

**KAJIAN PROSES HIDROLISIS ENZIMATIK PATI
DALAM TEPUNG SORGUM MANIS**
(Study of Enzymatic Hydrolysis of Sweet Sorghum Strach)

Bambang Triwiyono*, Supriyanto, Sigit Setiadi, dan Sabirin

ABSTRACT

Sweet Sorghum starch (*Sorghum bicolor*, L. Moench) was hydrolyzed for substituting the molasses on fermentation industry, i.e. ethanol and glutamic acid production. Pretreatment for starch conversion of the different stored starch by means of atmospheric batch cooking process presented the contradictive results. The amylases dosage for starch conversion of the stored sweet sorghum seem to be equal to the fresh cassava processing. Both total sugar (20 to 28% w/v) and the screened meal size (20–100 mesh) had a little effect on the rate of starch hydrolysis. After 24 hours of incubation, the starch was converted to the reducing sugar up to 85% dextrose equivalent. On the contrary, starch of fresh sweet sorghum could not be liquefied as the concentration of total sugar was reduced to 15% (w/v). The matrix protein of glutelin in which this protein binds the starch granules contributes to the difficulty of digesting sweet sorghum meal.

Key words: Sweet sorghum, hydrolysis, enzym.

PENDAHULUAN

Biji sorgum manis merupakan salah satu sumber daya alami yang berkadar pati tinggi dan mempunyai potensi sebagai energi (karbon) alternatif. Namun demikian bahan tersebut di Indonesia belum umum atau siap dimanfaatkan dalam industri. Sama halnya pemanfaatan sumber daya berpati yang lain pada industri fermentasi, persiapan media dari biji sorgum juga perlu didahului dengan berbagai proses perlakuan pendahuluan seperti likuifikasi, sterilisasi, dan sakarifikasi.

Perlakuan pendahuluan bahan berpati untuk menjadi gula sederhana, yang dapat difermentasi oleh mikro-organisme produsen etanol ataupun asam glutamat, pada umumnya dilakukan secara enzimatis dalam dua tahap; yaitu proses likuifikasi atau dekstrinasi dan selanjutnya proses sakarifikasi, yang masing-masing menggunakan enzim α -amylase dan gluco-amylase.

Sorgum manis atau sorgo sudah lama dibudidayakan di Amerika Serikat sebagai sumber gula sirup, yang diperoleh dari nira batang. Jumlah dan komposisi kimia nira atau gula dalam batang tergantung pada tingkat perkembangan tanaman tersebut, yang umumnya meningkat sesuai dengan kematangan bijinya. Namun masalahnya, waktu kematangan optimum untuk panen nira batang tidak bersamaan dengan tingkat kematangan optimum pembentukan pati dalam bijinya (Coleman, 1970).

Batang sorgum manis termasuk hasil pertanian yang mudah rusak. Batangnya yang sudah dipanen tidak tahan lama disimpan tanpa pengolahan tertentu, terutama bila saat pemanenannya dilakukan pemotongan daunnya. Padahal menurut Mudjisihono (1987) biji sorgum manis mempunyai daya simpan yang lebih lama daripada batangnya, yakni 2 sampai 3 bulan. Dengan demikian, usahatani tanaman tersebut akan optimal, bila pemanfaatan bijinya juga mempunyai kelaikan ekonomi.

Mengingat berbagai pertimbangan tersebut di atas, maka dilakukan kajian hidrolisis pati biji sorgum manis. Biji yang kadar patinya dapat mencapai 68–73 persen, dicoba sebagai alternatif bahan

B. Triwiyono, Supriyanto, S. Setiadi, dan Sabirin adalah staf peneliti pada UPT-Ethanol Protein Sel Tunggal dan Gula, BPP Teknologi Lampung.

* Alamat surat menyurat.

baku media fermentasi, karena hasil hidro-lisatnya diharapkan tidak berbeda dengan niranya.

Pada kajian awal ini, dosis penggunaan enzim amylase untuk persiapan media fermentasi dari tepung sorgum manis dibandingkan dengan hidro-lisis pati dari ubi kayu segar secara konvensional, atmospheric batch cooking process (Borglum, 1981).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Biji sorgum manis disediakan oleh PT IMCI (Indo Miwon Citra Inti), Lampung dalam dua periode. Sampel pertama dalam jumlah 2,5 ton maupun sample kedua yang berkisar 100 kg digiling dengan hammer mill (*Agriculture Machinerry Work*, RRC). Saringan digunakan berukuran 40 mesh.

