

EFEKTIFITAS HIDROLISIS TEPUNG EMPULUR SAGU (*Metroxylon sagu* Rottb) Oleh KOMBINASI ASAM SULFAT DAN ENZIM TERHADAP HASIL GULA PEREDUKSI UNTUK BAHAN BAKU FERMENTASI BIOETANOL

(EFFECTIVENESS OF HYDROLYSIS OF SAGO PITH POWDER (METROXYLON SAGO ROTTB) BY THE COMBINATION OF SULFURIC ACID AND THE ENZYME TOWARD REDUCING SUGAR FOR ETHANOL FERMENTATION)

Ratu Safitri, Poniah Andayaningsih, Bambang Marwoto, dan Theresia Mutia

¹FMIPA Universitas Padjadjaran,

²BPPT Serpong,

³Balai Besar Pulp dan Kertas

Diterima: 25/06/2012, Direvisi: 07/09/2012, Disetujui: 17/10/2012

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas hidrolisis kombinasi asam sulfat dan enzim terhadap hasil hidrolisat gula pereduksi. Penelitian dilakukan secara eksperimental, dan data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hidrolisis secara kimia menggunakan larutan asam sulfat (H_2SO_4) 6M, pH 1,0-2,0, diinkubasi pada suhu $120^{\circ}C$ selama 60 menit. Hidrolisis lanjutan secara enzimatik dengan menggunakan enzim α -amilase dosis 0,17 μ l/g dosis , enzim hemiselulase dosis 0.0003 g/g), enzim selulase dosis 0,55 μ l/g) dan enzim amiloglukosidase 0,37 μ l/g. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa hidrolisis dengan asam sulfat 6 M dihasilkan konsentrasi gula pereduksi sebesar 22,6 % dengan DE (*Dextrose Equivalent*) sebesar 28,63 %. Selanjutnya penggunaan hidrolisis enzimatik dapat meningkatkan konsentrasi gula pereduksi sebesar 53, 28 % dan nilai DE hingga 68, 52%

Kata Kunci: Hidrolisis, Sagu, Selulosa, Hemiselulosa, α -amilase, amiloglukosidase, selulase

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effectiveness of the combination of sulfuric acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis of the reducing sugars. Research carried out experimentally, and data were analyzed descriptively. Chemical hydrolysis using sulfuric acid (H_2SO_4) 6M, pH 1.0 to 2.0, incubated at $120^{\circ}C$ for 60 minutes. Enzymatic hydrolysis advanced by using α -amylase enzyme dosage 0.17 ml / g dose, the dose of enzymes hemiselulase 0.0003 g / g), cellulase enzyme dosage 0.55 ml / g) and 0.37 ml enzyme amiloglukosidase / g. From the research results can be seen that hydrolysis with 6 M sulfuric acid produced reducing sugar concentration of 22.6% with a DE (*Dextrose Equivalent*) of 28.63%. Furthermore the use of enzymatic hydrolysis can increase the concentration of reducing sugar by 53, 28% and value of DE (*Dextrose Equivalent*) up to 68,52 %

Keywords: Hydrolysis, Sago, cellulose, hemicellulose, α -amylase, amiloglukosidase, cellulase

PENDAHULUAN

Etanol dapat diproduksi dari bahan baku berupa gula, pati dan bahan berlignoselulosa. Produksi etanol dengan bahan baku yang mengandung pati dan lignoselulosa dilakukan melalui hidrolisis menjadi gula sederhana. Hidrolisis dapat dilakukan dengan asam, basa dan hidrolisis enzimatik atau gabungan keduanya. Tumbuhan sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) merupakan salah satu sumber potensial sebagai bahan baku untuk produksi etanol

disamping tebu dan tapioka singkong. Karena Sagu memiliki kadar pati dan selulosa yang sangat tinggi.

Proses hidrolisis bertujuan menguraikan berbagai komponen utama bahan berlignoselulosa yaitu polimer selulosa, hemiselulosa, lignin, bahan ekstraktif, dan abu. Selanjutnya hidrolisis mendegradasi polimer polisakarida menjadi monomer-monomer gula heksosa dan pentosa (gula tunggal) yang dapat difermentasi menjadi etanol. Proses hidrolisis asam banyak digunakan untuk

menghidrolisis bahan berlignoselulosa, karena hidrolisis asam dapat mengurangi biaya hidrolisis enzimatik.

