuivalen pada Proses Sakharifikasi Sistem Semikontinyu dengan Enzim Amiloglukosidase Terimobil pada Matriks Batu Apung.

Lama Pemakaian Enzim Imobil (jam)	Gula Pereduksi (g/L)	Dekstrosa Ekuivalen (%)	Lama Pemakaian Enzim Imobil (jam)	Gula Pereduksi (g/L)	Dekstrosa Ekuivalen (%)
Substrat	116,60	28,76	126	289,56	70,11
0	245,64	74,35	132	269,32	66,66
6	253,93	79,01	138	296,83	68,34
12	250,96	79,37	144	278,81	66,57
18	266,53	79,93	150	272,87	64,71
24	257,17	73,68	156	305,71	69,34
30	280,69	80,61	162	283,52	64,64
36	291,78	83,37	168	283,08	61,77
42	312,19	84,54	174	306,56	67,89
48	290,45	79,75	180	294,41	61,30
54	299,22	81,50	186	292,40	62,32
60	302,88	79,03	192	301,71	62,63
66	282,91	71,19	198	288,98	60,83
72	288,23	72,57	204	292,40	64,21
78	314,41	75,09	210	305,67	64,95
84	302,43	71,40	216	302,77	64,06
90	280,42	66,03	222	326,84	61,92
96	296,35	68,03	228	295,45	58,38
102	316,22	76,18	234	291,78	57,16
108	320,35	75,40	240	285,57	55,56
114	314,92	79,92	246	297,55	55,87
120	296,53	73,50	252	289,12	53,23

5

Hasil invensi ini menunjukkan bahwa penggunaan batu apung sebagai matriks imobil sistem adsorpsi efektif digunakan, karena pada matriks tersebut enzim terikat melalui ikatan hidrolgen dan gaya *van der walls* antara enzim dan matriks batu apung. Keterikatan inzim pada matriks batu apung juga didukung dengan porositas yang besar yakni dapat mencapai 90 %. Keterikatan enzim amiloglukosidase pada matriks batu apung sebagai katalisator dalam proses hidrolisis amilopektin

10

dan amilosa serta malto-oligosakarisa menjadi unit-unit glukosa, melalui pemutusan ikatan α -1.4 glikosidik dari ujung-ujung rantai non-pereduksi. Enzim amiloglukosidase juga dapat menghidrolisis ikatan α -1.6 dan α -1.3 pada titik-titik percabangan.

Perolehan gula pereduksi dan tingkat dekstrosa ekuivalen relatif stabil selama proses sakharifikasi dengan enzim terimobil, ditampilkan pada Tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan enzim imobil pada matriks batu apung dalam pembentukan glukosa masih efektif hingga 252 jam. Efektifitas glukoamilase dalam bentuk terimobil dalam reaksi pembentukan gula karena keterikatan enzim glukoamilase pada matriks batu apung yang stabil. Batu apung memiliki kadar SiO_2 dan Al_2O_3 yang cukup tinggi masing-masing sebesar 69,75 % dan 16 %. Senyawa SiO_2 dan Al_2O_3 pada batu apung tersebut berperan dalam pembentukan ikatan H antara enzim dengan matriks batu apung. Terbentuknya ikatan hidrogen akibat interaksi antara atom oksigen pada SiO_2 dan Al_2O_3 pada batu apung dengan atom H dari gugus amino pada rantai samping residu asam amino penyusun enzim ($-\text{NH}_2$), maupun dengan atom H pada ($-\text{COOH}$) residu asam amino.

25

30

Klaim

1. Suatu proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioka dengan sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan enzim amiloglukosidase terimobil pada matriks batu apung dilakukan melalui tahap-tahap:
 - a. Penyiapan matriks batu apung dengan ukuran 1-2 cm³ direbus selama 30 menit sebanyak dua kali lalu dikeringkan pada suhu 60 -100 °C selama 2 -3 jam,
 - b. Imobilisasi enzim amilogluosidase sebanyak 8 ml dalam buffer fosfat dicampur dengan matriks batu apung lalu di diamkan dalam refrigerator (suhu 0-4 °C) selama 24 jam,
 - c. Penyiapan suspensi tapioka sebanyak 30 % (b/v) dan pengaturan pH 5-7 dengan HCl dan penambahan ion kalsium sebanyak 60 ppm dan α-amilase sebanyak 0,1 % (b/b),
 - d. Gelatinisasi tapioka dengan pemanasan hingga suhu 105 °C selama 5 menit,
 - e. Likuifikasi tapioka mmenggunakan enzim α-amilase sebanyak 0,1 (b/b) pada suhu 90 °C selama 60-90 menit untuk menghasilkan hidrolisat tapioka (maltodekstrin),
 - f. Sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan substrat maltodekstrin dalam kolom dengan suhu 60 °C dan berisi enzim amiloglukosidase terimobil, selanjutnya sirop glukosa yang terbentuk dialirkan keluar dengan kecepatan rata-rata 10 ml per menit.
2. Suatu proses produksi sirop glukosa dengan sakharifikasi sistem semikontinyu sebagaimana pada klaim 1, dimana perebusan matriks batu apung yang digunakan sebagai matriks imobil dipotong-potong kecil (1-2 cm³), lalu dicuci bersih kemudian batu apung direbus pada suhu 100 °C selam 30 menit lalu didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian direbus kembali pada suhu 100 °C selama 30 menit lalu,