Enzim untuk hidrolisis pati dalam bubur tepung sorgum manis, terdiri dari Termamyl 120 L, sebagai α -amylase dan glucoamylase SAN 150 L produksi dari NOVO Industries.

Prosedur Proses Hidrolisis

Proses lukiufikasi dan sakarifikasi untuk mengubah pati menjadi gula sederhana (glukosa), berlangsung dalam bejana yang berbeda. Proses pertama dilakukan dalam bejana *stainless steel* volume 5 liter, sedangkan tahap berikutnya dalam

fermentor 2 liter. Secara tradisional kandungan total gula atau dry substance dalam bubur yang siap dimasak berkisar 15% sampai 20% (w/v) (Borglum, 1981). Pada kajian proses untuk sam-pel tepung pertama, total gula dalam bubur sorgum manis divariasikan antara 20% hingga 30% (w/v).

Perlakuan pendahuluan hidrolisis senyawa pati dicoba dengan proses pemasakan suhu tinggi tanpa tekanan, 80°C (ABC: *Atmospheric Batch Cooking*) selama 30 menit. Enzim α -amylase sebagai biokatalis proses likuifikasi ditambahkan dalam tiga macam dosis; yaitu 0,05%, 0,1% dan 0,2% (ds) (*dry solid based*). Sedangkan pemakaian glucoamylase untuk hidrolisis bahan yang telah terlikuifikasi (dekstrin) menjadi glukosa ditentukan sebesar 0,20%, 0,30%, 0,40%, dan 0,50%v (ds). Kombinasi dosis kedua enzim amylase yang telah dicoba dapat dilihat pada Tabel 1.

Kondisi pH dan suhu pada awal proses hidrolisis diusahakan sesuai dengan persyaratan aktivitas optimal bagi masing-masing enzim amylase tersebut. Misalnya, proses likuifikasi dilakukan pada suhu 80°C dengan kondisi pH media berkisar 6-7, sedangkan proses sakarifikasi pada suhu 55-60°C, nilai pH 4-4,5 (Anonymous, 1981b). Pengambilan contoh bubur yang telah tersakarifikasi dilakukan setiap dua jam, dalam kurun waktu 24 jam. Selama masa inkubasi tersebut dilakukan pengadukan 150-200 rpm.

Tabel 1. Kombinasi dosis enzim untuk proses hidrolisis pati dalam sorgum manis dengan sistem pemasakan suhu tinggi, 80°C (ABC).

Batch No.	Total Gula % (w/v)	(Termamyl 120 L)		(SAN 150 L)		Tepung (mesh)
		%v (ds)	gr/batch	%v (ds)	ml/batch	
0	20	0.2	0.8	0.4	1.6	ubi segar
1	20	0.2	0.8	0.4	1.6	lolos N
2	25	0.1	0.5	0.2	1.0	lolos N
3	25	0.2	1.0	0.4	2.0	lolos 80
4	20	0.2	0.8	0.5	2.0	80
5	20	0.2	0.8	0.4	1.6	100
6	20	0.2	0.8	0.3	1.2	50
7	25	0.2	1.0	0.36	2.0	50
8	25	0.2	1.0	0.2	1.2	50
9	25	0.1	0.5	0.3	1.5	50
10	25	0.2	1.0	0.4	2.0	100
11	30	0.2	1.2	0.35	2.0	100
12	30	0.2	1.2	0.3	1.8	50
13	30	0.1	0.6	0.2	1.2	lolos N

