

Optimasi Konsentrasi Substrat Dan Enzim Dalam Pembuatan Gula Cair Berbahan Dasar Tepung Ketan Putih Dengan Response Surface Methodology (RSM)

Ica Maulina¹, Livia Rhea Alvita^{2*}, Dian Ayu Afifah³

^{1,2,3} Program Studi Teknologi Rekayasa Kimia Industri Politeknik Negeri Lampung, Jl. Soekarno Hatta no.10, Bandar Lampung 35141, Indonesia

email: Ichamaulina57@gmail.com, liviarhea@polinela.ac.id, dianayu@polinela.ac.id

*corresponding author

INFORMASI ARTIKEL

Diterima 30 Maret 2023
Direvisi 5 April 2023
Diterbitkan 7 Juli 2023

Kata kunci:

Gula cair, Tepung ketan putih, liquifikasi, sakarifikasi

ABSTRAK

Meningkatnya pertumbuhan industri makanan dan minuman di Indonesia mengakibatkan permintaan terhadap gula cair semakin meningkat. Pengembangan gula cair berbahan dasar tepung ketan putih merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah dalam memenuhi kebutuhan gula cair di Indonesia. Kandungan pati yang tinggi pada tepung ketan dapat diubah menjadi gula cair dengan proses liquifikasi dan sakarifikasi dengan bantuan enzim. Konsentrasi substrat tepung ketan putih dan enzim dalam proses pembuatan gula cair sangat mempengaruhi kualitas dan kuantitas gula yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi substrat dan enzim yang optimal dalam pembuatan gula cair berbahan baku tepung ketan putih menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Parameter yang dioptimasi adalah konsentrasi substrat (30 – 50%) dan volume enzim alfa-amilase dan glukoamilase (0,3 -0,5 mL). Hasil optimasi yang berhasil dicapai dengan desain eksperimen statistik *Central Composit Design* (CCD) yaitu konsentrasi substrat tepung ketan putih 42,29% dan volume enzim alfa-amilase dan glukoamilase sebesar 0,46 mL dengan kadar gula pereduksi yang dihasilkan sebesar 35,5%, nilai tersebut mendekati nilai prediksi dan dapat memverifikasi kesesuaian model.

Optimization of Substrate and Enzyme Concentration in the Production of Liquid Sugar Based on White Glutinous Rice Flour Using Response Surface Methodology (RSM)

ARTICLE INFO

Received March 30, 2023
Revised April 5, 2023
Published July 7, 2023

Keyword:

Liquid sugar, white glutinous rice flour, liquification, saccharification

ABSTRACT

The increasing growth of the food and beverage industry in Indonesia has resulted in an increasing demand for liquid sugar. The development of liquid sugar based on white glutinous rice flour is an alternative solution to the problem of meeting the demand for liquid sugar in Indonesia. The high starch content in glutinous rice flour can be converted into liquid sugar by liquification and saccharification processes with the help of enzymes. The concentration of white glutinous rice flour and enzymes in the process of making liquid sugar greatly affects the quality and quantity of sugar produced. The purpose of this study was to determine the optimal substrate and enzyme concentrations in the manufacture of liquid sugar made from white glutinous rice flour using the *Response Surface Methodology* (RSM). Parameters that were optimized were substrate concentration (30 – 50%) and alpha-amylase and glucoamylase enzyme volume (0.3 -0.5 mL). Optimization results were successfully achieved with the *Central Composite Design* (CCD) statistical experimental design, namely the white glutinous rice flour substrate concentration of 42.29% and the volume of alpha-amylase and glucoamylase enzymes of 0.46 mL with a reducing sugar content of 35.5%, the value is close to the predicted value and can verify the suitability of the model.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



1. PENDAHULUAN

Meningkatnya pertumbuhan industri makanan dan minuman di Indonesia mengakibatkan permintaan terhadap gula cair semakin meningkat. Kelebihan gula cair yaitu lebih efektif untuk diolah karena mudah larut, mempersingkat waktu proses dan memperbaiki tekstur pada beberapa produk pangan [1]. Pengembangan gula cair berbahan dasar beras ketan putih merupakan salah satu alternatif dalam pemenuhan kebutuhan gula di Indonesia.

