



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LPPM UNIVERSITAS LAMPUNG
Jl. Soemantri Brodjonegoro No.1, Gedung Meneng,
Rajabasa, Bandar Lampung,
Lampung 35145

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES PEMBUATAN ENZIM ALFA-AMILASE
TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA
SELULER MESOSTRUKTUR

Inventor : Dr. Joni Agustian, S.T., M.Sc
Dr. Lilis Hermida, S.T., M.Sc

Tanggal Penerimaan : 29 Desember 2016

Nomor Paten : IDP000066488

Tanggal Pemberian : 16 Januari 2020

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000066488 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 16 Januari 2020

51) Klasifikasi IPC⁸ : C 12N 1/00, C 12N 9/34, C 12N 11/14, A 61K 31/00
// (C 12N 1:00)

) No. Permohonan Paten : P00201609155

Tanggal Penerimaan: 29 Desember 2016

Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

Tanggal Pengumuman: 06 Juli 2018

Dokumen Pemandang:
U529281B2
RP930422 (B1)
165610 (B)
104480690 (A)
104651335 (A)

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
LPPM UNIVERSITAS LAMPUNG
Jl. Soemantri Brodjonegoro No.1, Gedong Meneng,
Rajabasa, Bandar Lampung,
Lampung 35145

(72) Nama Inventor :
Dr. Joni Agustian, S.T., M.Sc, ID
Dr. Lilis Hermida, S.T., M.Sc, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

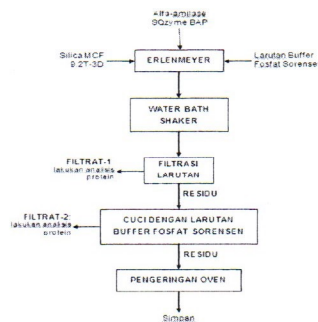
Pemeriksa Paten : Drs. Ahmad Muniri

Jumlah Klaim : 2

Invensi : PROSES PEMBUATAN ENZIM ALFA-AMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR

ik :

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga anorganik silika MCF-9.2T-3D secara batch terdiri atas tahap-tahap sebagai berikut: mencampurkan enzim bebas alfa-amilase SQzyme BAP dengan jumlah 100 mg/mL dan 500 miligram (mg) penyangga kedalam 30 mililiter (mL) larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 7,0 pada kondisi temperatur lingkungan; menempatkan campuran tersebut dalam alat *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-55°C dan kecepatan pengadukan 60-140 rotasi per menit (rpm); menyaring campuran yang telah diproses dengan kertas saring Whatman #40 yang telah disiapkan pada corong pemisah; mencuci residu padatan yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 yang sesuai dengan pH larutan buffer pada proses imobilisasi sebanyak 3 kali dengan volume masing-masing 50 mL; mengeringkan residu padatan pada oven dengan suhu 35°C selama 12 jam; dan menyimpan residu padatan dalam desikator selama 1 jam dan dihasilkan produk enzim glukoamilase terimobilisasi yang memiliki unit aktivitas 100 U per gram. Tujuan invensi adalah menyediakan proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga silika busa seluler dan untuk menyediakan produk enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF (9.2T-3D) yang digunakan sebagai katalisator reaksi zat pati.



Gambar 1





Deskripsi

PROSES PEMBUATAN ENZIM ALFA-AMILASE TERIMOBILISASI PADA PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses imobilisasi enzim bebas alfa-amilase SQzyme-BAP pada penyangga anorganik silika *mesoporous cellular foam* (silika MCF-(9.2T-3D)) secara adsorpsi untuk
10 menghasilkan tingkat enzim terimobilisasi yang tinggi dengan memvariasikan faktor-faktor operasi proses imobilisasi dan pengamatan efektivitas produk enzim alfa-amilase terimobilisasi dalam proses hidrolisis tepung tapioka.

15 **Latar Belakang Invensi**

Penggunaan tepung tapioka dalam produksi etanol mengharuskan konversi tapioka menjadi gula reduksi terlebih dahulu melalui proses hidrolisis asam atau enzimatis sebelum fermentasi etanol dilakukan. Proses hidrolisis tapioka dilaksanakan dalam 2 (dua)
20 tahap proses, yaitu: tahap likuifaksi dan tahap sakarifikasi dimana enzim alfa-amilase bekerja untuk tahap likuifaksi, sedangkan enzim glukoamilase berfungsi dalam proses sakarifikasi. Kedua enzim amilase harus dipasok dari luar karena mikroorganisme fermentasi etanol tidak dapat menghasilkan mereka. Tetapi,
25 penambahan enzim amilase dalam bentuk enzim bebas (*free enzymes*) kedalam larutan tepung tapioka masih sering dilakukan, sehingga enzim bebas yang telah dipakai tidak dapat dihimpun untuk digunakan kembali. Karena harga enzim amilase bebas cukup mahal dan penggunaannya cukup besar, maka pemakaian berulang kali enzim
30 amilase dalam proses hidrolisis akan membantu ekonomi produksi etanol.

Aplikasi teknologi enzim terimobilisasi merupakan cara untuk menggunakan kembali enzim bebas dalam proses produksi. Enzim bebas akan dilekatkan pada permukaan penyangga yang bersifat *inert*.
35 Enzim terimobilisasi dapat ditempatkan dalam reaktor unggun tetap





dimana larutan tapioka dialirkan ke reaktor untuk proses hidrolisis. Enzim terimobilisasi ditambahkan kedalam larutan tapioka dan, setelah proses hidrolisis berlangsung, enzim terimobilisasi dapat difiltrasi dan diresirkulasi. Meskipun imobilisasi enzim mengakibatkan peningkatan resistansi perpindahan massa dan biaya preparasi katalis, teknologi imobilisasi enzim dapat meningkatkan stabilitas, aktivitas dan selektifitas enzim serta mereduksi inhibisi enzim. Sudah banyak metode dan penyangga yang dikaji, tetapi faktor-faktor operasi sangat mempengaruhi proses imobilisasi.

