

## Pengaruh Variasi pH pada Produksi *High Fructose Syrup* (HFS) dari Tepung Singkong

Dennis Farina Nury<sup>1\*</sup>, Muhammad Zulfikar Luthfi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Teknik Kimia, Institut Teknologi Sumatera, Jalan Terusan Ryacudu, Way Huwi, Lampung Selatan, 35365

<sup>2</sup> Teknik Kimia Bahan Nabati, Jalan Bungo Pasang-Tabing, Padang, Sumatera Barat, 25171

\* Corresponding email: [dennis.nury@tk.itera.ac.id](mailto:dennis.nury@tk.itera.ac.id)

**Abstract:** As a staple food crop in some tropical regions, cassava has great potential to be used in the production of liquid sugars such as high fructose syrup (HFS). HFS has a high level of sweetness, does not crystallize easily, and soluble in water. The production of HFS was conducted using enzymatic hydrolysis method followed by the isomerization of sugar. The hydrolysis process breaks down starch into simpler monomers such as glucose, which was carried out by  $\alpha$ -amylase, subsequently saccharification was carried out by glucoamylase and isomerization using glucoisomerase. The study aimed to determine the optimum pH and temperature of to obtain the highest fructose syrup production from cassava flour. Determination of reducing sugar concentration using 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) reagent and sample absorbance was analyzed by UV spectrophotometer. From the experiment, it was found the highest fructose concentration of 17.7 g/L was produced at pH 8 with an isomerase time of 48 hours. It can be concluded that cassava flour has the potential to be converted into HFS through enzymatic hydrolysis.

**Keywords:** Cassava, enzymatic hydrolysis, liquification, reducing sugar, saccharification

**Abstrak:** Sebagai tanaman pangan pokok di beberapa daerah tropis, singkong memiliki potensi besar untuk digunakan dalam produksi gula cair seperti sirup fruktosa tinggi (*high fructose syrup*/HFS). HFS memiliki tingkat kemanisan yang tinggi, tidak mudah mengkristal, dan mudah larut dalam air. Produksi HFS dilakukan dengan menggunakan metode hidrolisis enzimatis yang diikuti dengan isomerisasi gula. Proses hidrolisis memecah pati menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana seperti glukosa menggunakan  $\alpha$ -amilase, selanjutnya dilakukan sakarifikasi dengan glucoamilase dan isomerisasi menggunakan glucoamilase. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pH dan temperatur optimum untuk mendapatkan produksi sirup fruktosa tertinggi dari tepung singkong. Penentuan konsentrasi gula reduksi menggunakan reagen 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan absorbansi sampel dianalisis dengan spektrofotometer UV. Dari hasil percobaan didapatkan konsentrasi fruktosa tertinggi sebesar 17.7 g/L dihasilkan pada pH 8 dengan waktu isomerase 48 jam. Dapat disimpulkan bahwa tepung singkong berpotensi untuk dikonversi menjadi HFS melalui hidrolisis enzimatis.

**Kata kunci:** Gula reduksi, hidrolisis enzimatis, likuifikasi, sakarifikasi, singkong

## PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan salah satu sumber karbohidrat terbesar di negara tropis dan merupakan komoditas pertanian yang menjanjikan di Indonesia, dimana produktivitas singkong mencapai 18.5 juta ton pada tahun 2020, melebihi beras sebagai sumber karbohidrat utama [1], [2]. [3]. Singkong biasanya dimanfaatkan sebagai bahan pangan yang dapat langsung dikonsumsi atau dengan cara modifikasi seperti tapai singkong, keripik singkong dan mocaf (*modified cassava flour*) [4]. Salah satu potensi yang dapat diolah dari singkong adalah sebagai bahan baku produksi *high fructose syrup* (HFS) dengan memanfaatkan komposisi patinya 40-55% [5].