Beras ketan putih cukup melimpah dan banyak dijumpai di pasar-pasar seluruh Indonesia. Pemanfaatan beras ketan putih belum cukup banyak dan hanya diolah sebagai makanan kecil. Beras ketan sendiri merupakan sumber karbohidrat yang tinggi, relatif murah dan mudah didapat [2]. Pembuatan gula cair dari tepung ketan putih diharap dapat meningkatkan nilai ekonomi dan daya guna beras ketan putih tersebut.

Tepung ketan putih dapat diolah menjadi gula cair dengan cara liquifikasi dan sakarifikasi pati dengan bantuan biokatalisator enzim. Pemutusan rantai pati secara enzimatis ini memiliki keuntungan yaitu proses pemutusan rantai secara spesifik, kondisi proses dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dihasilkan lebih sedikit produk samping, dan kerusakan warna dapat diminimalkan [3].

Konsentrasi substrat tepung ketan putih dan enzim dalam proses liquifikasi dan sakarifikasi sangat mempengaruhi kualitas dan kuantitas gula yang dihasilkan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi substrat dan enzim yang optimal dalam pembuatan gula cair berbahan baku tepung beras ketan putih menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM).

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) mengikuti desain eksperimen statistik *Central Composit Design* (CCD), yang tersedia dalam software Minitab versi 18. CCD merupakan perencanaan desain yang digunakan untuk desain eksperimen dengan minimal 2 faktor perlakuan [4]. Faktor pertama dalam penelitian ini adalah konsentrasi substrat dengan nilai minimum 30% dan maksimum 50%, sedangkan faktor kedua adalah volume enzim alfa-amilase dan enzim glukoamilase dengan nilai minimum 0,3 ml dan maksimum 0,5 ml.

2.1. Pembuatan Gula Cair

Proses pembuatan gula cair dari tepung beras ketan putih melalui 3 tahap yaitu gelatinisasi, liquifikasi dan sakarifikasi [5]. Tahap gelatinisasi yaitu menimbang tepung sesuai dengan konsentrasi substrat yang didapat dari desain eksperimen CCD (Tabel. 1) dengan air sebagai suspensi, kemudian dipanaskan pada suhu 50°C hingga terjadi proses gelatinisasi sempurna atau menjadi kental. Tahap liquifikasi yaitu tahap awal proses hidrolisis pati menggunakan enzim alfa-amilase dengan temperatur 90°C selama 30 menit. Tahap sakarifikasi merupakan tahap hidrolisis lanjutan menggunakan enzim glukoamilase pada temperatur 60°C selama 60 menit (volume enzim sesuai dengan desain eksperimen CCD pada Tabel. 1). Setelah terbentuk gula cair dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi kemudian difiltrasi dan dianalisis kadar gula pereduksi.

2.2. Analisis Kadar Gula Pereduksi (*Reducing Sugar*)

Pengukuran gula pereduksi secara kuantitatif menggunakan metoda *Modified Somogyi* [6]. Sampel diambil sebanyak 1 ml lalu dicek pH hingga kisaran 6 – 7 menggunakan pH meter. Tambahkan aquades hingga volume 100 ml, menggunakan labu takar 100 ml. Saring sampel encer menggunakan kertas saring atau kain. Ambil 10 ml filtrat menggunakan pipet ukur 10 ml dan encerkan kembali dengan menambahkan 60 ml aquades menggunakan pipet ukur. Selanjutnya sampel ditambahkan air 10 ml dan reagen Sol A 10 ml lalu di panaskan (hingga mendidih) selama 3 menit. Sampel kemudian didinginkan, lalu ditambahkan reagen Sol B 10 ml, reagen Sol C 10 ml, lalu dititrasi dengan larutan Thiosulfat 0,01 N, selanjutnya jika sudah warna hijau botol ditambahkan amilum, dan dititrasi hingga warna biru terang.

$$\text{Faktor Pengenceran (FP)} = \frac{100}{1} \times \frac{70}{10} = 700 \text{ kali}$$

$$\text{Reducing Sugar (RS)} = \frac{(B-S) \times 1,449 \times FP}{10.000} \times 100\%$$

Ket:

B = Kebutuhan titran untuk larutan blanko

S = Kebutuhan titran untuk larutan sampel

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik Bahan Baku Tepung Ketan

Tepung ketan yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula cair merupakan tepung ketan yang berwarna putih. Kadar air tepung ketan putih pada penelitian ini yaitu 12,13%. Kadar air yang terkandung menentukan daya tahan bahan tersebut, batas kadar air maksimal yaitu dibawah 13% agar mikroba tidak dapat tumbuh. Kadar abu yang diperoleh untuk tepung ketan yaitu 0,998%. Kadar abu dari suatu bahan pangan menunjukkan kandungan mineral yang terdapat dalam bahan tersebut, kemurnian, serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan [7]. Semakin rendah kadar abu, maka kualitas tepung semakin baik. Kadar air dan abu tepung beras ketan yang diperoleh ini masing-masing memenuhi persyaratan mutu tepung beras SNI 3549:2009 [8].

Kadar pati dan serat tepung beras ketan putih yaitu 80,1% dan 2,63%, kadar pati yang tinggi menandakan kadar glukosa yang tinggi. Hal tersebut didasarkan pada pernyataan Widiarto (2017) bahwa unit terkecil didalam rantai pati adalah glukosa, dimana susunan kimia pati adalah polimer dari glukosa atau maltosa [9].

3.2. Optimasi Konsentrasi Substrat dan Volume Enzim Pembuatan Gula Cair

Tujuan utama dari tahapan optimasi ini adalah untuk menentukan konsentrasi substrat (tepung ketan putih) dan volume enzim yang tepat, sehingga dapat menghasilkan gula pereduksi yang maksimal. Gula pereduksi yang dihasilkan merupakan gula cair hasil hidrolisis pati tepung ketan putih dengan bantuan biokatalisator enzim.

Berdasarkan hasil pengukuran gula pereduksi sesuai kondisi hidrolisis yang disarankan oleh desain eksperimen *Central Composit Design* dengan RSM (Tabel. 1), dapat dilihat bahwa kisaran nilai respon konsentrasi gula pereduksi adalah 29,41 % hingga 35,5 %. Penentuan konsentrasi gula pereduksi dihitung berdasarkan metode *Modified Somogyi*. Gula pereduksi yang terkandung pada sampel akan mereduksi ion Cu^{2+} menjadi ion Cu^+ dengan proses pemanasan, kemudian ion Cu^+ akan mereduksi senyawa arsenomolibdat dan membentuk kompleks berwarna biru kehijauan [10].

Tabel 1. Pengukuran konsentrasi gula pereduksi setelah proses hidrolisis

Run Order	konsentrasi Substrat (%)	Volume Enzim alfa-amilase dan glukoamilase (mL)	Konsentrasi Gula Pereduksi (%)
1	35	0,3	30,43
2	45	0,3	32,46
3	45	0,5	34,49
4	35	0,5	34,49
5	33	0,4	30,43
6	47	0,4	35,5
7	40	0,26	29,41
8	40	0,54	34,99
9	40	0,4	35,5
10	40	0,4	34,49
11	40	0,4	33,98
12	40	0,4	34,49
13	40	0,4	33,98

Hasil Analysis of Variant (Tabel. 2) menunjukkan hasil perlakuan konsentrasi substrat dan enzim masing-masing memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0.05$) terhadap konsentrasi gula pereduksi. Interaksi antara konsentrasi substrat dan volume enzim menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh signifikan ($P > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi substrat dan enzim yang berbeda-beda

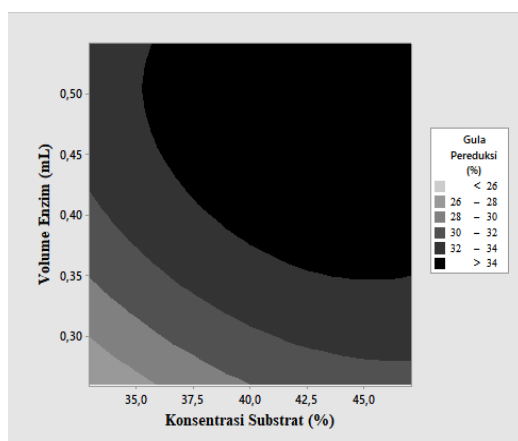
tidak menunjukkan kadar gula pereduksi yang berbeda secara signifikan. Ketika substrat seluruhnya telah diubah menjadi produk gula pereduksi oleh enzim, maka peningkatan volume enzim tidak dapat menambah jumlah produk kembali, begitu juga sebaliknya. Saat enzim seluruhnya telah mengubah substrat menjadi produk, maka tingginya konsentrasi substrat tidak dapat meningkatkan jumlah produk yang terbentuk [11][12].