Proses hidrolisis asam dapat menggunakan asam-konsentrat 30 – 70 % pada suhu rendah (misalnya 40°C) dengan waktu paparan 2-6 jam; asam-encer, yaitu konsentrasi asam 0,5 – 2 % dengan suhu tinggi (misalnya: 180° – 240°C) dan waktu paparan 1 – 5 menit (Tahezadeh & Karimi, 2007). Secara teoritis hidrolisis oleh asam menghasilkan gula yang dapat difermentasi antara 60-80%. Namun dalam prakteknya, hidrolisis pati dengan menggunakan asam hanya akan menghasilkan glukosa dengan nilai DE 55%. Jika nilai DE di atas 55%, maka akan menghasilkan senyawa hidroksimetilfurfural dan asam levulinat yang akan menghambat proses fermentasi (Tahezadeh *et al.*, 2007). Hidrolisis oleh enzim untuk meningkatkan DE (*Dextrose Equivalent*) yang tinggi. Hidrolisis oleh enzim dilakukan setelah detoksifikasi. Enzim dapat memotong rantai polimer polisakarida secara spesifik. Hidrolisis enzimatik menggunakan α -amilase, hemiselulase, selulase, dan β -glukosidase yang dapat menghasilkan gula fermentasi sekitar 85-100% (Saha, 2003). Pada bahan yang mengandung selulosa dan hemiselulosa hidrolisis polimer karbohidrat menghasilkan gula C6 dan C5 seperti xilosa.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas hidrolisis kombinasi asam sulfat dan hidrolisis enzimatik yaitu oleh enzim α -amilase, enzim hemiselulase, enzim selulase dan enzim amiloglukosidase dalam mendegradasi polimer karbohidrat tepung empulur sagu menjadi monomer monomer gula.

METODE PENELITIAN

Bahan

Empulur batang sagu (*Metroxylon sagu Rottb.*) diperoleh dari Kibin, Kabupaten Serang. Alkohol, amonium sulfat, asam asetat, asam klorida, asam sulfat (Merck), α -amilase liquozyme supra, enzim amiloglukosidase *dextrozyme*, enzim hemiselulase Sigma, enzim selulase (Sigma novozyme), glukosa (Oxoid), kalium bifosfat, magnesium sulfat, natrium asetat, Natrium hidroksida, Natrium klorida, *sodium*

potassium tartarate Merck, sukrosa dan *yeast extract* (Oxoid).

Peralatan

Autoklaf Tommy SS-250, alat gelas, inkubator Sanyo Gallenkamp MIR 252/LD0270, *High Performance Liquid Chromatography* Waters 1525EF, kuvet Plastibrand, mikropipet, neraca analitik Mettler BB2400, neraca ohaus Mettler PJ12, oven Bicasa, pH meter analitik Beckman 246641, pipet tetes, sentrifugasi LC-131 Tommy 37018002, *shaker water bath* Julabo SW22, spatula, spektrofotometer Shimadzu 60956, *stopwatch*, tips, dan *vorteks* Heidolph Reax 2000.

Metode Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Penelitian meliputi beberapa tahapan sebagai berikut:

1. Pra-perlakuan

Untuk efisiensi dan efektifitas proses hidrolisis, tepung empulur sagu dihaluskan sampai berukuran 50 Mesh dan 100 Mesh kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C stabil selama 15 menit. Tepung empulur batang sagu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml kemudian ditambahkan buffer asetat pH 6 sehingga diperoleh suspensi tepung empulur batang sagu dengan konsentrasi 10%. Setelah itu diinkubasi pada temperatur 90°C, 100°C, 110°C dan 120°C selama 20 menit dengan tekanan 1 atm.

2. Optimasi suhu gelatinisasi tepung empulur dengan ukuran 50 dan 100 mesh. Selanjutnya dilakukan hidrolisis oleh asam sulfat asam sulfat (H_2SO_4) 6M sampai pH 1,0-2,0. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 120°C selama 60 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah itu diperoleh hidrolisat I. Parameter yang diukur adalah konsentrasi gula *Dextrose equivalent* (DE).

3. Hidrolisis hidrolisat hasil hidrolisi asam sulfat sagu oleh enzim α -amilase sebanyak 0,17 μ l/g, enzim hemiselulase, sebesar 0,001 gr/gr enzim selulase \pm 0,55 μ l/g dan enzim \pm 0,37 μ l/g amiloglukosidase.