Sirup fruktosa merupakan gula cair yang sering dikenal sebagai *high fructose syrup* (HFS) [6], [7]. Sirup fruktosa tinggi (HFS) merupakan salah satu pemanis yang paling populer di industri makanan dan minuman karena memiliki keunggulan yaitu memiliki tingkat kemanisan 1.8 kali lebih tinggi dari gula pasir, relatif stabil dengan pH rendah, tidak mudah mengkristal karena dalam fase cair (*liquid*), memiliki lebih sedikit kotoran dan proses produksi lebih sederhana dibanding gula pasir [8], [9].

Enzim yang terlibat dalam konversi pati menjadi HFS yaitu  $\alpha$ -amilase yang bertujuan untuk memecah pati menjadi maltosa dan glukosa, glukoamilase berperan untuk memutus ikatan glikosida -1,4 dari ujung rantai non-pereduksi polimer pati, dan glukoisomerase bertindak dalam proses konversi glukosa menjadi fruktosa sebesar 42% [10]. Selain itu, pH dan temperatur sangat mempengaruhi produksi HFS, dimana pada likuifikasi oleh  $\alpha$ -amilase berlangsung pada rentang pH 5.5-6 dan temperatur 70 °C, sakarifikasi oleh glukoamilase pada pH 5.5-6 dan temperatur 60 °C dan isomerisasi pada pH 8 dan temperatur 60 °C [11], [12]. Suasana pH asam pada hidrolisis enzimatis berfungsi untuk memutus ikatan glikosida yang terdapat pada pati [13].

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan sirup fruktosa tinggi (HFS) dari tepung singkong menggunakan metode hidrolisis enzimatis dan mengetahui variasi pH pada tahapan meliputi tahapan likuifikasi menggunakan  $\alpha$ -amilase, sakarifikasi menggunakan glukoamilase, dan isomerisasi menggunakan glukoisomerase terhadap konsentrasi gula yang dihasilkan.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Bahan baku utama dalam penelitian ini adalah singkong yang diperoleh dari pasar Way Halim, Bandar Lampung. Enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase diperoleh dari Sqzyme, glukoisomerase diperoleh dari Novozyme, larutan DNS (*Dinitrosalicylic Acid*) dan semua bahan kimia menggunakan tipe analitis yang diperoleh dari Merck.

### Metodologi

Penelitian pembuatan HFS ini dilakukan menggunakan metode hidrolisis enzimatis yang meliputi tahapan likuifikasi menggunakan  $\alpha$ -amilase, sakarifikasi menggunakan glukoamilase, dan isomerisasi menggunakan glukoisomerase. Singkong dibersihkan dari kulitnya kemudian digiling dan dioven pada temperatur 95 °C selama 1 jam. Setelah itu, diayak untuk mendapatkan partikel berukuran 200 mesh dan tepung singkong disimpan dalam desikator selama 1.5 jam sebelum digunakan penelitian.

Selanjutnya, pada tahapan likuifikasi dilakukan dalam *waterbath* dengan membuat suspensi substrat dari tepung singkong dengan konsentrasi 15% (w/v). Substrat kemudian dipanaskan hingga mengental dengan temperatur 70 °C yang kemudian disebut sebagai proses

gelatinisasi. Kemudian ditambahkan 0.3 % (v/v) enzim  $\alpha$ -amilase untuk memulai proses likuifikasi. Proses likuifikasi berjalan selama 60 menit dengan variasi pH yaitu 5,7, dan 9. Hasil likuifikasi diambil konsentrasi gula reduksi pada pH optimum untuk dilanjutkan ke tahap sakarifikasi. Pada tahapan likuifikasi ini substrat akan menjadi encer dan produk akhir akan berwarna coklat gelap.

Kemudian, tahapan sakarifikasi, substrat dari likuifikasi didinginkan sampai temperatur 50 °C. Kemudian ditambahkan enzim glukamilase dengan perbandingan yang sama terhadap enzim  $\alpha$ -amilase (1:1), kemudian pH disesuaikan dengan variabel pH yaitu 4 dan 6, dan diinkubasi dalam *incubator shaker*. Proses sakarifikasi dilakukan pada rentang temperatur 60-80°C selama 36 jam. Hasil tahapan sakarifikasi dianalisis menggunakan metode DNS. Hasil terbaik akan digunakan ke tahap selanjutnya yaitu isomerisasi. Substrat hasil sakarifikasi ditambahkan enzim glukoisomerase 250 mg dan diinkubasi dalam *incubator shaker* pada temperatur 60 °C selama 48 jam. Kandungan fruktosa dianalisa dengan menggunakan spektrofotometer, yang kemudian disebut *high fructose syrup*.