Imobilisasi enzim alfa-amilase secara adsorpsi, pengikatan kovalen, *entrapment* dan *cross-linking* telah dicoba pada penyangga anorganik seperti partikel nano magnetik, polivinil alkohol, poligliserid metakrilat, polianilin, mineral Fuller dan campuran karboksimetil selulosa-gelatin. Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa alfa-amilase terimobilisasi memiliki stabilitas dan aktivitas yang cukup baik seperti enzim alfa-amilase bebas. Alfa-amilase terimobilisasi memiliki stabilitas dan konstanta kinetika yang lebih besar daripada enzim alfa-amilase bebas (Akkaya dkk, 2012). Efisiensi proses imobilisasi dipengaruhi oleh media imobilisasi, waktu kontak dan konsentrasi/jumlah awal enzim bebas (Ashly dkk, 2011). Alfa-amilase terimobilisasi memiliki umur lebih panjang dan aktivitas sisa 75% setelah 5 (lima) kali pemakaian (Rath dkk, 2012). Enzim alfa-amilase terimobilisasi pada Fe_2O_3 -NPs berhasil mempertahankan 94% aktivitas awal enzim (Khan dkk, 2012). Stabilitas termal enzim alfa-amilase terimobilisasi pada serat polivinil alkohol meningkat, tetapi dan aktivitasnya menurun sebesar 25% setelah 30 hari disimpan (Oktay dkk, 2015).

Salah satu penyangga untuk imobilisasi enzim adalah silika. Imobilisasi enzim alfa-amilase pada partikel nano magnetik termodifikasi dibalut silika secara kovalen memperlihatkan aktivitas katalitik dan stabilitas termal enzim terimobilisasi yang lebih baik daripada enzim bebas (Sohrabi dkk, 2014). Soleimani dkk (2012) menggunakan partikel nano-silika untuk mengadsorpsi alfa-amilase bebas guna mempelajari pengaruh suhu, pH dan kelembaban terhadap kinerja alfa-amilase dalam menghidrolisis



pati, dan mendapatkan bahwa enzim terimobilisasi memiliki kinerja dan stabilitas lebih baik dari enzim bebas. Enkapsulasi alfa-amilase pada silika mesopori juga menunjukkan stabilitas termal lebih tinggi daripada alfa-amilase bebas dimana jumlah enzim yang terimobilisasi bertambah dengan meningkatnya ukuran pori penyangga (Hisamatsu dkk, 2012). Pandhya dkk (2005) yang mengimobilisasi alfa-amilase secara bertahap pada beberapa silika mesopori secara kovalen menyimpulkan silika MCF-335 memiliki aktivitas setara 80% aktivitas enzim bebas. Lebih lanjut, mereka menyatakan bahwa imobilisasi enzim alfa-amilase secara kovalen pada silika MCM-41 dan SBA-15 terjadi pada permukaan eksternal silika, sedangkan penyangga silika MCF-335 berhasil mengimobilisasi enzim alfa-amilase ke bagian dalam pori-pori silika, sehingga memiliki aktivitas spesifik mendekati alfa-amilase bebas dalam likuifaksi pati.

Beberapa paten telah memaparkan keberhasilan imobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada beberapa penyangga. Paten US No. 4.338.398 menguraikan proses imobilisasi enzim alfa-amilase bebas DENAZYME pada permukaan resin Amberlite XAD-1 secara kovalen yang kemudian digunakan pada pembuatan sirup padat oligoglukosil fruktosida. Paten US No. 6.274.355 mendiskusikan penggunaan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada permukaan partikel resin berpori untuk pembuatan sirup maltose. Paten US No. 3.627.638 berisi uraian proses imobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada permukaan senyawa selulosa. Paten US No. 4.251.631 merangkum keberhasilan proses imobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada permukaan membrane selulosa ester, nilon, kopolimer akrilonitril-polivinil klorida dan silika termodifikasi polivinil klorida.

30 Ringkasan Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga anorganik silika MCF-(9.2T-3D) secara *batch* terdiri atas tahap-tahap sebagai berikut: mencampurkan enzim bebas alfa-amilase SQzyme BAP dengan jumlah 1,0-3,0 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 lingkungan; menempatkan campuran tersebut dalam alat *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-55°C dan kecepatan pengadukan 60-140 rotasi per menit (rpm); menyaring campuran yang telah diproses dengan kertas saring Whatman #40 yang telah disiapkan pada corong pemisah; mencuci residu padatan yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 yang sesuai dengan pH larutan buffer 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 alfa-amilase terimobilisasi yang memiliki unit aktivitas sebesar 101 U per gram.

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

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

20 **Uraian Singkat Gambar**

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

Gambar 2. Pengaruh temperatur (T), kecepatan pengadukan campuran (rpm), pH larutan buffer dan konsentrasi awal enzim bebas terhadap tingkat imobilisasi alfa-amilase bebas

Gambar 3. Pengaruh temperatur terhadap nilai DE proses hidrolisis tapioka

Gambar 4. Pengaruh kecepatan pengadukan campuran terhadap nilai DE

30

Uraian lengkap Invensi

Proses imobilisasi dilakukan dengan metode adsorpsi enzim alfa-amilase bebas pada permukaan silika MC-(9.2T-3D) seperti diuraikan pada Gambar 1. Enzim alfa-amilase bebas dengan konsentrasi 1,0-3,0 mg/mL dilarutkan dalam larutan fosfat buffer

35

Sorensen 100 mM yang memiliki kondisi pH 5,0-7,0. Kemudian, 500 mg silika MCF ditambahkan kedalam larutan tersebut. Campuran diletakan dalam alat *water bath shaker* dan kecepatan pengadukan diatur pada rentang nilai 60-140 rotasi per menit (rpm).