Pengujian

Parameter yang diukur pada setiap tahap hidrolisis baik likuifikasi maupun sakarifikasi adalah nilai DE (Dextrose Equivalent) dan konsentrasi gula pereduksi. Nilai Dextrose equivalent mengindikasikan banyaknya polimer-polimer pati yang telah terpotong menjadi molekul-molekul glukosa yang lebih sederhana. Dextrose equivalent dapat diperoleh jika kadar gula pereduksi sampel dan kadar gula pereduksi hasil hidrolisis sempurna telah diketahui. Rumus perhitungan Dextrose equivalent adalah :

$$DE \text{ (Dextrose equivalent)} = \frac{GP_s}{GP_{HS}} \times 100\%$$

Keterangan:

- DE : *dextrose equivalent*
- GP_s : gula pereduksi sampel
- GP_{HS} : gula pereduksi hasil hidrolisis sempurna

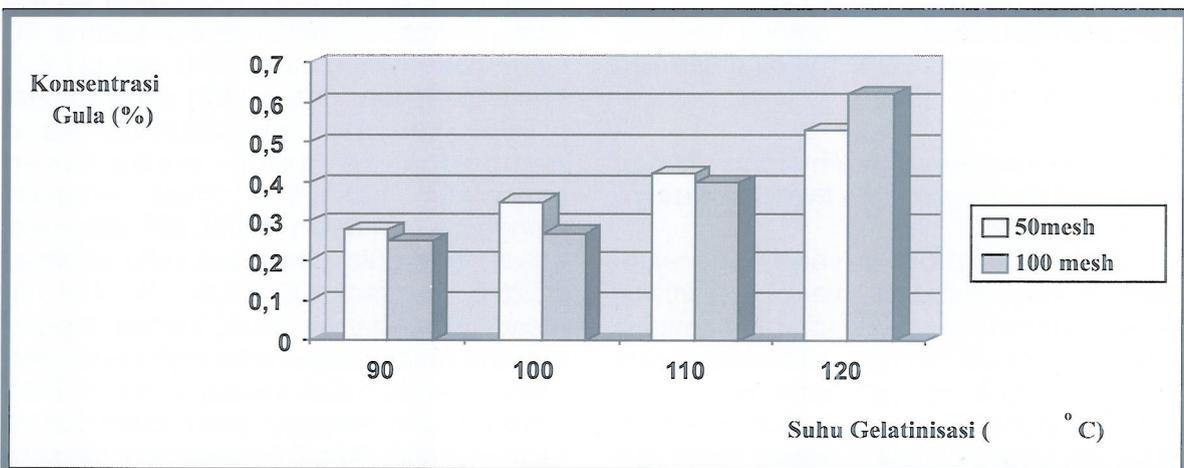
HASIL DAN PEMBAHASAN

Otimasi Suhu Gelatinisasi Tepung Empulur Ukuran 50 dan 100 mesh Terhadap Konsentrasi Gula dan Dextrose Equivalent (DE).

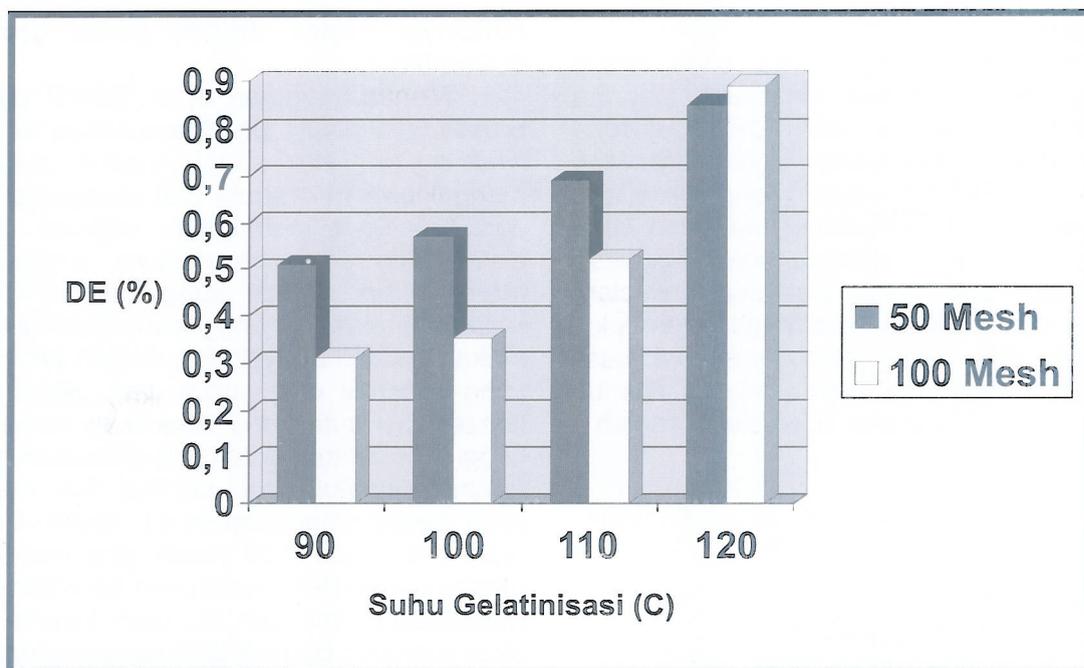
Hasil gelatinisasi tepung empulur sagu 50 mesh diketahui konsentrasi gula tertinggi terdapat pada suhu 120°C yaitu sebesar 0,53%. Demikian pula pada tepung empulur sagu 100 mesh, konsentrasi gula tertinggi pada suhu 120°C yaitu 0,62%. Kenaikan konsentrasi gula untuk setiap kenaikan

