



Digital Receipt

This receipt acknowledges that **Turnitin** received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: Lilis Hermida
Assignment title: pdf files
Submission title: PROSES PEMBUATAN ENZIM GLU..
File name: Paten_GLUKO-AMILASE_MEDIASI..
File size: 439.89K
Page count: 18
Word count: 3,532
Character count: 21,339
Submission date: 23-Jan-2021 05:26AM (UTC+0700)
Submission ID: 1492509474

Deskripsi

PROSES PEMBUATAN ENZIM GLUKOAMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR SECARA ADSORPSI

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan pengembangan teknologi untuk menghasilkan enzim glukamilase terimobilisasi dengan tingkat imobilisasi enzim yang tinggi pada penyangga silika *mesoporous* 10 *cellular foam* (silika MCF) dengan metode adsorpsi dan penggunaan enzim glukamilase terimobilisasi pada proses hidrolisis pati tapioka.

Latar Belakang Invensi

15

Industri etanol berbasiskan tapioka harus mengkonversi bahan baku tersebut menjadi gula reduksi terlebih dahulu melalui proses hidrolisis asam atau enzimatis sebelum proses fermentasi etanol dilaksanakan. Proses hidrolisis tapioka dilakukan dalam 2 (dua) 20 tahap, yaitu: tahap likuifaksi dan tahap sakarifikasi. Hidrolisis enzimatis menggunakan 2 (dua) jenis enzim amilase, yaitu: alfa-amilase (tahap likuifaksi) dan glukamilase (tahap sakarifikasi) dimana kedua enzim harus disuplai dari luar karena mikroorganisme proses fermentasi etanol tidak dapat menghasilkannya. Saat ini, penambahan enzim bebas ke dalam larutan pati tapioka masih 25 diterapkan. Setelah dipakai, enzim bebas langsung dicampur dengan mikroorganisme untuk pembentukan etanol, sehingga enzim yang telah dimanfaatkan dalam proses hidrolisis tidak dihimpun untuk dipakai kembali. Mengingat harga enzim amilase bebas cukup mahal dan penggunaannya cukup besar, maka pemakaian berulang kali enzim 30 tersebut akan membantu neraca ekonomi produksi etanol.

35

Salah satu cara untuk menggunakan kembali enzim-enzim bebas adalah dengan memanfaatkan teknologi enzim terimobilisasi. Dengan teknologi ini, enzim akan melekat pada permukaan penyangga yang tak bereaksi yang ditempatkan dalam unit reaktor unggun tetap 35 dimana larutan tapioka dipompakan ke reaktor untuk proses hidrolisis. Atau enzim terimobilisasi ditambahkan dalam larutan

PROSES PEMBUATAN ENZIM GLUKOAMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR SECARA ADSORPSI

by Lilis Hermida

Submission date: 23-Jan-2021 05:26AM (UTC+0700)

Submission ID: 1492509474

File name: Paten_GLUKO-AMILASE_MEDIASI_maret_2020.pdf (439.89K)

Word count: 3532

Character count: 21339

Deskripsi

PROSES PEMBUATAN ENZIM GLUKOAMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR SECARA ADSORPSI

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan pengembangan teknologi untuk menghasilkan enzim glukoamilase terimobilisasi dengan tingkat imobilisasi enzim yang tinggi pada penyangga silika *mesoporous cellular foam* (silika MCF) dengan metode adsorpsi dan penggunaan
10 enzim glukoamilase terimobilisasi pada proses hidrolisis pati tapioka.

Latar Belakang Invensi

15 Industri etanol berbasiskan tapioka harus mengkonversi bahan baku tersebut menjadi gula reduksi terlebih dahulu melalui proses
1 hidrolisis asam atau enzimatis sebelum proses fermentasi etanol dilaksanakan. Proses hidrolisis tapioka dilakukan dalam 2 (dua) tahap, yaitu: tahap likuifaksi dan tahap sakarifikasi. Hidrolisis
20 enzimatis menggunakan 2 (dua) jenis enzim amilase, yaitu: alfa-amilase (tahap likuifaksi) dan glukoamilase (tahap sakarifikasi) dimana kedua enzim
1 harus disuplai dari luar karena mikroorganisme proses fermentasi etanol tidak dapat menghasilkannya. Saat ini, penambahan enzim bebas ke dalam larutan pati tapioka masih
25 diterapkan. Setelah dipakai, enzim bebas langsung dicampur dengan mikroorganisme untuk pembentukan etanol, sehingga enzim yang telah dimanfaatkan dalam proses hidrolisis tidak dihimpun untuk dipakai kembali. Mengingat harga enzim amilase bebas cukup mahal dan penggunaannya cukup besar, maka pemakaian berulang kali enzim
30 tersebut akan membantu neraca ekonomi produksi etanol.

Salah satu cara untuk menggunakan kembali enzim-enzim bebas adalah dengan memanfaatkan teknologi enzim terimobilisasi. Dengan teknologi ini, enzim akan melekat pada permukaan penyangga yang tak bereaksi yang ditempatkan dalam unit reaktor unggun tetap
35 dimana larutan tapioka dipompakan ke reaktor untuk proses hidrolisis. Atau enzim terimobilisasi ditambahkan dalam larutan

tapioka, sehingga enzim terimobilisasi dapat difiltrasi dan diresirkulasi setelah proses berlangsung. Kendati memiliki kekurangan seperti meningkatnya tahanan perpindahan massa dan biaya penyiapan katalis, imobilisasi enzim dapat memperbaiki

5 stabilitas, aktivitas dan selektifitas enzim serta mereduksi proses inhibisi. Beragam metode dan penyangga imobilisasi enzim telah dikaji yang bergantung pada faktor-faktor operasional seperti waktu reaksi, pH, suhu dan kondisi larutan buffer.