Tabel 2. Analisis ragam model regresi terhadap respon konsentrasi gula pereduksi.

Sumber Keragaman	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	5	45,659	9,1318	11,53	0,003
Linear	2	35,015	17,5074	22,10	0,001
Konsentrasi Substrat (%)	1	10,580	10,5801	13,36	0,008
Volume Enzim (mL)	1	24,435	24,4346	30,85	0,001
Square	2	9,614	4,8070	6,07	0,030
Konsentrasi Substrat (%) * Konsentrasi Substrat (%)	1	3,079	3,0787	3,89	0,089
Volume Enzim (mL) * Volume Enzim (mL)	1	7,637	7,6367	9,64	0,017
2-Way Interaction	1	1,030	1,0302	1,30	0,292
Konsentrasi Substrat (%) * Volume Enzim (mL)	1	1,030	1,0302	1,30	0,292
Error	7	5,545	0,7921		
Lack-of-Fit	3	4,005	1,3349	3,47	0,130
Pure Error	4	1,540	0,3851		
Total	12	51,204			

R-sq = 89,17% R-sq (adj) = 81,44%

Koefisien determinan (R-sq) digunakan untuk mengevaluasi model yang dikembangkan. Apabila nilai R-sq mendekati 100% maka standar deviasi (SD) lebih kecil dan model semakin baik untuk memprediksi respon. Tabel. 2 menunjukkan bahwa model kuadratik memiliki nilai R-sq yang relatif tinggi yaitu 0,8917. Ini berarti 89,17% data percobaan relevan dan hanya 10,83 % dari total variasi yang tidak dapat dijelaskan oleh model.



Gambar 1. Contour plot kadar gula pereduksi terhadap faktor konsentrasi substrat dan volume enzim

Setelah dilakukan optimasi menggunakan metode *Response Surface* didapat *contour plot* seperti Gambar. 1, dimana konsentrasi substrat harus lebih dari 35% dan volume enzim lebih besar dari 0,35 mL untuk mendapatkan gula pereduksi > 34%. Hal ini disebabkan karena laju reaksi enzimatik, semakin tinggi konsentrasi substrat maka akan semakin banyak substrat yang berikatan dengan enzim pada sisi aktifnya. Memutus ikatan glikosidik yang lebih banyak dan laju reaksi yang lebih cepat [13].

Persamaan regresi dari RSM untuk optimasi konsentrasi substrat (A) dan volume enzim (B) terhadap respon kadar gula pereduksi (Y) adalah :

$$Y = -57,3 + 2,76A + 141,9B - 0,0266A^2 - 104,8B^2 - 1,015AB$$

Persamaan diatas menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi meningkat berbanding lurus dengan peningkatan komponen konsentrasi substrat dan volume enzim yang ditunjukkan dengan nilai konstanta bertanda positif dan memberikan pengaruh yang sinergis terhadap proses hidrolisis yang dilakukan.

3.3. Validasi Solusi Formula Optimum

Kondisi optimum yang direkomendasikan oleh software Minitab 18 dengan metode *Response Surface* guna mendapatkan konsentrasi gula pereduksi maksimum dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai konsentrasi gula pereduksi maksimum diprediksi sebesar 35,43%. Untuk memverifikasi validitas persamaan model yang diperoleh, maka dilakukan tiga percobaan ulangan dalam penentuan konsentrasi gula pereduksi pada kondisi optimum tersebut. Rata-rata gula pereduksi yang diperoleh adalah 35,5%, yang mendekati nilai prediksi dengan nilai akurasi 99.8%.

Tabel 3. Prediksi dan hasil validasi nilai respon gula pereduksi dengan formula optimum yang dihasilkan dari software Minitab 18.