suhunya dapat dilihat pada grafik di Gambar 1.

Menurut Hidayat et al. (2005) pada proses gelatinisasi terjadi perusakan ikatan hidrogen molekul yang akan mengakibatkan granula pati menyerap air dan terjadinya pemutusan amilosa dari pati. Proses pemutusan amilosa memerlukan energi yang tinggi. Oleh karena itu semakin tinggi suhu gelatinisasi maka semakin banyak dan mudah amilosa yang terlepas dari gugus pati, sehingga konsentrasi gula yang dihasilkan semakin tinggi. Konsentrasi gula yang dihasilkan dari tepung empulur sagu partikel 100 mesh lebih besar dibandingkan 50 mesh. Butir tepung empulur 100 mesh yang memiliki ukuran partikel lebih kecil akan lebih banyak menyerap panas dan air, oleh karena itu akan semakin banyak amilosa yang keluar dari pati sehingga konsentrasi gula yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan ukuran 50 mesh (Handayani, 2007). Dari hasil analisis uji jarak berganda Duncan diketahui bahwa semakin meningkat suhu gelatinisasi maka semakin besar *dextrose equivalent* (DE) yang dihasilkan. Hasil gelatinisasi tepung empulur sagu 50 mesh memperoleh DE tertinggi pada suhu 120°C yaitu sebesar 0,85%, Sedangkan pada ukuran partikel 100 mesh, DE tertinggi pada suhu 120°C yaitu 0,89%. Kenaikan *dextrose equivalent* (DE) untuk setiap kenaikan suhunya dapat dilihat pada grafik di Gambar 2.



Gambar 1. Grafik Konsentrasi Gula Hasil Gelatinisasi



Gambar 2. Grafik *Dextrose equivalent* (DE) Hasil Gelatinisasi

Menurut (Hidayat *et al.*, 2005). suhu yang tinggi akan mempermudah terputusnya ikatan karbon-hidrogen, sehingga akan semakin banyak polimer pati yang terpotong menjadi monomer gula. Nilai DE yang diperoleh dari tepung empulur sagu ukuran 100 mesh lebih besar dibandingkan yang berasal dari 50 mesh. Hal ini disebabkan tepung empulur sagu 100 mesh memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan tepung empulur 50 mesh, sehingga ikatan karbon-hidrogen pada tepung empulur 100 mesh memiliki struktur yang lebih sederhana. Suhu yang tinggi akan membuat ikatan pada polimer pati tersebut mudah terpotong menjadi glukosa, sehingga nilai DE yang dihasilkan lebih tinggi.