Enzim glukoamilase telah berhasil diimobilisasi dengan metode

10 adsorpsi pada bahan nano-magnetik, karbon aktif, selulosa dan montmorillonit, pengikatan kovalen pada polimer, gelatin dan montmorillonit, pengebakan pada alginat dan enkapsulasi pada paduan bahan kalsium alginat-lempung. Didapatkan bahwa glukoamilase terimobilisasi memiliki waktu penyimpanan dan

15 stabilitas pH yang lebih baik dari enzim glukoamilase bebas serta memiliki aktivitas sisa sekitar 40% setelah 8 kali pemakaian. Stabilitas termal enzim terimobilisasi bahkan lebih baik daripada enzim bebas. Glukoamilase terimmobilisasi menghasilkan jumlah gula reduksi yang lebih tinggi daripada glukoamilase bebas. Proses

20 hidrolisis menggunakan glukoamilase terimobilisasi dapat beroperasi secara kontinyu.

Salah satu bahan penyangga enzim adalah material silika. Proses imobilisasi pada silika mesopori meningkatkan stabilitas glukoamilase terimobilisasi dan efisiensi katalitik yang

25 dihasilkannya menjadi lebih besar dari glukoamilase bebas selama proses hidrolisis pati (George dkk, 2013). Glukoamilase terimobilisasi pada silika mesopori secara adsorpsi dan kovalen telah digunakan untuk proses hidrolisis pati dimana kecepatan reaksi hidrolisis menjadi lebih rendah daripada proses hidrolisis

30 memakai enzim bebas (George dan Sugunan, 2014). Szymanska dkk (2007) mengimobilisasi enzim glukoamilase bebas pada penyangga silika MCF teraktivasi oleh divinilsulfon (MCF0) sebesar 24,32 mg/mL (17,2%), sedangkan proses imobilisasi secara kovalen pada silika MCF organosilana teraktivasi oleh glutaraldehid (MCF1-MCF9)

35 menghasilkan 3,18-19,54 mg/mL (3,3-26,7%) glukoamilase bebas melekat pada bahan penyangga. Mereka menyimpulkan enzim

glukoamilase terimobilisasi memiliki aktivitas lebih besar daripada glukoamilase bebas dan struktur pori MCF yang unik merupakan faktor kritis dalam imobilisasi enzim. Hermida dkk (2013) telah berhasil mengembangkan silika MCF-(9.2T-3D) yang dihasilkan dari proses pembuatan MCF yang dipanaskan pada suhu 80°C selama 72 jam, sedangkan Szymanska dkk (2007) menggunakan pemanasan MCF pada temperatur 100°C selama 24 jam. Silika MCF-(9.2T-3D) memiliki ukuran diameter jendela lebih baik daripada silika MCF0, sehingga dapat mengakomodasi imobilisasi enzim glukoamilase lebih besar.

Beberapa paten telah mendeskripsikan proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas pada beragam bahan penyangga baik penyangga organik maupun anorganik. Shigesada dkk (1983) mendapatkan paten US No. 4.411.999 tentang proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas (Nagasse Kagyo K.K) secara kovalen pada permukaan gelatin granular dalam larutan buffer pH 4-9 dengan penambahan larutan protein soya, kasein, albumin dan gelatin cair. Yoneyama (1982) memperoleh paten US No. 4.338.398 untuk proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas XL-128 pada penyangga anorganik resin penukar ion Ima Syn-46 dengan tingkat imobilisasi enzim sebesar 70%. Paten US No. 4.102.745 menguraikan tentang aplikasi enzim glukoamilase terimobilisasi pada selulosa DEAE (Whatman DE 23) dalam menghidrolisis pati yang menghasilkan nilai kandungan dekstrosa yang tinggi. Paten US No. 4.141.857 memaparkan proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas secara kovalen pada penyangga anorganik komposit silika-alumina yang mengandung boron-fosfat termodifikasi oleh senyawa tetra-etilena pentamin yang difungsionalisasi dengan senyawa glutaraldehid. Chiang dan Lantero (1987) menggunakan tanah diatomi granular termodifikasi oleh senyawa poli-etilena imina sebagai penyangga enzim glukoamilase bebas secara kovalen yang dapat menghidrolisis larutan pati terlikuifaksi dengan tingkat glukosa > 90% (paten US No. 4.713.333). Paten US No. 4.748.121 berisi uraian proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas pada permukaan serat gelas berpori dengan kandungan silika yang tinggi secara adsorpsi yang

menghasilkan tingkat imobilisasi yang besar dan produk imobilisasi memiliki efektivitas hidrolisis pati yang besar. Paten US No. 3.915.797 menguraikan proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas pada beragam penyangga resin penukar anion dengan tingkat
 5 imobilisasi sebesar 50-70%. Hebeda dkk (1979) mendapatkan paten US No. 4.132.595 karena keberhasilannya dalam mengaplikasikan enzim glukoamilase terimobilisasi pada proses hidrolisis pati. Paten US No. 4.845.035 menguraikan penggunaan enzim glukoamilase terimobilisasi pada senyawa kopolimer pada proses hidrolisis pati
 10 pada reaktor kontinyu dengan efektivitas yang baik.