5 Temperatur unit *water bath shaker* diatur pada rentang 30-55°C. Proses imobilisasi dilaksanakan selama 5 (lima) jam. Setelah 5 jam, campuran disaring dengan kertas saring Whatman #40. Filtrat disimpan dalam kulkas terlebih dahulu untuk kemudian dianalisis kandungan proteinnya (filtrat-1), sedangkan residu padatandibilas
10 dengan larutan buffer Sorensen (3x50 mL) dengan nilai pH yang sesuai dengan pH pada proses imobilisasi. Filtrat proses pencucian disimpan terlebih dahulu sebelum dianalisis kandungan proteinnya (filtrat-2). Selanjutnya, residu padatan dikeringkan dalam oven dengan suhu diatur pada nilai 35°C selama 1 (satu) malam. Setelah
15 itu residu padatandisimpan dalam desikator selama 1 (satu) jam. Enzim terimobilisasi yang telah kering disimpan dalam kulkas dengan kondisi suhu ruang sebelum digunakan dalam proses hidrolisis tepung tapioka. Jumlah enzim bebas yang terimobilisasi dihitung dengan persamaan (1), yaitu:

$$20 \quad \text{Enzim terimobilisasi (\%)} = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times V \times 100 \quad \dots (1)$$

dimana C_0 dan C_t adalah konsentras enzim bebas awal dan akhir (mg/mL) dan V adalah volume reaktor (mL). Selama proses imobilisasi, faktor pH, temperatur, kecepatan pengadukan dan konsentrasi enzim divariasikan. Dalam proses imobilisasi enzim
25 bebas, beberapa faktor operasi proses sangat mempengaruhi tingkat imobilisasi pada permukaan penyangga anorganik silika MCF-(9.2T-3D). Imobilisasi yang tepat bergantung pada faktor-faktor seperti waktu reaksi, pH, suhu, larutan buffer (Mateo dkk, 2007).

Faktor operasi yang pertama kali divariasikan adalah
30 temperatur. Temperatur yang tinggi dapat memudahkan pergerakan enzim dan penyangga (Mateo dkk, 2007), sehingga dapat membantu peningkatan interaksi enzim bebas dan penyangga agar terbentuk penggabungan dalam jumlah yang besar. Faktor operasi ini diamati pada rentang 30-55°C dengan interval 5°C selama 5 (lima) jam dimana
35 faktor-faktor lainnya dipertahankan konstan (kecepatan pengadukan



campuran: 100 rpm; pH larutan buffer fosfat Sorensen: 5,5; konsentrasi awal alfa-amilase bebas: 2 mg/mL). Tingkat immobilisasi enzim bebas yang dihasilkan adalah 75,50-84,88% seperti diuraikan dalam Gambar 2. Hasil terendah dan tertinggi diperoleh pada temperatur 30°C (T30) dan 50°C (T50). Hasil yang didapatkan tersebut termasuk tinggi karena $\geq 75\%$ enzim bebas dapat diimmobilisasi. Tetapi perbedaan hasil tertinggi dan terendah tersebut tidak terlalu besar ($<10\%$), sehingga proses immobilisasi dapat dilakukan pada suhu rendah seperti 30°C jika faktor pasokan energi untuk proses immobilisasi menjadi hal yang harus dipertimbangkan. Rentang temperatur 35-45°C (T35-T45) menghasilkan tingkat immobilisasi sebesar 77,41-81,05%, sedangkan suhu 55°C (T55) memberikan tingkat immobilisasi sekitar 83,60%. Oleh karena itu, silika MCF-(9.2T-3D) dapat digunakan dengan baik sebagai penyangga enzim alfa-amilase bebas karena tingkat immobilisasi yang tinggi. Faktor temperatur pada rentang 30-55°C kurang berpengaruh terhadap proses immobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada silika MCF karena fluktuasi tingkat immobilisasi enzim yang tidak besar.

Kecenderungan peningkatan jumlah enzim yang terimmobilisasi yang seiring dengan meningkatnya temperatur berkaitan dengan peristiwa pergerakan partikel oleh proses pemanasan. Seperti dijelaskan sebelumnya bahwa semakin tinggi temperatur, maka interaksi antara enzim dan penyangga akan semakin cepat (Mateo dkk, 2007), sehingga terjadi interaksi yang tinggi diantara enzim dan silika MCF. Tetapi, penurunan tingkat enzim terimmobilisasi yang terjadi pada saat temperatur dinaikan dari 50°C ke 55°C adalah disebabkan oleh pergerakan yang terlalu cepat diantara enzim bebas dan silika MCF, sehingga tumbukan yang terjadi justru mengakibatkan lepasnya ikatan-ikatan yang telah terbentuk. Metode yang digunakan pada proses immobilisasi ini adalah metode adsorpsi dimana kekurangan metode ini adalah memiliki ikatan yang lemah diantara enzim bebas dan penyangganya (Nisha, 2012).