Nilai DE (*Dextrose Equivalent*) sebagai ukuran kemampuan biokatalis (enzim) dalam proses hidrolisis pati menjadi gula sederhana dihitung dengan rumus berikut:

$$DE = \frac{RS_f}{TS_i} \times 100\%$$

DE : Ekuivalen dekstrosa

TS_i : Total gula dalam media

RS_f : Gula pada akhir proses hidrolisis

Penetapan nilai Total Gula dan *Direct Sugar* didasarkan pada pengukuran kandungan gula pereduksi dengan *Modified Somogyi Method*. Adapun jumlah padatan dalam cairan hasil hidro-lisis yang mungkin dipisahkan, diukur sebagai nilai ppt, yang ditentukan dengan sentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada percobaan pendahuluan (*flask scale*, 500 ml) telah digunakan tepung yang lolos saringan 50 mesh, untuk proses hidrolisis bubur dengan

kondisi total padatan sebesar 20%; 25%; dan 30% (w/v). Hasil hidrolisis gabungan aktifitas enzim α -amilase 0,1% dan glucoamilase 0,2% (ds) dalam bubur yang padatnya 20% (w/v) pada akhir inkubasi 55–60°C selama 40 jam hanya terbentuk glukosa 12,6% (w/v), atau mencapai nilai DE maksimum 63%. Pada bubur yang total padatnya 25% dan 30% (ds) menunjukkan hasil yang lebih rendah, yakni masing-masing terbentuk glukosa 9,85 dan 9,56% (w/v) atau hanya mencapai nilai DE 39,2 persen dan 31,8 persen (Gambar 1).

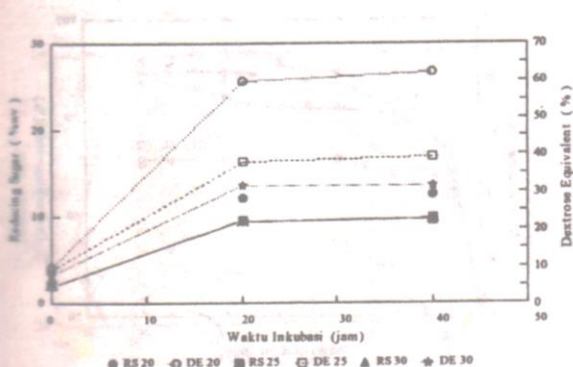
Pada pengkajian selanjutnya, yakni *bench scale test* 2,0 liter, masih tetap menggunakan contoh tepung pertama yang telah disimpan selama 7 bulan. Mengingat pemakaian kombinasi dosis α -amilase 0,1%(ds) dengan glucoamilase 0,20%-(ds) pada percobaan pendahuluan masih kurang mencukupi, maka pengkajian proses selanjutnya diawali dengan dosis enzim dua kali lebih besar. Total gula dalam bubur yang dikaji tidak selalu tepat seperti yang direncanakan, sehingga dosis enzimnya juga berubah-ubah. Hasil perhitungan dosis emylase dan nilai DE tiap *batch* media yang telah dicoba dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perhitungan dosis enzim amylase dan nilai DE maksimum pada setiap *batch* pengujian proses hidrolisis

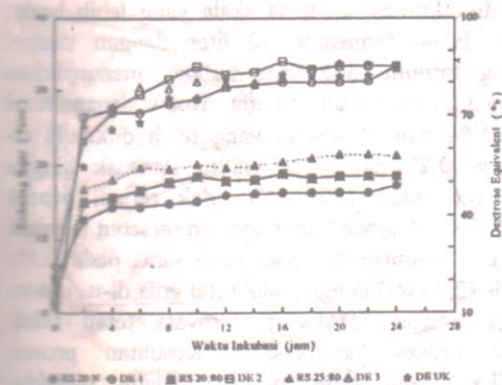
Batch No.	Tot. Sugar Nyata (%wv)	Koreksi Dosis Enzim		Reducing Sugar* (%wv)	Nilai DE Maks ** (persen)
		Term. 120 L (%wDSB)	SAN 150 L (%vDSB)		
0	22.82	0.18	0.35	19.27	84.44 (24)
1	20.28	0.20	0.40	17.24	85.01(24)
2	25.22	0.10	0.20	15.50	61.46(22)
3	24.99	0.20	0.40	21.44	85.79(20)
4	21.73	0.18	0.46	18.54	85.32(20)
5	21.01	0.19	0.38	19.56	93.10(20)
6	21.91	0.18	0.27	19.85	90.60(18)
7	27.91	0.18	0.37	23.76	85.13(12)
8	25.71	0.19	0.23	21.15	82.26(18)
9	24.82	0.10	0.30	20.86	84.05(24)
10	25.71	0.19	0.39	21.19	82.42(22)
11	28.30	0.21	0.35	24.34	86.01(18)
12	28.44	0.21	0.32	23.90	84.04(16)
13	n.d.	0.1	0.2	pasta	lengket

* Nilai gula reduksi tertinggi ** Pada inkubasi jam ke (..)