Ringkasan Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan enzim
 glukoamilase terimobilisasi pada penyangga anorganik silika MCF-
 15 (9.2T-3D) secara *batch* meliputi langkah-langkah sebagai berikut: mencampurkan enzim bebas glukoamilase dengan jumlah 0,5-3,0 mg/mL dan 500 miligram (mg) penyangga kedalam 30 mililiter (mL) larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 pada kondisi temperatur sekitar; menempatkan campuran tersebut dalam
 20 *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-50°C dan kecepatan pengadukan 80-140 rotasi per menit (rpm); menyaring campuran yang telah diproses dengan kertas saring Whatman #40 yang ditempatkan pada corong pemisah; mencuci residu yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar
 25 (mM) dengan pH 5,0-7,0 sesuai dengan pH larutan pada proses imobilisasi sebanyak 3 (tiga) kali dengan volume masing-masing 50 mL; mengeringkan residu padatan pada oven dengan suhu 35°C selama
 12 jam; mendinginkan padatan dalam desikator selama 1 jam dan dihasilkan produk enzim glukoamilase terimobilisasi yang memiliki
 30 unit aktivitas sebesar 1455 U per gram.

Tujuan invensi ini adalah menyediakan proses pembuatan enzim
 glukoamilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF (9.2T-3D).

Tujuan lain invensi ini adalah untuk menyediakan produk enzim
 glukoamilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF (9.2T-3D)
 35 yang digunakan untuk proses sakarifikasi zat pati.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1. Bagan alir pembuatan ¹enzim ¹glukoamilase ¹terimobilisasi pada silika MCF-(9.2T-3D)

5 Gambar 2. Pengaruh temperatur (T), kecepatan pengadukan campuran (rpm) dan pH larutan buffer fosfat Sorensen terhadap tingkat imobilisasi glukoamilase bebas pada penyangga silika MCF-(9.2T-3D)

Gambar 3. Pengaruh konsentrasi awal enzim terhadap imobilisasi glukoamilase bebas pada silika MCF-(9.2T-3D)

10 Gambar 4. Pengaruh pH larutan buffer sodium asetat terhadap nilai *dextrose equivalent* (DE)

Gambar 5. Pengaruh temperatur hidrolisis terhadap nilai *dextrose equivalent* (DE)

15 Uraian lengkap Invensi

Proses imobilisasi ¹enzim ¹glukoamilase bebas ¹pada ¹penyangga ¹silika MCF-(9.2T-3D) dilakukan secara adsorpsi langsung dengan tanpa adaptasi atau preparasi awal. Faktor-faktor operasi proses imobilisasi, yaitu: temperatur proses, pH larutan buffer fosfat Sorensen, kecepatan pengadukan campuran dan konsentrasi awal enzim bebas, divariasikan selama proses berlangsung.

Proses imobilisasi dilakukan dengan teknik adsorpsi ¹glukoamilase bebas pada permukaan ¹silika MCF-(9.2T-3D). Enzim bebas ¹sebesar 30-150 mg dilarutkan dalam 30 mL larutan buffer fosfat Sorensen 100 mM yang memiliki kondisi pH 5,0-7,0. Kemudian, 500 mg penyangga anorganik silika MCF ditambahkan dalam larutan yang telah disiapkan. Campuran ditempatkan dalam *water bath shaker* dan diaduk dengan kecepatan pengadukan diatur pada rentang 80-140 rotasi per menit (rpm). Temperatur *water bath shaker* diatur pada rentang 30-50°C. Proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas ⁷dilakukan ⁷selama 5 jam. Setelah 5 jam, campuran ⁷disaring dengan ⁷kertas saring Whatman #40. ⁷Filtrat disimpan untuk analisis kandungan protein (filtrat-1). Residu padatandibilas dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 mM pada pH tertentu yang sesuai dengan kondisi pH proses immobilisasi sebanyak 3 kali dengan volume

50 mL setiap pembilasan. Filtrat hasil pembilasan disimpan untuk dianalisis kandungan proteinnya (filtrat-2). Residu padatankemudian ⁶ dikeringkan dalam oven dengan suhu 35°C selama 1 malam. Setelah itu, residu padatandidinginkan dalam desikator.

- 5 Jumlah enzim glukoamilase bebas yang melekat pada penyangga anorganik silika MCF dihitung dari selisih kandungan awal protein terhadap kandungan protein yang terdapat didalam kedua filtrat, yaitu:

$$\text{Enzim bebas terimmobilisasi (\%)} = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times V \times 100 \quad \dots (1)$$

- 10 dimana C_0 dan C_t adalah konsentras enzim bebas awal dan akhir (mg/mL) dan V adalah volume kerja reaktor (mL). Selama proses, faktor imobilisasi (pH, suhu, kecepatan pengadukan dan konsentrasi enzim) divariasikan dengan metode eksperimen *one-factor-at-a-time*.