Suhu efektif untuk proses immobilisasi enzim alfa-amilase bebas sesungguhnya bergantung pada jenis penyangga yang digunakan. Wang dkk (2011) mengimmobilisasi enzim alfa amilase pada penyangga

pentaetilenahexamin dan pentaetilglikol pada suhu 35°C selama 8 (delapan) jam dan mendapatkan tingkat imobilisasi sebesar 75%. Cigil dkk (2013), Djabali dkk (2009) dan Hasirci dkk (2006) menggunakan suhu yang lebih rendah (25°C) dalam proses imobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada penyangga poliimida termodifikasi, alginat dan partikel *poly(dimer acid-co-alkyl polyamine)*. Akkaya dkk (2012) mengimobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada temperatur 37°C pada permukaan butiran poliglisisidilmetakrilat.

Faktor kedua yang diobservasi adalah kecepatan pengadukan campuran (rpm) enzim bebas dan silika MCF. Kecepatan pengadukan mempengaruhi tingkat imobilisasi enzim bebas karena pengadukan akan mendistribusikan partikel-partikel di dalam cairan, sehingga dapat mendukung peristiwa perpindahan massa partikel. Kecepatan pengadukan yang digunakan adalah 60-140 rotasi per menit (rpm) dengan faktor lain adalah tetap (temperatur: 50°C; pH larutan buffer: 5,5; konsentrasi awal enzim bebas: 2 mg/mL; waktu imobilisasi: 5 jam). Tingkat imobilisasi yang dihasilkan berada pada nilai 80,97-84,88% (Gambar 2) dimana hasil tertinggi dan terendah didapatkan pada kecepatan pengadukan 100 rpm dan 120 rpm. Perbedaan tingkat imobilisasi yang didapatkan tidak terlalu besar, yaitu < 5%. Selisih tingkat imobilisasi untuk kecepatan pengadukan 60-100 rpm juga kecil (< 1%), sehingga kecepatan pengadukan dapat dioperasikan pada kondisi yang cukup rendah agar pasokan energi pengadukan menjadi lebih kecil. Faktor kecepatan pengadukan pada rentang yang digunakan kurang berpengaruh terhadap proses imobilisasi enzim alfa-amilase bebas pada silika MCF karena garis kurva yang dihasilkan cenderung mendatar (linier) yang berarti fluktuasi tingkat imobilisasi enzim alfa-amilase bebas tidak tinggi sebagaimana dapat diamati dalam Gambar 2.

Faktor kecepatan pengadukan kurang menjadi fokus observasi penelitian terdahulu. Dari artikel-artikel yang telah dipublikasi, tidak banyak ditemukan pembahasan spesifik tentang pengaruh kecepatan pengadukan campuran. Sebagian besar artikel tersebut hanya menjelaskan bahwa dilakukan pengadukan campuran tanpa memberikan detil (angka) kecepatan pengadukan. Tetapi,

Cigil dkk (2013) menggunakan kecepatan pengadukan sebesar 110 rpm untuk proses imobilisasi secara kovalen enzim alfa-amilase pada permukaan poliimida termodifikasi. Terdahulu, Lim dkk (2003) mengaduka campuran dengan kecepatan 200 rpm untuk imobilisasi enzim tersebut pada partikel silika berukuran 0,5-10 mikrometer (μm).

pH dari larutan *buffer* fosfat Sorensen juga turut berpengaruh terhadap hasil proses imobilisasi enzim. Proses imobilisasi seringkali dilaksanakan pada pH netral (Mateo dkk, 2007). Kondisi pH larutan buffer diamati pada rentang nilai 5,0-7,0 dengan interval 0,5 dan faktor lainnya adalah tetap (temperatur: 50°C; kecepatan pengadukan: 100 rpm; konsentrasi awal enzim bebas: 2 mg/mL; waktu reaksi: 5 jam). Tingkat imobilisasi enzim bebas yang didapatkan adalah 74,6-94,5% dimana tingkat imobilisasi tertinggi berada pada pH 6,0, sedangkan tingkat imobilisasi terendah berada pada pH 5,0 (Gambar 2). Peningkatan kondisi pH larutan buffer menjadi > 6,0 mengakibatkan penurunan tingkat imobilisasi yang cukup besar, yaitu: 11-14%. pH larutan buffer 5,5 menghasilkan tingkat imobilisasi enzim sebesar 84,95. Faktor pH ternyata sangat berpengaruh terhadap tingkat imobilisasi enzim bebas karena fluktuasi hasil yang besar.

Sohrabi dkk (2014) menggunakan larutan buffer fosfat pH 6,9 untuk mengimobilisasi enzim alfa-amilase pada permukaan partikel nano magnetik terfungsionalisasi dengan tingkat imobilisasi sebesar 45%. Soleimani dkk (2012) mengamati proses imobilisasi enzim alfa-amilase pada permukaan partikel nano silika pada rentang pH 2-10 dengan hasil > 80% enzim terimobilisasi pada level pH 2-6, sedangkan larutan fosfat pH 8-10 menghasilkan tingkat imobilisasi yang kurang dari 50%. Wang dkk (2011) mendapatkan tingkat imobilisasi sebesar 80-83% pada kondisi pH 7-8. Akkaya dkk (2012) mendapatkan tingkat imobilisasi enzim alfa-amilase lebih dari 80% pada kondisi pH 9-11, sedangkan pH 4,0-7,5 menghasilkan tingkat imobilisasi kurang dari 50%.