### Analisis Data

Penentuan konsentrasi gula reduksi menggunakan reagen larutan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan absorbansi sampel dianalisis dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 540nm.

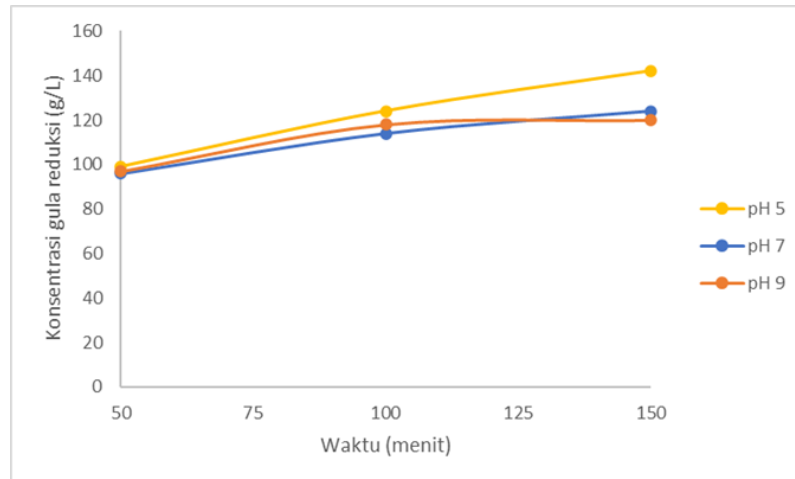
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan HFS dari tepung singkong menggunakan hidrolisis enzimatis yang terdiri tiga tahapan utama yaitu likuifikasi, sakarifikasi, dan pembentukan sirup fruktosa melalui proses isomerisasi. Gelatinasi merupakan tahapan yang penting dalam proses hidrolisis enzimatis yang bertujuan untuk menaikkan amorf amilopektin sebagai tempat masuknya enzim [14]. Proses selanjutnya yaitu likuifikasi menggunakan enzim  $\alpha$ -amylase untuk menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -(1,4) dari pati untuk menghasilkan dekstrin, maltosa, maltotriosa, dan maltopentosa. Penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Winarti *et al.* dimana likuifikasi dan gelatinasi dilakukan secara bersamaan pada temperatur 70 °C [8]. Penggunaan temperatur gelatinasi diatas 70 °C mengakibatkan struktur pati menjadi tidak teratur akibat pemanasan [6].

Penelitian ini menggunakan tepung singkong dengan konsentrasi 15% (w/v), dimana konsentrasi mempengaruhi nilai *dextrose equivalent* (DE), *slurry* dengan konsentrasi antara 10-30 % menghasilkan nilai DE tinggi. Sedangkan untuk konsentrasi *starch* diatas 55% b/v *starch* sulit untuk diaduk selama proses gelatinasi sehingga menyebabkan nilai DE rendah selama proses hidrolisis [14].