Kondisi parameter yang optimal		Kadar gula pereduksi (%)	
Konsentrasi Substrat (%)	Volume Enzim (mL)	Prediksi	Validasi
42,92	0,46	35,43%	35,5%

4. KESIMPULAN

Kondisi optimum yang berhasil dicapai berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan desain *Central Composit Design* (CCD) yaitu konsentrasi substrat tepung ketan putih 42,29% dan volume enzim alfa-amilase dan glukoamilase sebesar 0,46 mL dengan kadar gula pereduksi yang dihasilkan sebesar 35,5%, nilai tersebut mendekati nilai prediksi dan dapat memverifikasi kesesuaian model.

1. DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. Megavitry, A. Laga, and A. Syarifuddin, "Effect of Sago Starch Concentration on Characteristic of Sago Glucose Syrup," *Food Sci. J.*, vol. 4, no. 2, p. 109, 2022, doi: 10.33512/fsj.v4i2.14746.
- [2] Merkuriana, "Pembuatan Sirup Beras Ketan Giling Dengan Hidrolisa Enzimatis," *J. Ilm. Hijau Cendekia*, vol. 8, pp. 80–84, 2023.
- [3] D. M. Mardawati, Efri; Harahap, Budi Mandra; Andoyo, Robi; Wulandari, Nisa; Rahmah, "Karakteristik Produk Dan Pemodelan Kinetika Enzimatik Alfa-Amilase Pada Produksi Sirup Glukosa Dari Pati Jagung (*Zea Mays*)," *J. Ind. Pertan.*, vol. 1, pp. 11–20, 2019.
- [4] S. Yuniarta; Rukmi, P.Wisdya Dwi; Rahman, "Optimization of glucose syrup production process using sabrang potato starch (*Coleus tuberosus* Benth) by hydrolysis enzymatic," *Res. Rev. Biosci.*, vol. 9, no. August, 2014.
- [5] A. Y. Rahmawati and A. Sutrisno, "Hidrolisis Tepung Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) Secara Enzimatis Menjadi Sirup Glukosa Fungsional," *Pangan dan Agroindustri*, vol. 3, no. 3, pp. 1152–1159, 2015.
- [6] M. Somogyi, "a New Reagent for the Determination of Sugars," *J. Biol. Chem.*, vol. 160, no. 1, pp. 61–68, 1945, doi: 10.1016/s0021-9258(18)43097-9.
- [7] L. R. Alvita, V. Elyana, and E. Kining, "Formulasi Permen Jelly Jeruk Kalamansi dengan Substitusi Glukomanan Konjak," *J. Gizi dan Kuliner (Journal Nutr. Culinary)*, vol. 1, no. 2, p. 11, 2021, doi: 10.24114/jnc.v1i2.26863.
- [8] S. N. Indonesia and B. S. Nasional, "Tepung beras," 2009.
- [9] E. Widiarto, A. Fidyasari, and R. Kg, "Produksi Glukosa Cair Dan Karakterisasi Tepung Jagung , Tepung Sagu dan Larutan tepung dimasukan dalam reaktor jetcooker . Kemudian pasang agigator dengan kecepatan ± 200 rpm . Diproses dengan suhu 105 °C selama 4-5 menit dengan laju alir 400 mL / menit . Hasil liquifikasi primer dimasukkan dalam reaktor dalam water bath . Dipanaskan dengan suhu 95 °C selama 3 jam .," no. 5, pp. 1213–1219, 2017.
- [10] H. Al-kayyis, Hasanul Kiyan; Susanti, "Perbandingan Metode Somogyi-Nelson Dan Anthrone-Sulfat Pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi Dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas* L.)," *J. Farm. Sains dan Komunitas*, vol. 13, no. 2, 2016.
- [11] Sutikno, Marniza, Selviana, and N. Musita, "Pengaruh konsetrasi enzim selulase, α-amilase dan glukoamilase terhadap kadar gula reduksi dari onggok," *Jurnal Teknol. Ind. dan Hasil Pertanian*, vol. 21, no. 1, pp. 1–12, 2016.

- [12] A. R. Permanasari, F. Yulistiani, R. W. Purnama, T. Widjaja, and S. Gunawan, "The effect of substrate and enzyme concentration on the glucose syrup production from red sorghum starch by enzymatic hydrolysis," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 160, no. 1, 2018, doi: 10.1088/1755-1315/160/1/012002.
- [13] A. Budiyanto, A. B. Arif, and N. Richana, "Optimization of Liquid Sugar Production Process from Sago (*Metroxylon* spp.)," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 309, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/309/1/012052.