- Efek temperatur terhadap proses imobilisasi enzim bebas
- 15 diamati pada rentang suhu 30-50°C (Gambar 2) dimana kecepatan pengadukan campuran, pH larutan buffer fosfat Sorensen 100 mM dan konsentrasi awal enzim bebas dijaga konstan pada nilai 100 rpm, pH 5,5 dan 2,0 mg/mL. Hasil imobilisasi terbaik diperoleh pada suhu 30°C dimana 84,84% enzim glukoamilase bebas diserap oleh penyangga
- 20 silika MCF-(9.2T-3D). Pada suhu maksimum, hanya 56,73% enzim glukoamilase bebas berhasil diserap, sehingga semakin tinggi suhu maka semakin rendah kuantitas imobilisasi enzim glukoamilase bebas. Tetapi, pada rentang suhu 30-40°C, perbedaan kuantitas imobilisasi enzim bebas adalah rendah (< 6%). Oleh karena itu,
- 25 proses imobilisasi dapat dilakukan pada temperatur sampai dengan 40°C jika pengoperasian proses pada temperatur 30°C sulit dilaksanakan. Temperatur maksimum untuk proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas tidak jauh berbeda dengan beberapa kondisi terdahulu. Pengaruh faktor temperatur cukup besar seperti
- 30 ditunjukan pada Gambar 2 dimana penurunan tingkat imobilisasi dapat diamati dan perbedaan diantara tingkat imobilisasi tertinggi dan terendah adalah besar (> 25%).

Faktor kedua yang mempengaruhi proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas adalah kecepatan pengadukan campuran yang

diamati pada rentang 80-140 rotasi per menit (rpm) (Gambar 2) (faktor lainnya diatur konstan: temperatur = 30°C, pH larutan buffer = 5,5, konsentrasi awal enzim glukoamilase bebas = 2 mg/mL). Pada kecepatan rendah (80 rpm), hanya 63,97% enzim glukoamilase bebas melekat pada permukaan penyangga anorganik silika MCF-(9.2T-3D). Kuantitas imobilisasi optimum didapatkan pada kecepatan pengadukan 100 rpm dimana 84,84% enzim bebas berhasil diimobilisasi. Kecepatan pengadukan campuran yang lebih tinggi memberikan kuantitas imobilisasi yang lebih rendah (< 60%) dengan peningkatan yang kecil pada rentang kecepatan tersebut. Kontak yang besar antara enzim bebas dan penyangga silika berlangsung pada kecepatan pengadukan yang besar, tetapi, karena proses imobilisasi yang dilakukan adalah adsorpsi langsung yang seringkali menghasilkan ikatan interaksi yang lemah, kecepatan tersebut dapat menghancurkan pengikatan enzim bebas yang terbentuk dan menjauhkan enzim bebas dari permukaan silika. Demikian juga halnya dengan kecepatan pengadukan yang rendah dimana kontak yang rendah antara enzim bebas dan penyangga, sehingga enzim bebas susah mendekati permukaan silika dan konsentrasi enzim terimobilisasi yang rendah yang didapatkan. Pengaruh kecepatan pengadukan cukup tinggi terhadap proses imobilisasi enzim glukoamilase bebas. Hal tersebut dapat diamati dari perbedaan yang tingkat imobilisasi yang besar diantara kecepatan pengadukan campuran seperti dalam Gambar 2.

Kecepatan pengadukan yang diperoleh adalah lebih rendah dari kecepatan pengadukan campuran terdahulu. George dkk (2013) dan George dan Suganan (2014) menggunakan kecepatan pengadukan 200 rpm ketika mengimobilisasi secara pengikatan kovalen glukoamilase silika mesopori (SBA-15 dan MPS) terfungsionalisasi senyawa amino. Tanriseven dan Olcer (2008) menggunakan kecepatan pengadukan 200 rpm untuk mengimobilisasi secara pengikatan kovalen enzim bebas glukoamilase pada senyawa gelatin teraktivasi poliglutaraldehyd. Energi yang lebih rendah dibutuhkan untuk mengaduk campuran enzim bebas glukoamilase dan penyangga silika MCF pada proses imobilisasi secara adsorpsi.

pH larutan buffer fosfat Sorensen juga mempengaruhi proses imobilisasi enzim bebas glukamilase karena kondisi pH yang berbeda biasanya digunakan dalam proses imobilisasi enzim. Imobilisasi enzim bebas glukamilase diamati pada rentang pH 5,0-7,0 (Gambar 2), sedangkan faktor lainnya dipertahankan konstan (temperatur: 30°C, kecepatan pengadukan: 100 rpm, konsentrasi awal enzim bebas: 2 mg/mL). Kuantitas glukamilase yang diserap oleh silika MCF cenderung turun ketika pH larutan buffer dinaikkan. Hasil optimum dicapai pada pH 5,5 dimana 84,84% enzim glukamilase bebas terimobilisasi. Persentase terkecil adalah 39,02% enzim terimobilisasi yang diperoleh pada kondisi pH 7,0. Kuantitas imobilisasi yang diberikan oleh pH lainnya (5,0; 6,0; 6,5) berada pada rentang 47,47-62,90%. Faktor pH larutan buffer fosfat memiliki pengaruh yang kuat terhadap hasil tingkat imobilisasi enzim bebas karena tren yang menurun seiring dengan peningkatan pH larutan buffer dan perbedaan yang besar diantara tingkat imobilisasi yang didapatkan. pH optimum yang diperoleh bersesuaian dengan hasil terdahulu seperti Zhao dkk (2012) dan Park dkk (2005) yang menggunakan larutan buffer asetat pH 5,5 untuk menghasilkan guko-amilase terimobilisasi yang tinggi. Tetapi, Tanriseven dan Olcer (2008) mendapatkan 70% enzim terimobilisasi pada larutan buffer asetat pH 6,0. Beberapa peneliti lainnya mendapatkan enzim glukamilase terimobilisasi yang tinggi pada larutan buffer asetat pH < 5,0 (Guo et al, 2012; Milosavic et al, 2007; Tanriseven et al, 2002). Kamal et al (2008) mendapatkan hasil imobilisasi yang bagus jika enzim tersebut dilarutkan dalam larutan buffer fosfat pH 7,5.