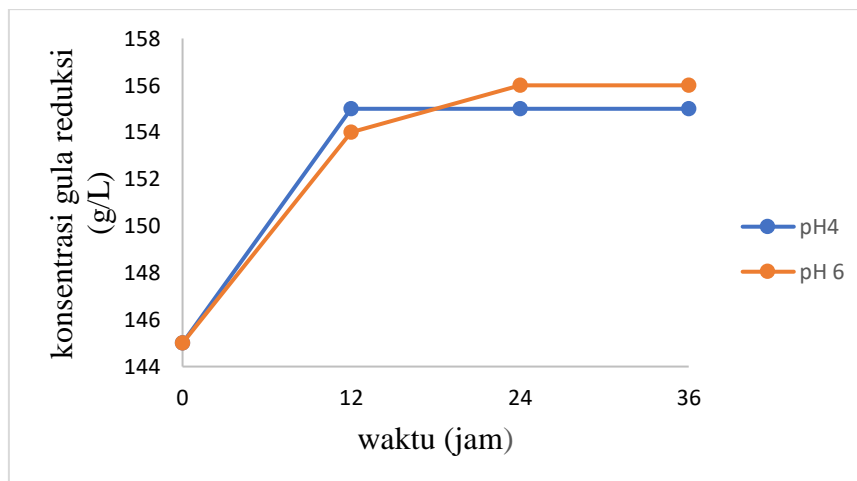
Gambar 1 menunjukkan bahwa pada temperatur 60 °C konsentrasi gula reduksi meningkat seiring berjalannya waktu likuifikasi, hal ini menandakan bahwa enzim  $\alpha$ -amilase memiliki aktivitas enzim yang tinggi. Temperatur juga mempengaruhi keaktifan enzim, pada suhu tertentu enzim akan mengalami denaturasi, hal ini menandakan bahwa perubahan dalam enzim pada temperatur yang tidak optimal akan merusak sisi aktif enzim [6].

Tahapan likuifikasi juga dipengaruhi oleh nilai pH dalam menghasilkan gula reduksi. Gambar 1 terjadi peningkatan konsentrasi gula reduksi pada pH 5 dan 7 yaitu sebesar 142 g/L dan 124 g/L hingga waktu 150 menit. Namun, pada pH 9 mengalami penurunan konsentrasi gula reduksi, hal ini disebabkan oleh kinerja enzim pada pH basa tidak stabil, dimana efektifitas enzim  $\alpha$ -amilase terjadi pada rentang asam yaitu 5-6 [15]. Hal ini juga didukung oleh penelitian oleh Johnson *et al.* yang menyebutkan bahwa proses likuifikasi berjalan dengan baik pada rentang pH 5.5-6 [9].

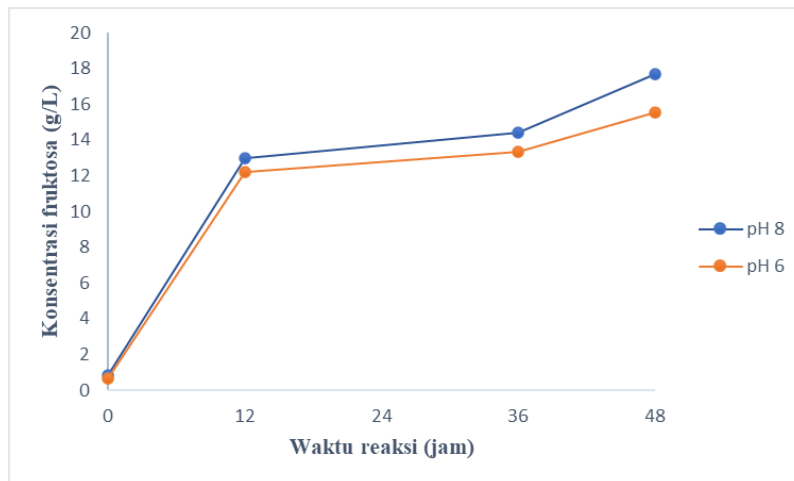


**Gambar 1.** Pengaruh pH terhadap konsentrasi gula reduksi pada tahap likuifikasi

Tahapan sakarifikasi yang merupakan tahapan lanjutan dari likuifikasi dilakukan pada temperatur 60 °C menggunakan enzim glukoamilase dengan tujuan menghidrolisis pati menjadi oligosakarida, maltotriosa menjadi maltose, dan maltose menjadi glukosa [16]. Gambar 2 konsentrasi gula reduksi meningkat secara perlahan dan menjadi konstan pada waktu 24 hingga 36 jam. Hal ini menandakan bahwa gula reduksi hampir mencapai maksimum pada akhir proses sakarifikasi. Tahapan sakarifikasi dilakukan pada pH 4 dan 6 dengan lama sakarifikasi 36 jam. Konsentrasi gula reduksi yang menurun terjadi pada pH 4 disebabkan oleh ketidakstabilan kerja enzim glukoamilase selama proses sakarifikasi. Enzim glukoamilase lebih efisien dan stabil pada kondisi pH mendekati netral yaitu 6-6.5. Sehingga dapat disimpulkan aktivitas enzim glukoamilase tidak dapat berfungsi pada pH asam dan konsentrasi gula reduksi semakin menurun seiring berjalannya waktu [15].