Berdasarkan hasil pengamatan proses sakarifikasi selama 24 jam, terlihat bahwa pemakaian kombinasi dosis α -amilase 0,2%(ds) dengan glucoamilase 0,40%(ds) pada *batch* 1 (total padatan 20%(w/v)) telah mampu meningkatkan nilai DE menjadi 85,01%. Hasil hidrolisis tersebut setara dengan hasil proses pembandingan pada media dari ubi kayu segar, yang mencapai nilai DE maksimum 84,44%. Kesamaannya dapat dilihat pula dari pola waktu hidrolisis atau laju pembentukan hidrolisat kedua jenis media berpati tersebut (Gambar 2).



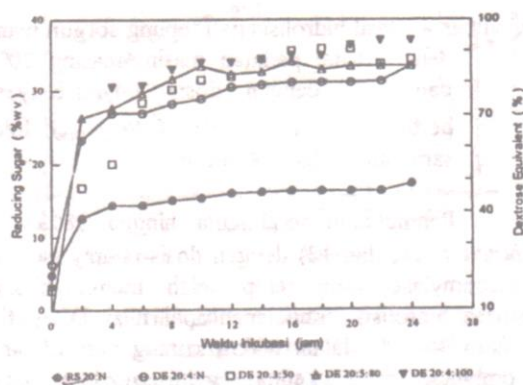
Gambar 1. Hasil percobaan pendahuluan proses hidrolisis pati tepung sorgum manis ukuran partikel 50 mesh dengan total padatan masing-masing 20%, 25%, dan 30%(ds).



Gambar 2. Hasil hidrolisis pati tepung sorgum manis dengan total padatan masing-masing 20%, 25%, tanpa ayak (N), lolos saringan 50 mesh, dan pati ubikayu (DEUK).

Menurut hasil kajian terdahulu, proses hidrolisis pati dalam bubur kayu hingga mencapai nilai DE berkisar 85% hanya perlu kombinasi dosis α -amilase 0,06% dan glucoamilase 0,16%(ds) (Djuma'ali dan Triwiyono, 1989). Aktivitas enzim amylase yang digunakan pada kajian ini diperkirakan masing-masing tinggal 30% dan 50% terhadap nilai awalnya, karena sudah disimpan lebih dari 8 tahun pada kondisi suhu 15°C. Pengkajian ini terpaksa menggunakan enzim lama, karena keterbatasan waktu untuk pesan produk yang baru. Namun untuk memudahkan pembahasan data selanjutnya, perhitungan dosis amylase tersebut tetap berdasarkan pada kondisi aktivitas enzim yang ada saat ini.

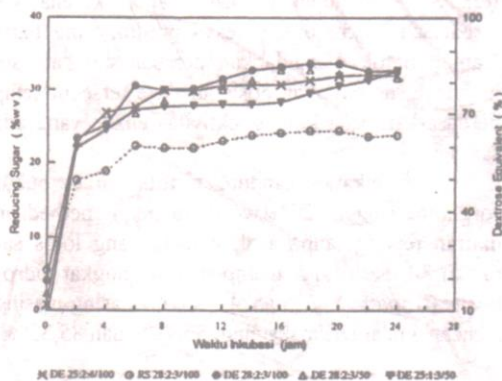
Peningkatan kandungan total sugar bubur sorghum hingga 25%(w/v), maupun perbedaan ukuran tepung tanpa ayak dengan yang lolos saringan 80 mesh tidak mempengaruhi tingkat hidrolisisnya (*batch* 1, 3, dan 4), yakni masing-masing mencapai nilai DE maksimum 85,79% dan 85,32%.



Gambar 3. Hasil hidrolisis pati tepung sorgum manis tanpa ayak (N) tanpa ayak (N), lolos saringan 50, 80, dan 100 mesh, dengan total padatan masing-masing 20%, dan variasi dosess glucoamilase 0,2, 0,4, dan 0,5 terhadap total padatan.