Faktor terakhir yang diamati pada proses imobilisasi enzim alfa-amilase pada penyangga silika MCF-(9.2T-3D) adalah

Faktor pertama yang dipertimbangkan mempengaruhi konversi tapioka menjadi gula reduksi (DE) adalah temperatur yang diamati pada rentang nilai 50-80°C seperti diperlihatkan dalam Gambar 3. Nilai DE yang diperoleh berada pada interval 26,99-52,07% setelah observasi selama 24 jam. Nilai DE tertinggi dan terendah dihasilkan pada temperatur 80°C dan 50°C. Konverasi tapioka menjadi gula reduksi cenderung meningkat seiring dengan naiknya suhu reaksi hidrolisis. Temperatur 60°C dan 70°C menghasilkan nilai DE masing-masing sebesar 51,55% dan 50,25% yang tidak jauh berbeda dengan nilai DE terbesar yang dihasilkan. Pengaruh temperatur terhadap proses hidrolisis tapioka menggunakan cukup tinggi dimana suhu rendah (50°C) menghasilkan nilai DE yang rendah sedangkan pada suhu 60-80°C konversi yang diperoleh cukup baik dan stabil (50-52%).

Faktor selanjutnya yang diamati adalah kecepatan pengadukan campuran (Gambar 4). Kecepatan pengadukan diamati pada rentang nilai 100-160 rotasi per menit (rpm). Konversi pati tapioka menjadi gula reduksi adalah sebesar 35,09-51,55%. Hasil tertinggi didapatkan pada kecepatan pengadukan 140 rpm, sedangkan hasil terendah diperoleh pada kecepatan pengadukan 120 rpm. Kecepatan pengadukan 100 rpm dan 160 rpm menghasilkan nilai DE masing-masing sebesar 35,25% dan 47,94%. Kecepatan pengadukan yang rendah cenderung menghasilkan nilai DE yang rendah, tetapi kecepatan pengadukan yang terlalu tinggi menurunkan konversi tapioka menjadi gula reduksi (DE). Pengaruh kecepatan pengadukan terhadap nilai DE yang dihasilkan cukup besar.

30

35

**Klaim**

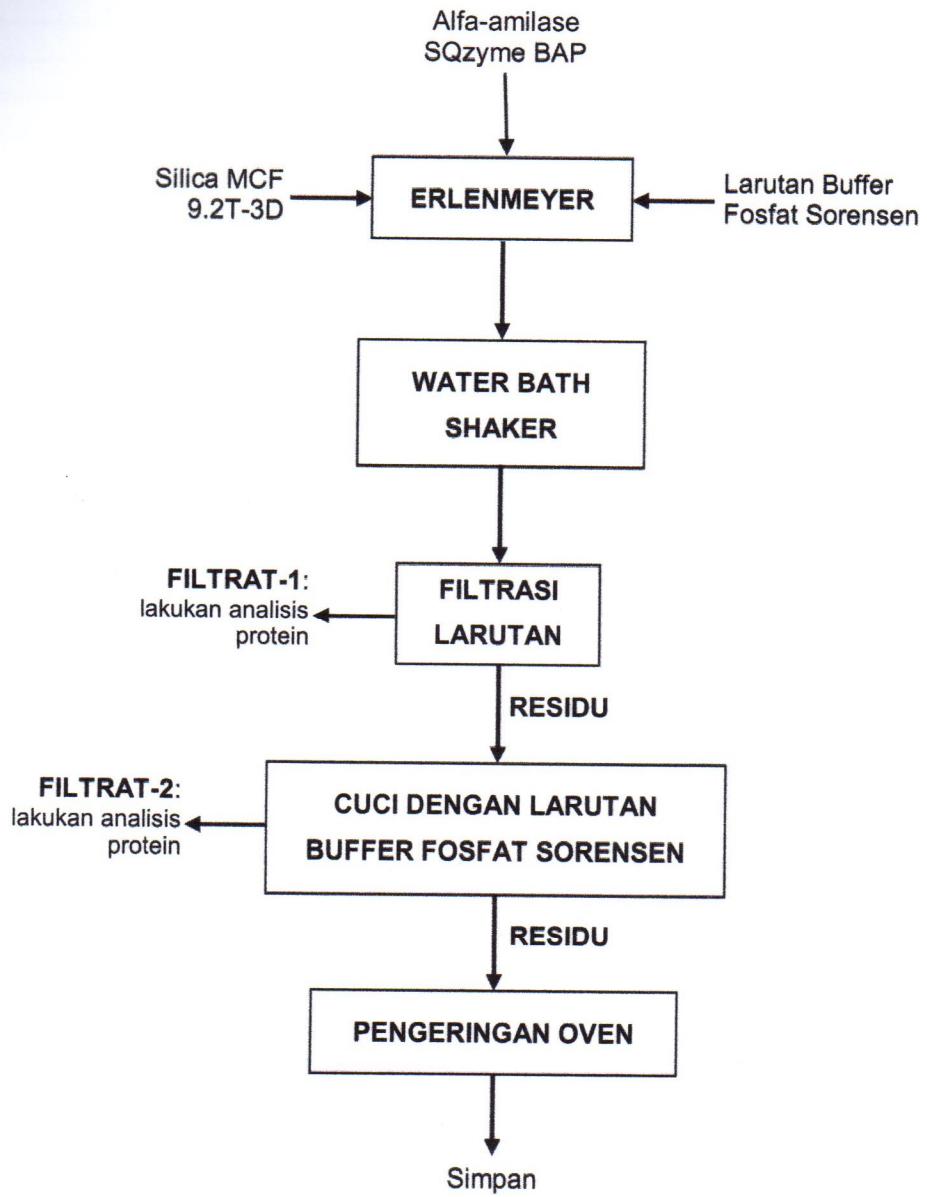
1. Proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga anorganik silika MCF-(9.2T-3D) secara *batch* terdiri atas tahap-tahap sebagai berikut:
 - 5 a. mencampurkan enzim bebas alfa-amilase SQzyme BAP dengan jumlah 1,0-3,0 mg/mL dan 500 miligram (mg) penyangga kedalam 30 mililiter (mL) larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 pada kondisi temperatur lingkungan;
 - 10 b. menempatkan campuran (a) dalam alat *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-55°C dan kecepatan pengadukan 60-140 rotasi per menit (rpm);
 - c. menyaring campuran (b) dengan kertas saring Whatman #40 yang telah disiapkan pada corong pemisah;
 - 15 d. mencuci residu padatan yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 yang sesuai dengan pH larutan buffer pada proses imobilisasi sebanyak 3 (tiga) kali dengan volume masing-masing 50 mL;
 - 20 e. mengeringkan residu padatan pada oven dengan suhu 35°C selama 12 jam;
 - f. mendinginkan padatan dalam desikator selama 1 jam dan dihasilkan produk enzim alfa-amilase terimobilisasi.
2. Produk enzim alfa-amilase terimobilisasi yang dihasilkan dari Klaim 1 dicirikan memiliki unit aktivitas sebesar 101 U per gram.
- 25
- 30
- 35