**Gambar 2.** Pengaruh lama proses sakarifikasi dan pH terhadap konsentrasi gula reduksi



**Gambar 3.** Pengaruh variasi pH terhadap konsentrasi fruktosa pada tahap isomerasi

Setelah tahapan sakarifikasi, tahapan terakhir yaitu isomerisasi berupa pembentukan fruktosa yang berasal dari glukosa menggunakan enzim glukoisomerase. Pada penelitian ini, tahapan isomerisasi dilakukan pada variasi pH 6 dan 8 dengan jumlah enzim 250 mg. Pada gambar 3, konsentrasi fruktosa pada pH 6 dan 8 cenderung mengalami kenaikan dari waktu reaksi 0 hingga 48 jam. Konsentrasi fruktosa tertinggi didapatkan pada pH 8 yaitu 17.7 g/L. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Johnson *et al.* dimana pH optimal untuk proses isomerisasi glukosa menjadi fruktosa yaitu 7.5-8 [9]. Waktu reaksi optimal didapat pada 48 jam, akan tetapi pada waktu reaksi 24 jam sampai 48 jam kadar fruktosa sudah mulai konstan. Hal ini disebabkan enzim glukoisomerase lebih lama bereaksi dengan substrat sehingga enzim dapat menghidrolisa lebih banyak substrat dan menghasilkan produk yang lebih banyak [5].

## KESIMPULAN

Pembuatan HFS dari tepung singkong menggunakan hidrolisis enzimatis yang terdiri tiga tahapan utama yaitu likuifikasi, sakarifikasi, dan pembentukan sirup fruktosa melalui proses isomerisasi. Nilai pH dan temperatur sangat mempengaruhi produksi gula reduksi yang dihasilkan tiap tahapannya. Konsentrasi gula reduksi tertinggi pada tahap likuifikasi didapatkan pada pH 5 sebesar 142 g/L pada kondisi temperatur 60 °C. Kemudian pada tahap sakarifikasi didapat konsentrasi gula reduksi tertinggi yaitu 156 g/L pada pH 6 dan temperatur 60 °C selama 36 jam. Konsentrasi fruktosa tertinggi pada tahap isomerisasi yaitu 17.7 g/L terjadi pada pH 8 dengan lama waktu reaksi 48 jam.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Teknik Kimia Institut Teknologi Sumatera untuk penulisan artikel pada tahun 2022

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa penelitian ini tidak mempunyai konflik kepentingan apapun.