Penambahan jumlah enzim glucoamilase pada *batch* 6, 3, dan 4 masing-masing menjadi 0,27%; 0,40%, dan 0,46%(ds) dengan dosis α -amilase tetap 0,20%(ds) hanya sedikit meningkatkan nilai DE masing-masing menjadi 90,6%, 85,79%, dan 85,32%. Peningkatan dosis glucoamilase antara 0,27-0,46% tersebut, tidak tampak

berpengaruh terhadap nilai DE maksimumnya. Kecenderungan tersebut dapat dilihat dari pola waktu proses sakarifikasinya selama 24 jam pada Gambar 3, 4, dan 5. Penggunaan tepung yang halus, lolos 100 mesh pada batch 5 dapat meningkatkan nilai DE maksimum hingga 93,1%. Namun aplikasinya tidak akan ekonomis, karena contoh tepung yang memenuhi kriteria tersebut hanya 33% (Tabel 3).

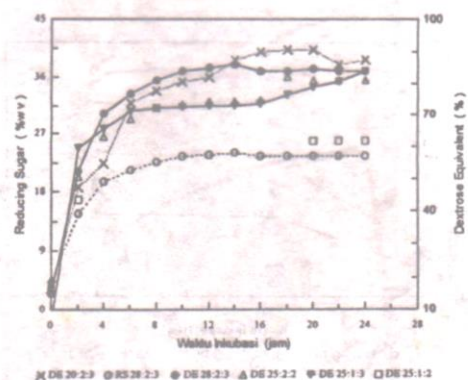


Gambar 4. Hasil hidrolisis pati tepung sorgum manis dengan total padatan masing-masing 20%, dan 28% dengan dosis amylase yang berbeda (α -0.1, 0.2 dan $GA_{0.2, 0.3}$) lolos saringan 50 dan 100 mesh

Peningkatan total gula hingga 28%(w/v) (*batch* 7, 11, dan 12) dengan dosis α -amylase dan glucoamylase yang tetap telah memungkinkan proses hidrolisis untuk mencapai nilai DE maksimum 84-86% dalam waktu kurang dari 18 jam. Kombinasi dosis kedua enzim amylase yang mendekati optimal untuk proses hidrolisis pati dalam tepung sorgum manis, masing-masing di antara 0,10-0,20% dan 0,25-0,30%. Apabila dosis kedua enzim tersebut dipilih minimal, pengaruhnya terhadap penurunan nilai DE menjadi besar. Sebagai contoh perbandingan adalah proses *batch* 2, 8, dan 9, dimana pada *batch* 2 hanya mencapai nilai DE sebesar 61,46%. Kecenderungan tersebut dapat dilihat dari pola waktu proses sakarifikasinya pada Gambar 5.

Perbedaan kandungan total gula dalam bubur sorgum yang dihidrolisis dengan dosis amylase yang tetap tidak tampak berpengaruh terhadap pencapaian nilai DE maksimumnya. Namun besar-an total sugar tersebut kan tampak

berpengaruh besar terhadap kuantitas endapan dalam cairan hidrolisatnya. Hasil pengukuran endapan yang ter-pisahkan dengan sentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit menunjukkan, bahwa makin tinggi total sugar awalnya akan meningkatkan endapan yang terpisahkan (ppt) pula (Gambar 6). Adapun akibat peningkatan ukuran partikel tepungnya mempunyai kecenderungan yang tidak setajam pengaruh nilai total sugar, yakni makin kasar tepungnya belum tentu semakin banyak endapannya (Gambar 7).

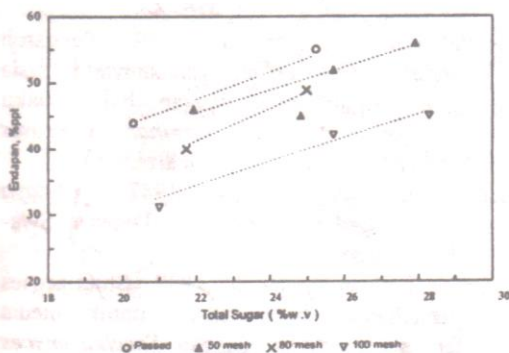
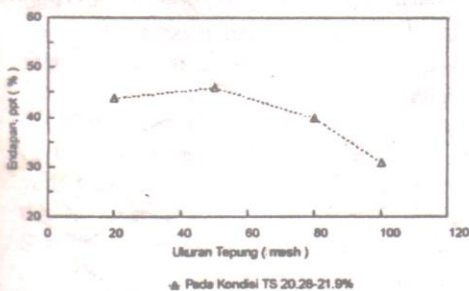