Pengaruh konsentrasi awal enzim bebas yang disuplai kedalam larutan buffer fosfat Sorensen diamati pada rentang konsentrasi awal 0,5-3,0 mg/mL (Gambar 3) (faktor lainnya konstan: temperatur = 30°C, kecepatan pengadukan = 100 rpm, pH larutan buffer = 5.5). Jumlah enzim glukamilase bebas yang terimobilisasi cenderung meningkat. Pada konsentrasi awal enzim yang rendah (0,5 mg/mL), hanya 0,13 mg/mL glukamilase terimobilisasi. Jumlah enzim terimobilisasi meningkat ke 1,70 mg/mL ketika digunakan

konsentrasi awal enzim sebesar 2,0 mg/mL. Peningkatan jumlah enzim terimobilisasi yang rendah diperoleh ketika konsentrasi dinaikan ke 3,0 mg/mL. Kendatipun konsentrasi awal enzim bebas 3,0 mg/mL menghasilkan peningkatan jumlah enzim terimobilisasi yang rendah,
 5 konsentrasi awal enzim bebas sebesar 2,0 mg/mL memberikan hasil yang baik yang sebanding dengan konsentrasi awal enzim bebas 3,0 mg/mL. Rentang konsentrasi awal enzim bebas yang dipakai tidak jauh berbeda dengan beberapa observasi terdahulu. Kovalenko dkk (2006) menggunakan konsentrasi awal protein sebesar 2,0-2,5 mg/mL,
 10 sedangkan Zhao dkk (2012) melarutkan 100 mg glukamilase bebas dalam 50 mL larutan buffer asetat pH 5,5.

Produk enzim glukamilase terimobilisasi yang diperoleh memiliki unit aktivitas enzimatis sebesar 1455 U per gram setelah dianalisis dengan analisis glukosa standar metoda DNS
 15 (*dinitrosalicylic acid*).

Konversi langsung tepung tapioka menjadi glukosa dalam bentuk gula reduksi digunakan untuk mengukur kemampuan enzim glukamilase terimobilisasi pada silika MCF-(9.2T-3D) yang dihasilkan. Rancangan eksperimen *one-factor-at-a-time* digunakan untuk
 20 mengetahui aktivitas enzim glukamilase terimobilisasi dalam menghidrolisis tepung tapioka. Reaksi hidrolisis dilakukan dengan menyiapkan 30 mL larutan buffer sodium asetat 100 mM dengan pH 4,0-6,0 dalam beberapa Erlenmeyer 100 mL. Kemudian tepung tapioka ditambahkan kedalamnya dengan konsentrasi sebesar 3 mg/mL dan
 25 diaduk pada kecepatan pengadukan 140 rotasi per menit. Enzim glukamilase terimobilisasi dengan konsentrasi 2.351 U ditambahkan kedalam campuran tersebut. Campuran kemudian dimasukan dalam alat *water bath shaker* yang diaduk dengan kecepatan 140 rpm selama 24 jam dengan suhu diatur pada kondisi 35-60°C.
 30 Sampel diambil pada jangka waktu tertentu untuk ditentukan nilai *dextrose equivalent* (DE).

Pengaruh pH larutan buffer sodium asetat diamati berada pada rentang 4,0-6,0 dengan interval $\pm 0,5$ (faktor lainnya konstan: temperatur = 40°C, kecepatan pengadukan = 140 rpm, konsentrasi
 35 enzim = 2351 U, konsentrasi tepung = 3 mg/mL). Hasil proses

hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 4. Secara umum, konversi yang dihasilkan adalah rendah dan peningkatannya cenderung kecil selama 24 jam pengamatan. Konversi tertinggi yang dihasilkan adalah sekitar 20,11% yang didapatkan pada pH 4,6. Konversi yang baik dihasilkan pada kondisi $\text{pH} \leq 5,0$, sehingga peningkatan pH cenderung menurunkan konversi reaksi. Tidak ada reaksi hidrolisis diamati pada larutan buffer pH 6,0. Konversi yang dihasilkan oleh enzim glukoamilase terimobilisasi adalah lebih kecil jika dibandingkan dengan enzim glukoamilase bebas yang dapat menghasilkan konversi maksimum sebesar 57,36% pada larutan buffer pH 4,0 setelah 24 jam reaksi. Selama proses imobilisasi enzim bebas glukoamilase dengan metode adsorpsi, proses imobilisasi random dapat terjadi yang mengakibatkan tidak semua sisi aktif tersedia untuk reaksi hidrolisis karena sisi aktif dapat terhalang dari akses tepung tapioka, pengikatan multi-point berlangsung atau enzim mengalami denaturasi, sehingga aktivitas enzim yang rendah diperoleh. Perubahan konversi yang tidak besar mengindikasikan bahwa faktor pH larutan buffer sodium asetat memiliki pengaruh yang kecil terhadap konversi reaksi hidrolisis langsung tepung tapioka.

Pengaruh faktor temperatur terhadap kinerja enzim glukoamilase terimobilisasi diamati pada rentang 35-80°C yang diuraikan dalam Gambar 5 (faktor lainnya konstan: kecepatan pengadukan = 140 rpm, sodium acetate buffer: 100 mM pH 4.6, konsentrasi tapioka = 3 mg/mL, konsentrasi enzim = 2351 U).