Hidrolisis kombinasi asam sulfat 6 M dan enzimatik tepung empulur sagu

Substrat hidrolisis yang digunakan berasal dari hidrolisat hasil gelatinisasi tepung empulur sagu dengan konsentrasi gula dan nilai DE tertinggi. Hidrolisis secara kimiawi dengan menggunakan asam sulfat 6M dan diatur sampai pH 2. Konsentrasi gula dan nilai DE hasil hidrolisis asam dan enzim dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Gula dan Nilai DE Hasil Hidrolisis Asam dan Enzim

No	Hidrolisis	Kons. Gula (%)	DE (%)
1	Asam sulfat 6M	22,60	28,63
2	α -amylase	33,02	42,47
3	Hemiselulase	33,94	43,65
4	Selulase dan amiloglukosidase	53,28	68,52

Keterangan : DE = *dextrose equivalent*

Asam konsentrasi tinggi menyebabkan struktur polimer terpotong-potong menjadi struktur yang lebih sederhana, tetapi asam memotong secara acak. Hidrolisis berlangsung selama 60 menit pada temperatur 120°C dan pH 2,0. Menurut Gultom dkk. (2002) serta Fengel (1995) konversi polisakarida kayu menggunakan asam memerlukan temperatur 120-125°C. Hasil hidrolisis menggunakan asam sulfat 6M diperoleh konsentrasi gula pereduksi yaitu sebesar 22,26% dengan DE 28,63 %. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua tepung empulur batang sagu dapat dihidrolisis oleh asam. Menurut Judoamidjojo dkk. (1992), hidrolisis pati menggunakan asam hanya akan menghasilkan DE maksimum sebesar 55%. Masih rendahnya efektifitas

hidrolisis oleh asam sulfat 6 M diduga waktu dan temperatur hidrolisis kurang optimum. Untuk meningkatkan kadar gula pereduksi maka hidrolisis dilanjutkan secara enzimatik.

Hidrolisis secara enzimatik dengan menggunakan 4 jenis enzim, yaitu enzim α -amylase, hemiselulase, selulase, dan amiloglukosidase. Enzim α -amylase berperan menguraikan pati menjadi dekstrin. Dosis enzim α -amylase sebanyak 0,17 μ l/g (volume enzim/gram substrat). Enzim hemiselulase berperan untuk menghidrolisis hemiselulosa menjadi glukosa dan xylosa, dosis yang digunakan sebesar 0,0003 g/g (gram enzim/ grm substrat). Sedangkan selulase dengan dosis sebesar 0,55 μ l/g berperan untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan amiloglukosidase dengan dosis 0,37 μ l/g untuk menguraikan amilosa dan amilopektin menjadi glukosa. Hidrolisis lanjutan dengan enzim α -amilase berlangsung selama 60 menit pada temperatur 104°C dan pH 6,0. Pada tahap hidrolisis menggunakan enzim α -amilase didapatkan gula pereduksi 33,02%, hal ini menandakan terjadinya peningkatan gula pereduksi yang didapat dari hidrolisis sebelumnya (hidrolisis asam), sehingga meningkatkan nilai DE dari 28,63% menjadi 42,47%. Peningkatan konsentrasi gula pereduksi disebabkan terjadinya pemecahan amilosa dan amilopektin pada pati oleh enzim α -amilase yang tidak terjadi secara optimum pada hidrolisis asam. Enzim α -amilase merupakan suatu endoenzim yang dapat memecah ikatan alfa-(1,4) glikosidik secara acak dari tengah atau dari bagian dalam molekul pati.

Pemecahan amilosa oleh α -amilase ini terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama adalah degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi tersebut terjadi sangat cepat dan diikuti pula dengan penurunan viskositas dengan cepat. Sedangkan tahap kedua bersifat lebih lambat dengan membentuk glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dengan cara yang tidak acak. α -amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan berbagai jenis α -limit dextrin, yaitu

oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan α -1,6 (Winarno, 1983). Penggunaan enzim hemiselulase mampu menaikkan nilai konsentrasi gula pereduksi, yaitu dari 33,02% menjadi 33,94%. Peningkatan konsentrasi gula pereduksi diiringi pula oleh peningkatan nilai DE dari hidrolisis sebelumnya menggunakan enzim α -Amylase, yaitu dari 42,47% menjadi 43,65%.

Penggunaan hemiselulase selain untuk meningkatkan konsentrasi gula pereduksi juga untuk membantu kerja enzim selulase. Pemberian enzim selulase dilakukan karena diduga pada tahap sebelumnya tidak terjadi hidrolisis selulosa yang maksimal. Sedangkan pemberian enzim amiloglukosidase dilakukan untuk menghidrolisis dekstrin yang diperoleh pada tahap sebelumnya sehingga menghasilkan glukosa. Pemberian kedua jenis enzim ini dilakukan secara bersamaan karena dalam proses hidrolisis, selulase dan amiloglukosidase memiliki aktivitas yang sinergis.