Gambar 5. Hasil hidrolisis pati tepung sorgum manis dengan dosis amylase yang berbeda (α -0.1, 0.2 dan $GA_{0.2, 0.3}$) lolos saringan 50 mesh

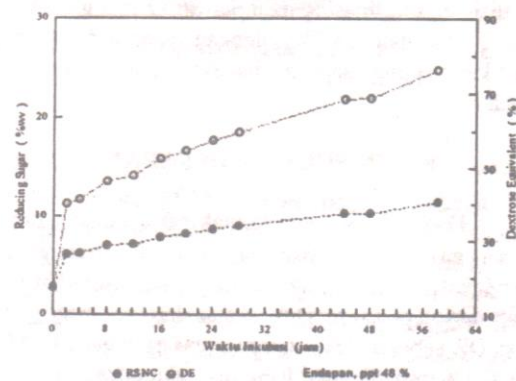
Pada waktu hasil kajian proses tersebut di atas dikonfirmasi pada skala yang lebih besar, yakni dalam fermentor 30 liter dengan sampel tepung sorgum yang baru digiling, menunjukkan hasil yang sama sekali berbeda. Bubur dengan total gula 20% dan 25%(w/v) yang telah dibubuhi α -amylase 0,2%(ds), pada waktu dimasak hingga suhu gelatinisasi (80-90°C) tidak terjadi proses likui-fikasi. Adonan bubur sorgum tersebut menjadi lengket. Konfirmasi proses yang sama pada skala semula (2,0 liter) dengan nilai total gula di-turunkan hingga tinggal 15%(w/v), ternyata tetap tidak terjadi proses likui-fikasi. Kesulitan proses likui-fikasi yang sama pernah dialami sewaktu mengolah tepung periode pertama pada skala *pilot plant*, 5000 liter (sebelum tepung disimpan). Kondisi prosesnya tidak berbeda, dengan dosis enzim α -amylase 0,44% dan glucoamylase 0,35%(ds).

Tabel 3. Komposisi ukuran partikel sampel tepung sorgum manis yang digunakan untuk pengkajian proses hidrolisis pati

No.	Ukuran (mesh)	Sampel Pertama		Sampel Kedua	
		gram	persen	gram	persen
1.	≤20	5.1	0.5	3.0	0.6
2.	20-50	428.1	42.8	495.8	99.15
3.	50-80	116.1	11.6	0.72	0.14
4.	80-100	119.4	12.0	0.22	0.04
5.	<100	331.3	33.1	0.35	0.07

Gambar 6. Pengaruh kandungan total gula awal pada jumlah endapan yang terpisah (ppt) dalam *slurry* tepung sorgum manis tanpa ayak lolos saringan 50, 80, dan 100 mesh.Gambar 7. Pengaruh ukuran tepung pada jumlah endapan yang terpisah (ppt) dalam *slurry* tepung sorgum manis (20-50), (50-80), (80-100) lolos saringan 100 mesh.

Penyebab hambatan proses likuifikasi pati dalam tepung biji sorgum yang baru digiling tersebut, yang paling mungkin adalah adanya *protein body* yang menyelimuti butir pati (Wall dan Blessin, 1970), sehingga amylase yang ditambahkan sulit kontak dengan substratnya.



Gambar 8. Pola waktu hidrolisis pati sorgum manis dengan enzim Diabase K-27, total padatan 15% dari tepung tanpa ayak (20-50 mesh).

Adapun likuifikasi pada pengolahan sampel tepung yang lama tidak ada hambatan, kemungkinannya *protein body* tersebut sudah rusak selama penyimpanan, sehingga tidak ada lagi hambatan kontak antara enzim amylase dengan pati. Dugaan tersebut di-dukung oleh hasil kajian hidrolisis dengan enzim Diabase K-27 sebanyak 1,0%(ds), tanpa didahului proses likuifikasi.