Abstrak**PROSES PEMBUATAN ENZIM ALFA-AMILASE TERIMOBILISASI PADA
PENYANGGA SILIKA BUSA SELULER MESOSTRUKTUR**

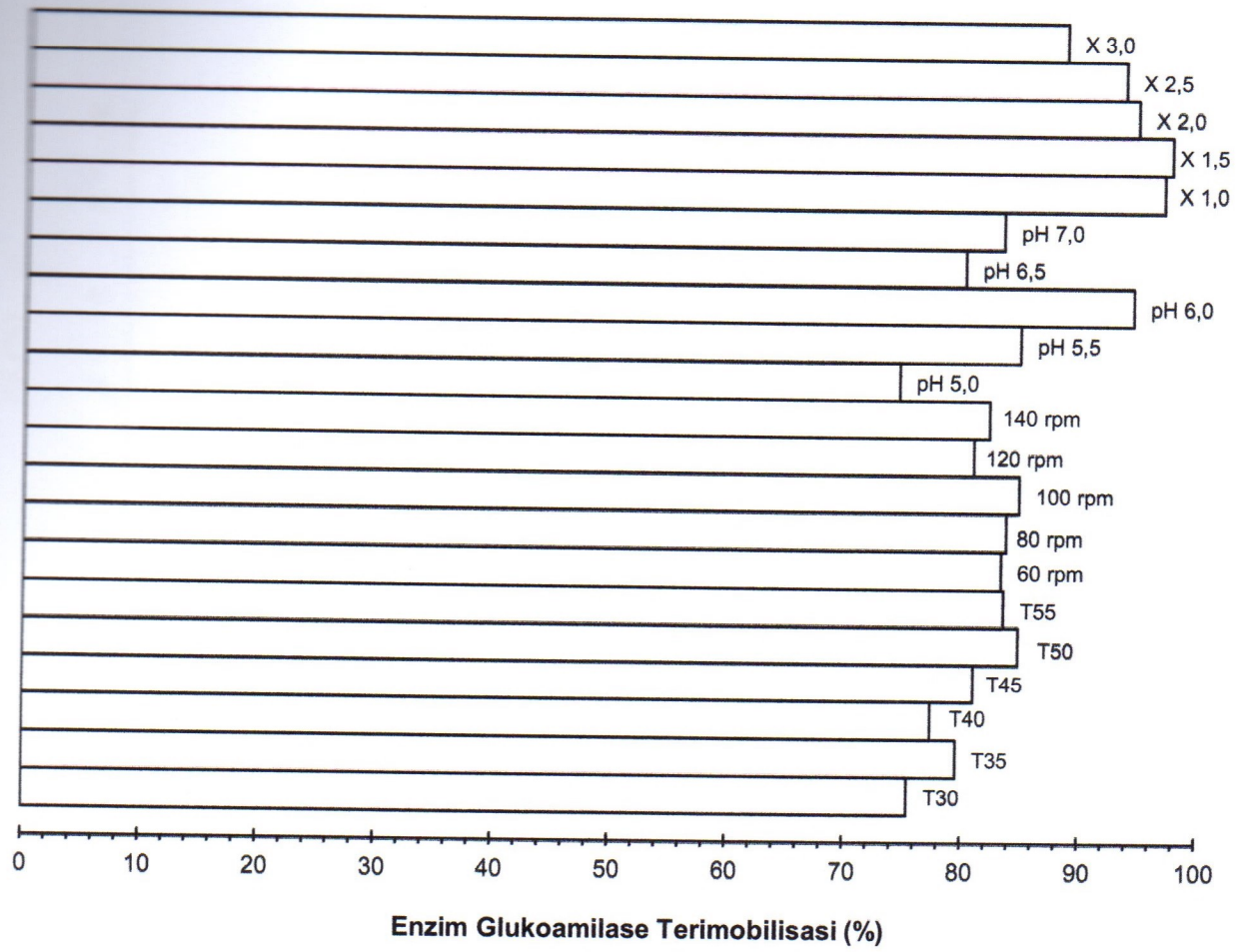
5

Invensi ini berhubungan dengan proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga anorganik silika MCF-(9.2T-3D) secara *batch* terdiri atas tahap-tahap sebagai berikut: mencampurkan enzim bebas alfa-amilase SQzyme BAP dengan jumlah
10 1,0-3,0 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 lingkungan; menempatkan campuran tersebut dalam alat *water bath shaker* selama 5 (lima) jam pada temperatur 30-55°C dan kecepatan pengadukan 60-140 rotasi per menit
15 (rpm); menyaring campuran yang telah diproses dengan kertas saring Whatman #40 yang telah disiapkan pada corong pemisah; mencuci residu padatan yang terdapat pada kertas saring dengan larutan buffer fosfat Sorensen 100 milimolar (mM) dengan pH 5,0-7,0 yang sesuai dengan pH larutan buffer pada proses imobilisasi sebanyak
20 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 unit aktivitas sebesar 101 U per gram. Tujuan invensi adalah menyediakan
25 proses pembuatan enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF (9.2T-3D) dan untuk menyediakan produk enzim alfa-amilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF (9.2T-3D) yang digunakan untuk proses likuifaksi zat pati.