Konversi tepung tapioka menjadi glukosa pada temperatur 35°C adalah sangat rendah, yaitu: < 5% setelah pengamatan selama 24 jam. Peningkatan temperatur ke 40°C dan 50°C menghasilkan konversi masing-masing sebesar 19,94 dan 26,59%. Hasil terbesar diperoleh pada temperatur 70°C dimana konversi reaksi hidrolisis adalah sekitar 82%. Temperatur 80°C memberikan konversi < 10%. Hasil percobaan mengindikasikan bahwa pada temperatur yang relatif rendah, aktivitas enzim glukoamilase terimobilisasi cenderung rendah yang disebabkan oleh kurang terbukanya sisi aktif enzim. Temperatur yang sangat tinggi juga mengakibatkan rendahnya konversi yang disebabkan oleh denaturasi enzim glukoamilase.

Faktor temperatur memiliki pengaruh yang besar karena peningkatan nilai DE yang cepat pada suhu reaksi yang sesuai untuk konversi langsung tepung tapioka menggunakan enzim glukoamilase terimobilisasi.

5

10

15

20

25

30

35

Klaim

1. Proses pembuatan ¹enzim glukoamilase terimobilisasi pada penyangga anorganik ¹silika MCF-(9.2T-3D) secara *batch* meliputi langkah-langkah sebagai berikut:
 - 5 a. mencampurkan enzim bebas glukoamilase dengan jumlah 0,5-3,0 mg/mL dan 500 miligram (mg) penyangga kedalam 30 mililiter (mL) larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 pada kondisi temperatur sekitar;
 - b. menempatkan campuran (a) dalam *water bath shaker* selama 5 (lima)
 - 10 jam pada temperatur 30-50°C dan kecepatan pengadukan 80-140 rotasi per menit (rpm);
 - c. menyaring campuran (b) dengan kertas saring Whatman #40 yang ditempatkan pada corong pemisah;
 - d. mencuci residu yang terdapat pada kertas saring dengan larutan
 - 15 buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 sesuai dengan pH larutan pada proses imobilisasi ²sebanyak 3 (tiga) kali dengan volume masing-masing 50 mL;
 - e. mengeringkan residu padatan ²pada oven dengan suhu 35°C selama 12 jam;
 - 20 f. mendinginkan padatan ⁴dalam desikator selama 1 jam dan dihasilkan produk enzim glukoamilase terimobilisasi.
2. Produk enzim glukoamilase terimobilisasi yang dihasilkan dari Klaim 1 dicirikan memiliki unit aktivitas sebesar 1455 U per gram.

25

30

35

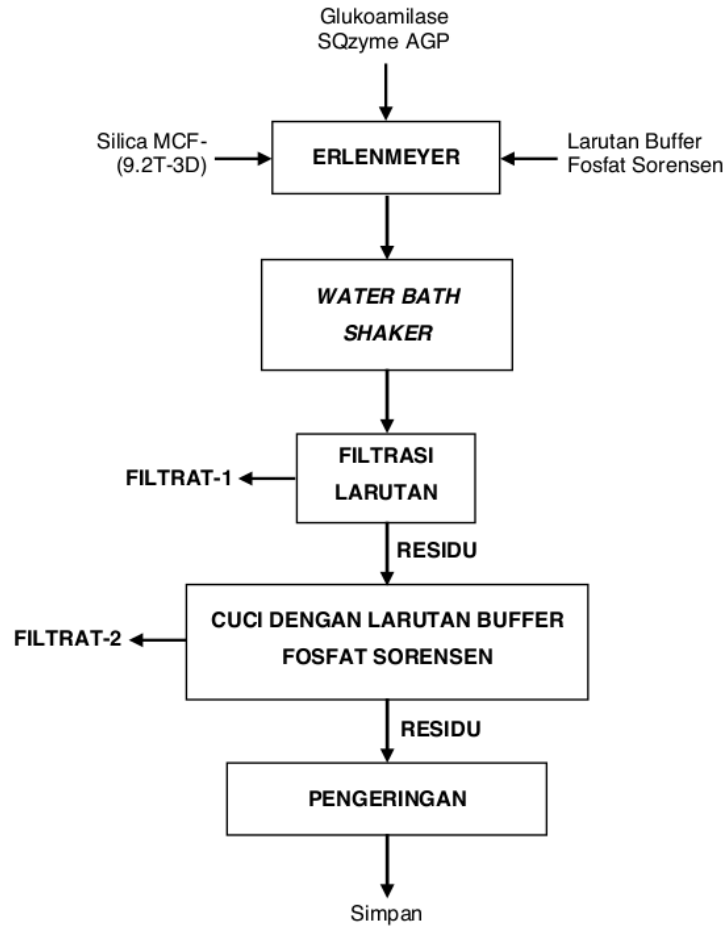
Abstrak

**PROSES PEMBUATAN ENZIM GLUKOAMILASE TERIMOBILISASI PADA
PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR SECARA ADSORPSI**