Hidrolisis dilakukan pada suhu yang sama dengan proses sakarifikasi konvensional (55-60°C) oleh glucoamylase SAN 150L. Walaupun laju pembentukan hidrolisatnya lebih lambat, namun pati dalam tepung sorgum dapat terurai. Pada akhir inkubasi selama 58 jam, telah terbentuk glukosa

11,44%(w/v) dari total sugar 15,0%(w/v) atau mencapai nilai DE 76,27%.

Enzim Diabase K-27 mengandung protease netral yang mampu menguraikan protein body yang menyelimuti butir pati sorgum, sehingga amylase dapat kontak dan aktif terhadap substratnya. Fenomena semacam ini juga terjadi pada proses hidrolisis pati dalam tepung beras yang pernah dikaji oleh Triwiyono, *et al.* (1989). Hasil percobaan konfirmasi berikutnya mendukung hipotesis tersebut. Bubur tepung sorgum dengan kandungan total sugar 15%(w/v) yang telah diinkubasikan bersama enzim tersebut selama 3 jam (55-60°C), dapat terlikuifikasi secara normal pada suhu 85-90°C.

Tepung sorgum manis hasil penggilingan lama dari sampel biji yang sejenis mempunyai karakteristik yang berbeda. Penyimpanan tepung selama 7 bulan telah mengubah sifatnya, dan hasil analisis masing-masing mempunyai kandungan total gula 71% dan 63,2%, dengan proporsi ukuran partikel tepung seperti disajikan pada Tabel 3 berikut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil kajian awal, jumlah penggunaan kombinasi enzim α -amylase dan glucoamylase yang mendekati optimum untuk mendapatkan gula hidrolisat dari tepung sorgum manis hingga mencapai nilai DE sebesar 85%, masing-masing adalah 0,2% dan 0,3% terhadap pati yang dikandungnya.

Hambatan proses hidrolisis enzimatis pati dalam *slurry* tepung sorgum manis adalah adanya *protein body* yang menyelimuti butir pati tersebut, yang dapat dipecahkan dengan enzim protease.

Penyimpanan sorgum manis dalam bentuk tepung selama 7 bulan dapat menghilangkan hambatan *protein body* tersebut, namun cara ini tidak ekonomis untuk diaplikasikan pada skala industri.

Perlu dilakukan kajian lebih lanjut untuk mendapatkan kondisi proses yang optimum bagi kedua proses hidrolisis protein dan pati dalam biji sorgum manis.

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 1981a. Fuel ethanol from agri-cultural crops. a review. *NOVO Industri A/S, B 237-GB 1000*. June.

Anonymous. 1981b. NOVO enzymes in the production of ethanol from starch containing Crops. *NOVO Industri A/S, IB-238c-GB*. June.

Borghum, G.B. 1981. Starch hydrolysis for ethanol production. Di dalam D.L. KLASS dan G.H. EMERT (Ed). *Fuel from Biomass and Wastes*. Ann Arbor Science, Michigan: 297-310.

Coleman, O.H. 1970. Syrup and sugar from sweet sorghum. Di dalam J.S. Wall dan W.M. Ross (Ed). *Sorghum Production and Utilization*. The AVI Publishing Company Inc., Westport Connecticut: 416-440.

Djuma'ali dan B. Triwiyono. 1989. Pengaruh variasi dosis enzim glucoamylase pada fermentasi alkohol dengan bahan baku ubikayu. *Makalah Seminar Bioproses Industri Pangan II*, Yogyakarta.

Mudjishono, R., dan Suprpto. 1987. *Budidaya dan Pengolahan Sorgum*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Triwiyono, B., dan Djuma'ali. 1989. Studi proses pendahuluan beras pecah untuk media fermentasi ethanol dengan *Saccharomyces cerevisiae* Hakkem No.1. *Makalah pada Konggres Nasional V Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*, Yogyakarta. 4-6 Desember.

Wall, J.S., and C.W. Blessin. 1970. Composition of sorghum plant and grain. Di dalam J.S. Wall dan W.M. Ross (Ed). *Sorghum Production and Utilization*. The AVI Publishing Co. Inc., Westport Connecticut: 118-166.