Enzim selulase berperan pada awal proses yaitu menjadikan granula pati lebih terbuka sehingga amiloglukosidase berkesempatan untuk menghidrolisis bagian dalam dari granula pati dengan tingkat kepekaan yang lebih tinggi terhadap aktivitas amiloglukosidase. Bagian dalam dari granula pati ini lebih mudah dihidrolisis dibandingkan dengan bagian luar atau permukaan granula atau permukaan granula lebih resisten terhadap aktivitas enzim (Haska, 1992). Hasil hidrolisis menggunakan *dextrozyme DX* dan *Celluclast 1,5 L* diperoleh konsentrasi gula pereduksi [% (b/b)] yang diperoleh setelah 48 jam inkubasi, yaitu sebesar 53,28% dengan DE sebesar 68,52%. Pada tahap hidrolisis ini dihasilkan konsentrasi DE sebesar 68,52%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Langlois dan Dale (1940) dalam Tjokroadikoesoemo (1986) bahwa pada proses hidrolisis menggunakan gabungan asam dan enzim dapat meningkatkan nilai DE. Mula-mula proses hidrolisis dilakukan dengan asam sampai DE 55%, kemudian hidrolisis dilanjutkan dengan memakai enzim amilolitik sampai DE 61-65%.

Pada penelitian ini, nilai DE yang lebih besar dari 65% dapat disebabkan oleh penambahan enzim selulolitik pada proses hidrolisis, yaitu enzim selulase dan hemiselulase sehingga jumlah glukosa yang dihasilkan semakin banyak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Semakin meningkat suhu gelatinisasi maka semakin besar *dextrose equivalent* (DE) yang dihasilkan.
2. Pengecilan ukuran partikel dapat meningkatkan efektifitas hidrolisis.
3. Hidrolisis tepung empulur sagu oleh asam sulfat 6 M dapat diperoleh nilai *Dextrose Equivalent* 28,63 % dengan kadar gula pereduksi 22,60 %, hidrolisis lanjutan dengan enzim dapat meningkatkan efektifitas hidrolisis hingga diperoleh DE 68,52% dengan kadar gula pereduksi mencapai 53,28%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat berjalan dengan baik atas dukungan biaya dari dana DIPA Universitas Padjadjaran sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Universitas Padjadjaran No : 1600a/H6.1/Kep/HK/2010 Tanggal 1 April 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Fengel, D. 1995. *KAYU. Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Gultom, F. M., B. Santoso, dan Murtiningrum. 2002. Pengaruh Lama Hidrolisis Pati dengan Katalis Asam Terhadap Mutu Sirup Glukosa Asal Pati Keladi (*Xanthosoma* sp.). *HYPHERE Jurnal Ilmiah Ubi-ubian dan Sagu*, Vol. VII, No. 2, Desember, 42-51.
- Handayani, B H. 2006. *Hidrolisis Pati Dagu (Metroxylon sagu Rottb.) Secara Enzimatis dan Asam Serta Fermentasi Hidrolisatnya Menjadi Etanol Oleh Strain S C FNCC 3012 dan Isolat Bakteri Asal Empulur Sagu*. Skripsi. Jurusan Bilogi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Hidayat, N., M.C. Padaga dan S. Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta : ANDI.
- Haska, N. 1992. *Studies of Raw Sago Starch Digestion by Amylase from Penicillium brunneum No. 24*. Hiroshima University Japan
- Judoamidjojo, M., A. A. Darwis, dan E. G. Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Rajawali. Jakarta.
- Saha B.C. 2003. *Hemicellulose Bioconversion*. Review Paper. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30: 279-291.
- Taherzadeh, M.J., dan K. Karimi. 2007. *Acid-Based Hydrolisys Processes For Ethanol From Lignocellulosic Materials : A Review*. *BioResource.* 2 (3) : 472-499.
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1986. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*. Penerbit Gramedia. Jakarta.
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Penerbit Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Wirakartakusumah, M. A., Eriyatno, S. Fardiaz, M. Thenawidjaja, D. Muchtadi, B. S. L. Jenie, dan Machfud. 1984. *Studi tentang Ekstraksi, Sifat-sifat Fisiko Kimia Selulosa Sagu, dan Pengkajian Enzima*. Institut Pertanian Bogor bekerja sama dengan Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.