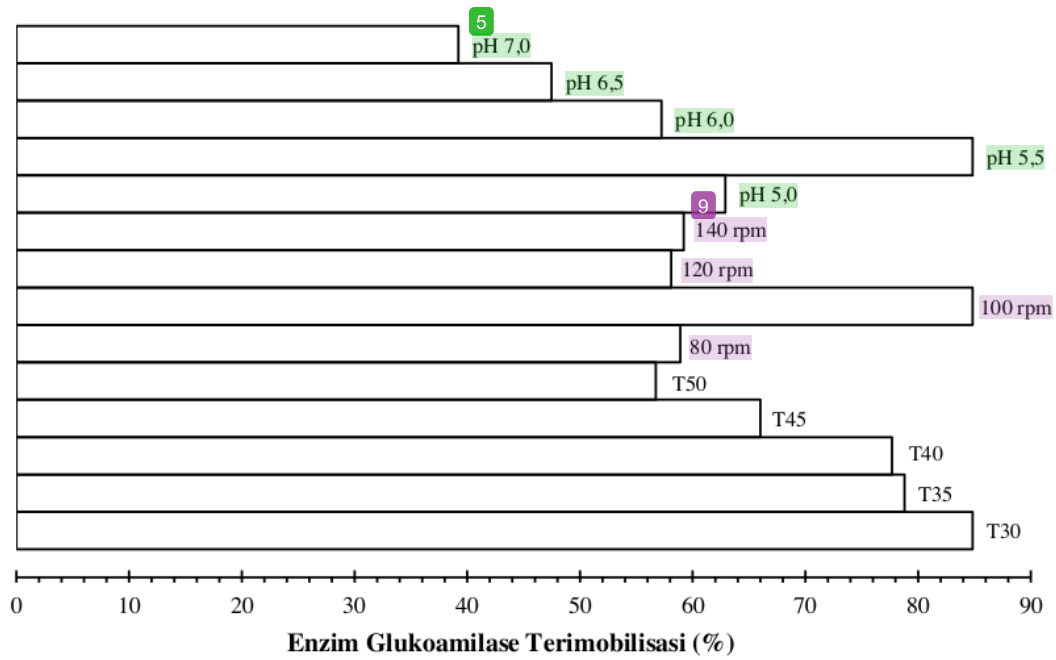
5

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan ¹enzim ¹glukoamilase terimobilisasi pada ¹penyangga anorganik ¹silika MCF-(9.2T-3D) secara *batch* meliputi langkah-langkah sebagai berikut: mencampurkan enzim bebas glukoamilase dengan jumlah 0,5-3,0 mg/mL dan 500 miligram (mg) penyangga kedalam 30 mililiter (mL) larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 pada kondisi temperatur sekitar; menempatkan campuran tersebut dalam *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-50°C dan kecepatan pengadukan 80-140 rotasi per menit (rpm); menyaring campuran yang telah diproses dengan kertas saring Whatman #40 yang ditempatkan pada corong pemisah; mencuci residu yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan ²pH 5,0-7,0 sesuai dengan pH larutan pada proses imobilisasi ²sebanyak 3 (tiga) kali dengan volume ²masing-masing 50 mL; mengeringkan residu padatan pada oven dengan suhu 35°C ⁴selama 12 jam; mendinginkan padatan ⁴dalam desikator selama 1 jam dan dihasilkan produk enzim glukoamilase terimobilisasi yang memiliki unit aktivitas sebesar 1455 U per gram. Tujuan invensi ini adalah menyediakan proses pembuatan ¹enzim ¹glukoamilase terimobilisasi ¹pada ¹penyangga silika MCF (9.2T-3D) dan untuk menyediakan produk ¹enzim ¹glukoamilase terimobilisasi ¹pada ¹penyangga silika MCF (9.2T-3D) yang digunakan untuk proses sakarifikasi zat pati.