setelah ditiriskan batu apung dikeringkan dalam oven pengering pada suhu 60 sampai 100 °C selama 2 sampai 3 jam;

3. Suatu proses produksi sirop glukosa dengan sakharifikasi sistem semikontinyu sebagaimana pada klaim 1, dimana proses imobilisasi enzim dimulai dengan pembuatan larutan buffer fosfat 0,2 M pada pH 6,0, lalu enzim amiloglukosidase (200 AGU/ml) sebanyak 8 ml disuspensikan ke dalam buffer tersebut, kemudian suspensi enzim dicampurkan dengan matriks batu apung, lalu didiamkan selama 24 jam dalam refrigerator pada suhu (0-4 °C), selanjutnya matriks batu apung yang telah mengikat enzim amiloglukosidase (enzim imobil) dipisahkan dari buffer fosfat, lalu enzim imobil siap digunakan pada proses sakharifikasi.
4. Suatu proses produksi sirop glukosa dengan sakharifikasi sistem semikontinyu sebagaimana pada klaim 1, dimana enzim α -amilase pada tahap c adalah enzim amilase (Thermamil 120 KNU/g).
5. Suatu proses produksi sirop glukosa dengan sakharifikasi sistem semikontinyu sebagaimana pada klaim 1, dimana proses sakharifikasi sistem semikontinyu dilakukan dengan tahapan:
- Menyusun enzim pada batu apung dalam kolom sakharifikasi hingga $\frac{3}{4}$ dari volume kolom;
 - Mengatur substrat maltodekstrin pada pH 4,5 lalu mengalirkan ke dalam kolom sakharifikasi hingga semua matriks batu apung yang mengimobil enzim terendam;
 - Melakukan reaksi sakharifikasi dalam kolom dimulai dengan pengaturan suhu 60 °C dan didiamkan hingga 12 jam;
 - Mengalirkan produk sirop glukosa selanjutnya dialirkan keluar kolom dengan laju alir 5-20 ml per menit (rata-rata 10 ml per menit) dan pada saat yang bersamaan substrat (malodekstrin) dialirkan ke dalam kolom secara berkala (semikontinyu).



Abstrak

**PROSES PRODUKSI SIROP GLUKOSA DARI TAPIOKA DENGAN
SAKHARIFIKASI SISTEM SEMIKONTINYU DENGAN IMOBILISASI
AMILOGLUKOSIDASE PADA MATRIKS BATU APUNG**

5

Invensi ini mengenai suatu proses produksi sirop glukosa dari bahan baku tapioka dengan sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan enzim amiloglukosidase terimobil pada matriks batu apung dilakukan melalui tahap-tahap: (a) Penyiapan matriks batu apung dengan ukuran 1-2 cm³ direbus selama 30 menit sebanyak dua kali lalu dikeringkan pada suhu 60 -100 °C selama 2 -3 jam, (b) Imobilisasi enzim amilogluosidase sebanyak 8 ml dalam buffer fosfat dicampur dengan matriks batu apung lalu di diamkan dalam refrigerator (suhu 0-4 °C) selama 24 jam, (c) Penyiapan suspensi tapioka sebanyak 30 % (b/v) dan pengaturan pH 5-7 dengan HCl dan penambahan ion kalsium sebanyak 60 ppm dan α-amilase sebanyak 0,1 % (b/b), (d) Gelatinisasi tapioka dengan pemanasan hingga suhu 105 °C selama 5 menit, (e) Likuifikasi tapioka menggunakan enzim α-amilase sebanyak 0,1 (b/b) pada suhu 90 °C selama 60-90 menit untuk menghasilkan hidrolisat tapioka (maltodekstrin), dan (f) Sakharifikasi sistem semikontinyu menggunakan substrat maltodekstrin dalam kolom dengan suhu 60 °C dan berisi enzim amiloglukosidase terimobil, selanjutnya sirop glukosa yang terbentuk dialirkan keluar dengan kecepatan rata-rata 10 ml per menit. Dengan demikian pemakaian batu apung sebagai matriks untuk imobilisasi enzim pada proses sakharifikasi sistem semikontinyu masih efektif digunakan hingga jam ke 252.

30