## REFERENSI

- [1] M. H. Pulungan, R. A. D. Kapita, and I. A. Dewi, "Optimisation on the production of biodegradable plastic from starch and cassava peel flour using response surface methodology," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 475, no. 1, 2020, doi: 10.1088/1755-1315/475/1/012019.
- [2] N. Made Heni Epriyanti, B. Admadi Harsojuwono, and I. Wayan Arnata, "Pengaruh Suhu Dan Lama Pengeringan Terhadap Karakteristik Komposit Plastik Biodegradable Dari Pati Kulit Singkong Dan Kitosan," *J. Rekayasa dan Manaj. Argoindustri*, vol. 4, no. 1, pp. 21–30, 2016.
- [3] N. W. Asmoro, "Karakteristik dan Sifat Tepung Singkong Termodifikasi (Mocaf) dan Manfaatnya pada Produk Pangan," *J. Food Agric. Prod.*, vol. 1, no. 1, pp. 34–43, 2021.
- [4] S. M. Chisenga, T. S. Workneh, G. Bultosa, and B. A. Alimi, "Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 6, pp. 2799–2813, 2019, doi: 10.1007/s13197-019-03814-6.
- [5] R. Natori, S. Winarti, and R. A. Anggreini, "Karakteristik HFS (High Fructose Syrup) dari umbi gembolo yang diproduksi secara hidrolisis enzimatis menggunakan amilase dan inulinase," *Tekno. Pangan Media Inf. dan Komun. Ilm. Tekno. Pertan.*, vol. 13, no. 2, pp. 166–174, 2022, doi: 10.35891/tp.v13i2.3078.
- [6] K. Keryanti, A. R. Permanasari, R. N. Hidayah, and R. Hasanah, "Penentuan pH dan Suhu Optimum Isomerisasi Pembuatan Sirup Fruktosa dari Hidrolisat Onggok Menggunakan Katalis Mg/Al," *CHEESA Chem. Eng. Res. Artic.*, vol. 5, no. 1, p. 1, 2022, doi: 10.25273/cheesa.v5i1.10243.1-12.
- [7] D. Steinbach, A. Klier, A. Kruse, J. Sauer, S. Wild, and M. Zanker, "Isomerization of glucose to fructose in hydrolyzates from lignocellulosic biomass using hydrotalcite," *Processes*, vol. 7, pp. 1–15, 2020, doi: 10.5445/IR/1000119863.
- [8] S. Winarti and R. Ayu Anggreini, "Development of Liquid Sugar HFS (High Fructose Syrup) from Lesser Yam Tubers Using Enzyme-Mix Inulinase and Amylase," *MATEC Web Conf.*, vol. 372, p. 03004, 2022, doi: 10.1051/mateconf/202237203004.
- [9] R. Johnson and G. Padmaja, "Comparative Studies on the Production of Glucose and High Fructose Syrup from Tuber Starches," *Int. Res. J. Biol. Sci.*, vol. 2, no. 10, pp. 68–75, 2013, [Online]. Available: [www.isca.me](http://www.isca.me)
- [10] R. Johnson, S. N. Moorthy, and G. Padmaja, "Production of high fructose syrup from cassava and sweet potato flours and their blends with cereal flours," *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 16, no. 3, pp. 251–258, 2010, doi: 10.1177/1082013210366770.
- [11] Y. Fillia Assah and A. Kurniawan Makalalag, "Analisis Kadar Sukrosa, Glukosa Dan Fruktosa Pada Beberapa Produk Gula Aren Analysis of Sucrose, Glucose, and Fructose Levels in Some Products of Palm Sugar," *J. Penelit. Tekno. Ind.*, vol. 13, no. 1, p. 2021, 2021.
- [12] T. Widjaja, A. Altway, L. Pudjiastuti, F. Z. Lini, D. F. Nury, and T. Iswanto, "Optimization of organosolv pretreatment of starch waste from sugar palm trunk (*Arenga pinnata*) for the production of reducing sugar," *Asian J. Agric. Biol.*, vol. 7, no. 3, pp. 355–364, 2019.
- [13] D. F. Nury, M. Z. Luthfi, and Y. Variyana, "Pengaruh Pretreatment Alkali Hidroksida Terhadap Produksi Gula Reduksi dari Limbah Kulit Kopi," vol. 1, no. 1, pp. 1–6, 2023.
- [14] 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.

- [15] Q. Yang, S. Zhou, and T. Runge, “Magnetically separable base catalysts for isomerization of glucose to fructose,” *J. Catal.*, vol. 330, pp. 474–484, 2015, doi: 10.1016/j.jcat.2015.08.008.
- [16] U. Sukandar, A. A. Syamsuriputra, L. Lindawati, and Y. Trusmiyadi, “Sakarifikasi pati ubi kayu menggunakan amilase *Aspergillus niger* ITB CC L74,” *J. Tek. Kim. Indones.*, vol. 10, no. 1, p. 1, 2018, doi: 10.5614/jtki.2011.10.1.1.