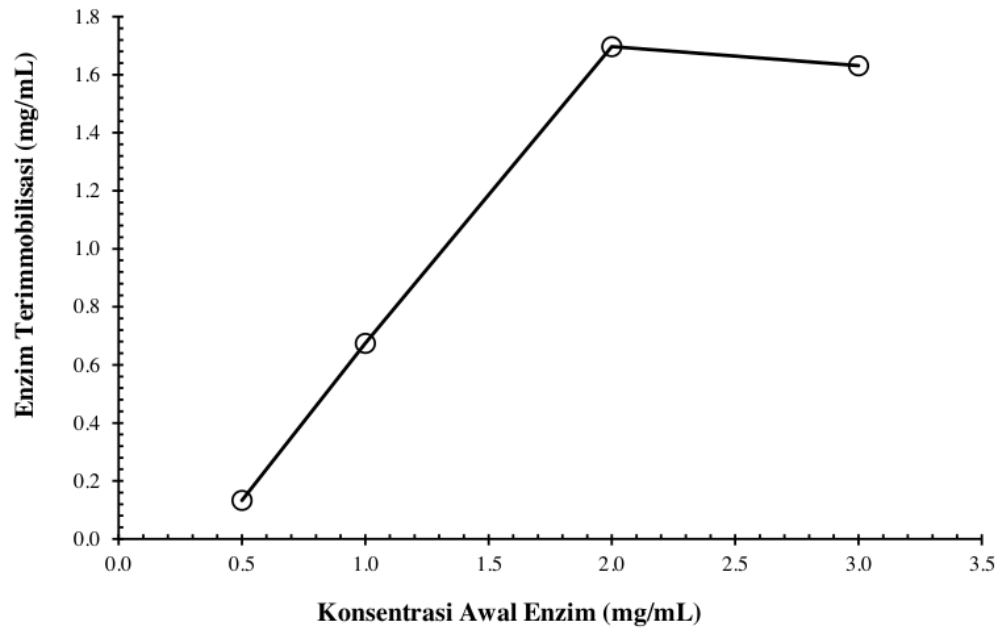
30



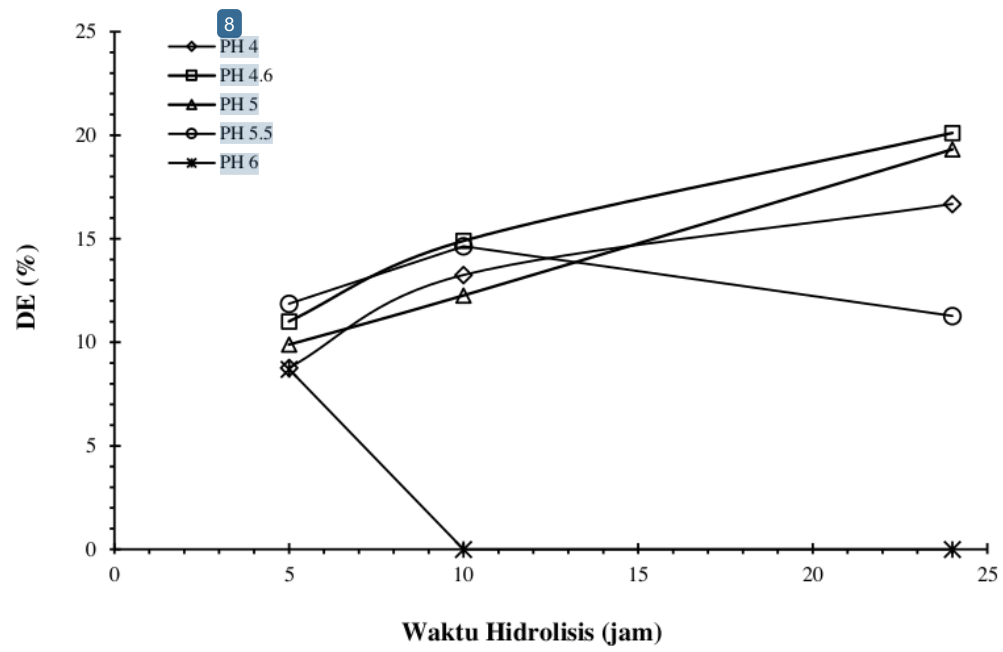
Gambar 1



Gambar 2

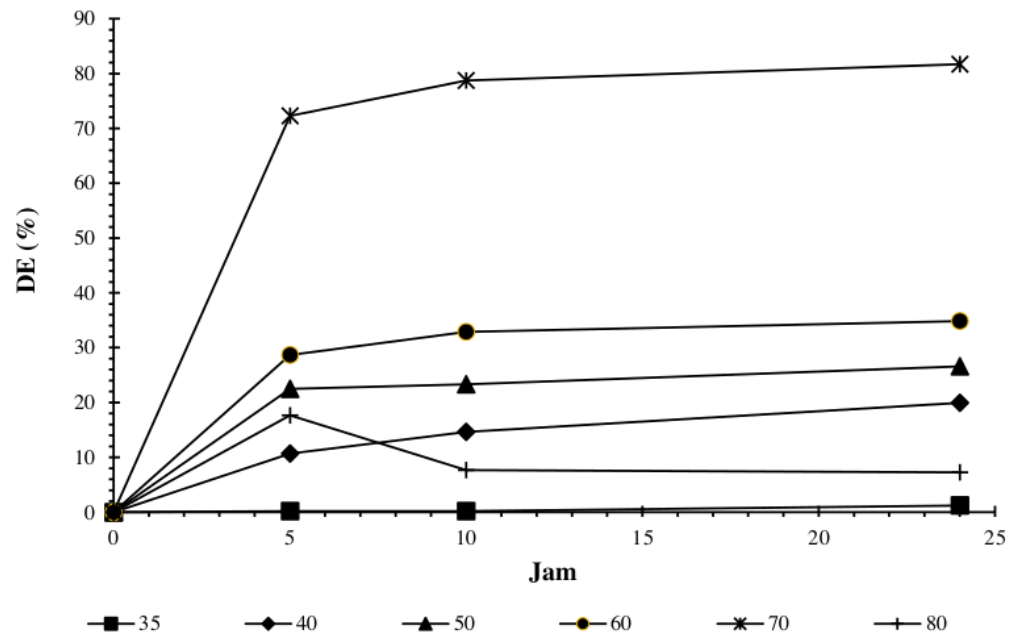


Gambar 3



Gambar 4

5/5



Gambar 5

PROSES PEMBUATAN ENZIM GLUKOAMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR SECARA ADSORPSI

ORIGINALITY REPORT

7 %

SIMILARITY INDEX

7 %

INTERNET SOURCES

1 %

PUBLICATIONS

1 %

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

jurnal.upnyk.ac.id

Internet Source

3 %

2

idoc.pub

Internet Source

1 %

3

es.scribd.com

Internet Source

1 %

4

mazfarmlink.blogspot.com

Internet Source

1 %

5

www.freepatentsonline.com

Internet Source

<1 %

6

Submitted to Unika Soegijapranata

Student Paper

<1 %

7

text-id.123dok.com

Internet Source

<1 %

8

A. Kadri, B. Lorber, C. Charron, M.-C. Robert, B. Capelle, M. Damak, G. Jenner, R. Giegé.

<1 %

"Crystal quality and differential crystal-growth behaviour of three proteins crystallized in gel at high hydrostatic pressure", Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography, 2005

Publication

9

"Drilling Operations and Methods", The Drilling Manual Fifth Edition, 2015.

Publication

<1%

10

biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com

Internet Source

<1%

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On