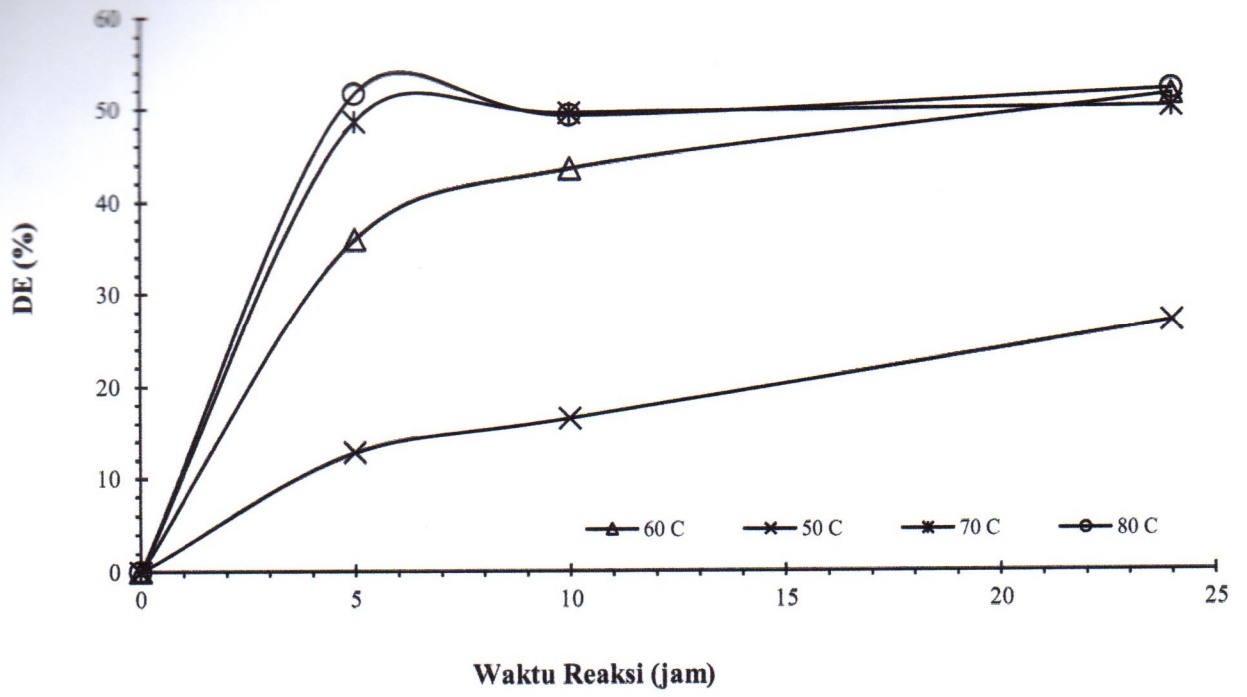
30



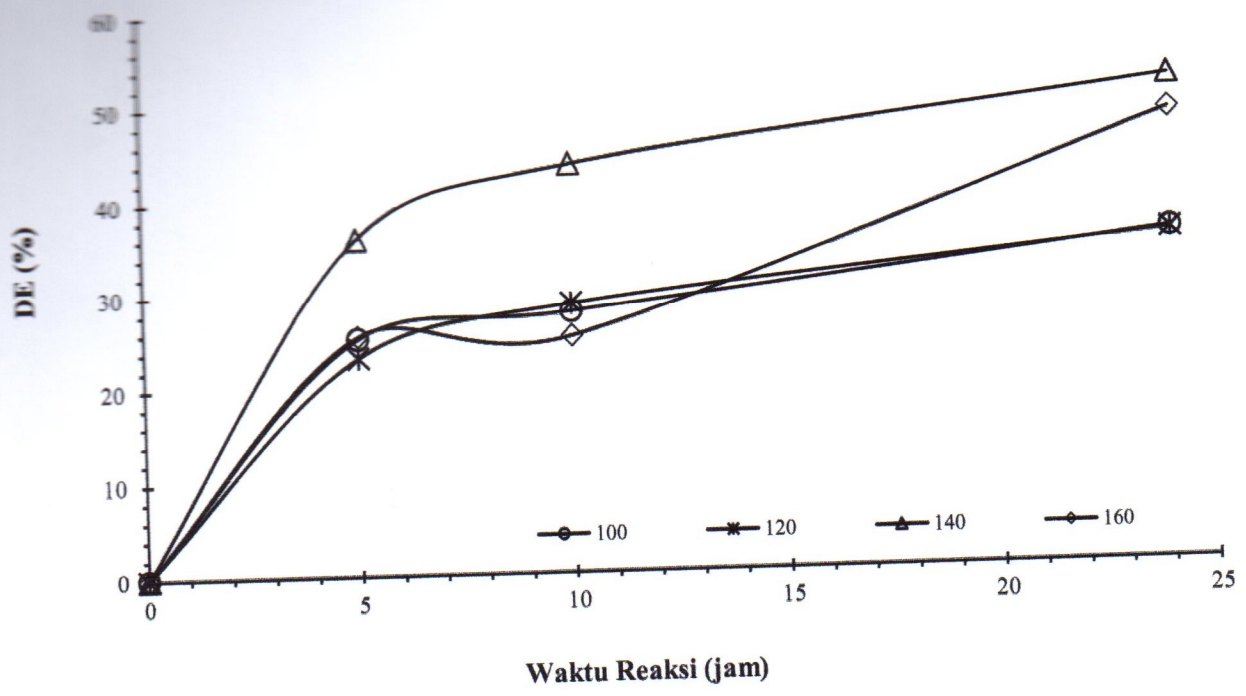
Gambar 1



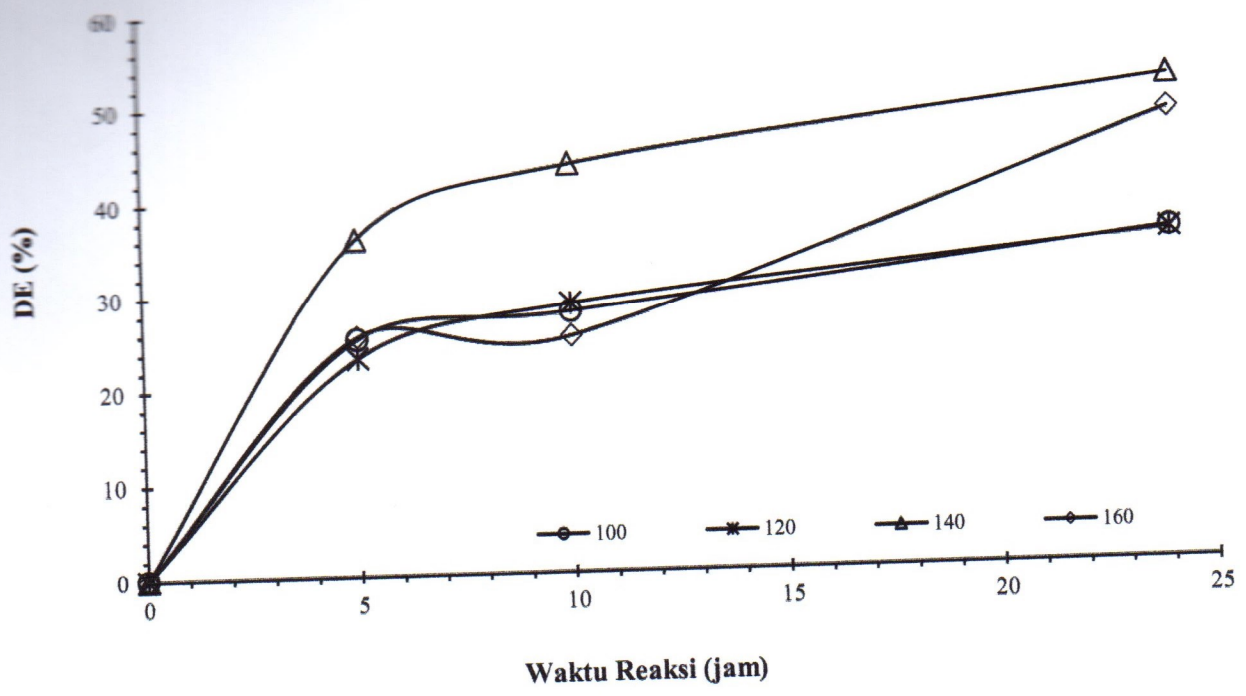
Gambar 2



Gambar 3



Gambar 4



Gambar 4

KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN, DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU DAN RAHASIA DAGANG

Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
 Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDP000066488 Tanggal diberi : 16/01/2020 Jumlah Klaim : 2
 Nomor Permohonan : P00201609155 IPAS Filing Date : 29/12/2016
 Entitlement Date : 29/12/2016

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	29/12/2016-28/12/2017	15/07/2020	0	2	0	0	0	0	0
2	29/12/2017-28/12/2018	15/07/2020	0	2	0	0	0	0	0
3	29/12/2018-28/12/2019	15/07/2020	0	2	0	0	0	0	0
4	29/12/2019-28/12/2020	15/07/2020	0	2	0	0	0	0	0
5	29/12/2020-28/12/2021	15/07/2020	0	2	0	0	0	0	0
6	29/12/2021-28/12/2022	30/11/2021	1.500.000	2	300.000	1.800.000	0	0	1.800.000
7	29/12/2022-28/12/2023	30/11/2022	2.000.000	2	400.000	2.400.000	0	0	2.400.000
8	29/12/2023-28/12/2024	30/11/2023	2.000.000	2	400.000	2.400.000	0	0	2.400.000
9	29/12/2024-28/12/2025	30/11/2024	2.500.000	2	500.000	3.000.000	0	0	3.000.000
10	29/12/2025-28/12/2026	30/11/2025	3.500.000	2	500.000	4.000.000	0	0	4.000.000
11	29/12/2026-28/12/2027	30/11/2026	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
12	29/12/2027-28/12/2028	30/11/2027	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
13	29/12/2028-28/12/2029	30/11/2028	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
14	29/12/2029-28/12/2030	30/11/2029	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
15	29/12/2030-28/12/2031	30/11/2030	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
16	29/12/2031-28/12/2032	30/11/2031	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
17	29/12/2032-28/12/2033	30/11/2032	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
18	29/12/2033-28/12/2034	30/11/2033	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
19	29/12/2034-28/12/2035	30/11/2034	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000
20	29/12/2035-28/12/2036	30/11/2035	5.000.000	2	500.000	5.500.000	0	0	5.500.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 05/02/2020 (tahun ke-1 s.d 5) adalah sebesar 0 ₨ .

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Permohonan penundaan pembayaran biaya tahunan akan diterima apabila diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan berikutnya, dan bukan merupakan pembayaran biaya tahunan pertama kali.
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus