

## Pengaruh Waktu Dan Konsentrasi Substrat Pada Hidrolisis Bubur Batang Sorgum Manis (*Sorghum Bicolor (L) Moench*) Menggunakan Ekstrak Kasar Enzim Selulase *Trichoderma reesei*

Karolina N. Bandung<sup>1</sup>; Jasman<sup>2</sup>; Kasimir Sarifudin<sup>3</sup>

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana, Jl. Adi sucipto, Penfui Kupang Indonesia  
Email korespondensi: novabandung46@gmail.com

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh waktu dan konsentrasi substrat terhadap kandungan gula pada bubur batang sorgum manis menggunakan ekstrak kasar enzim selulase *Trichoderma reesei*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu dan konsentrasi substrat terhadap kandungan gula bubur batang sorgum manis. Metode yang digunakan yaitu hidrolisis bubur batang sorgum manis dengan campuran ekstrak kasar enzim selulase dari *Trichoderma reesei*. Hasil hidrolisis dianalisis menggunakan spektrofotometer uv-vis untuk mengetahui kandungan gulanya. Hasil penelitian menunjukkan pengaruh dari waktu dan konsentrasi susbtrat menunjukkan kadar glukosa pada waktu 18 jam dengan konsentrasi 30% b/v merupakan perlakuan yang mendapatkan kadar glukosa tertinggi yaitu sebesar 1,35293%.

**Kata kunci:** Bubur batang sorgum manis, hidrolisis, waktu dan konsnetrasi substrat, kadar gula reduksi.

### ABSTRACT

Research has been carried out to determine the effect of time and substrate concentration on the sugar content of sweet sorghum stem pulp using crude extract of the cellulase enzyme *Trichoderma reesei*. The purpose of this study was to determine the effect of time and substrate concentration on the sugar content of sweet sorghum slurry. The method used is the hydrolysis of sweet sorghum slurry with a mixture of crude extract of cellulase enzyme from *Trichoderma reesei*. The results of the hydrolysis were analyzed using a uv-vis spectrophotometer to determine the sugar content. The results showed the effect of time and the concentration of the substrate showed glucose levels at 18 hours with a concentration of 30% w/v was the treatment that got the highest glucose levels of 1.35293%.

**Keyword:** Sweet sorghum stalk pulp, hydrolysis, time and substrate concentration, reducing sugar content.

### PENDAHULUAN

Dewasa ini permasalahan mengenai bahan bakar minyak merupakan salah satu masalah global. Setiap orang memiliki kecenderungan menggunakan energi dalam jumlah banyak untuk memenuhi kebutuhan hidup, namun sangat disayangkan karena bahan bakar yang dipakai adalah bahan bakar yang tidak terbarukan karena berbahan dasar fosil. Sumber energi, terutama bahan bakar merupakan salah satu kebutuhan yang paling penting dalam berbagai sektor kehidupan. Bahan bakar yang banyak digunakan bersumber dari fosil dan berwujud minyak, atau yang biasa disebut dengan BBM (Bahan Bakar Minyak)[1].

Pemerintah Indonesia mengeluarkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional untuk mengembangkan sumber energi alternatif sebagai pengganti BBM [2]. Kebijakan tersebut menetapkan penggunaan sumber energi terbarukan seperti bahan bakar nabati (BBN) sebagai bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak (BBM).

Bahan bakar berbasis nabati diharapkan dapat mengurangi terjadinya kelangkaan BBM, sehingga kebutuhan akan bahan bakar dapat terpenuhi. Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar nabati yang dapat dijadikan alternatif pengganti BBM.

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) adalah alkohol yang dibuat dari bahan baku yang bersifat dapat diperbarui. Bioetanol adalah cairan biokimia dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Bioetanol merupakan sebuah bahan bakar alternatif yang diolah dari tumbuhan dengan cara fermentasi, dimana memiliki keunggulan mampu menurunkan emisi  $CO_2$  hingga 18% [3]. Bioetanol yang diproduksi dari biomassa (tumbuhan penghasil energi) melalui proses fermentasi merupakan bentuk energi biomassa dengan potensi yang sangat baik untuk mendukung keberlanjutan energi karena kualitas pembakarannya yang baik dan dapat diproduksi terus-menerus [4]. Bioetanol diproduksi dari tanaman-tanaman yang mengandung gula didalamnya seperti tebu, jagung, singkong, hingga limbah kulit melon. Dari berbagai jenis tanaman yang telah disebutkan, salah satu tanaman yang mengandung gula didalamnya dan mampu dikonversi menjadi bioetanol adalah tanaman sorgum manis (*Sorghum bicolor (L.) Moench*) [5].

Sorgum memiliki kandungan gula yang cukup tinggi baik itu glukosa 20%, fruktosa 10%, dan sukrosa 70% yang mampu dikonversi melalui proses fermentasi menjadi bioetanol [6]. Berdasarkan kandungan total gula yang cukup tinggi tersebut, maka pertanian sorgum berupa batang sorgum adalah salah satu potensi sumber bioetanol yang menjanjikan [7]. Akumulasi kandungan gula yang terkandung dalam sorgum ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu panen, waktu tanam, dan varietas [8].

Produksi etanol dengan bahan dasar lignoselulosa dilakukan melalui proses hidrolisis dan fermentasi. Pada proses hidrolisis secara kimiawi atau secara enzimatik terjadi pemecahan selulosa menjadi unit-unit glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida [9]. Salah satu mikroorganisme utama yang dapat memproduksi enzim selulase adalah jamur berfilamen seperti *Trichoderma reesei* [10]. *Trichoderma reesei* menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis selulosa yang ada di dalam batang sorgum manis menjadi glukosa. Proses hidrolisis dilakukan dengan tujuan untuk memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida pada selulosa, menghilangkan kandungan lignin dan hemiselulosa, merusak struktur kristal dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan [11]. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa juga akan terurai menjadi senyawa gula sederhana: glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa. Selanjutnya senyawa-senyawa gula sederhana tersebut akan difermentasi oleh mikroorganisme untuk menghasilkan etanol [12]. Proses hidrolisis suatu enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu waktu hidrolisis dan konsentrasi substrat. Waktu memiliki pengaruh terhadap hidrolisis sebab semakin lama interaksi antara enzim dengan substrat menyebabkan semakin banyak glukosa yang dihasilkan. Kondisi optimum yang dibutuhkan oleh *Trichoderma reesei* untuk bertumbuh berbeda dengan produksi enzim. Selama fase pertumbuhan, terjadi akumulasi massa sel mencapai konsentrasi optimum, produksi enzim baru dimulai. Suhu dan pH yang optimum pada kedua fase ini juga berbeda yakni untuk pertumbuhan adalah 31-35 °C dan pada pH 4 sedangkan untuk produksi enzim 26-28 °C dengan pH 3 [13]. Kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar [14]. Keadaan ini telah diterangkan oleh Michaelis-Menten dengan hipotesis mereka tentang terjadinya kompleks enzim-substrat. Kompleks enzim-substrat dapat diperoleh dengan adanya kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada sisi aktif enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim hanya akan menampung substrat sedikit. Apabila konsentrasi substrat diperbesar, maka makin banyak substrat yang akan bergabung dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Dengan demikian, konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar. Hal ini menyebabkan besarnya kecepatan reaksi.

Sejauh ini penelitian yang berkaitan dengan hidrolisis telah dilakukan dengan membuat bioetanol dari batang sorgum menggunakan kombinasi kapang *T. Viridie* dan *A. Niger* pada proses hidrolisis dengan variasi waktu (24, 48, 72) jam dan konsentrasi substrat 50 gram (10%) [15]. Pada penelitian ini penulis menggunakan ekstrak kasar enzim selulase *Trichoderma reesei* pada proses hidrolisis bubur batang sorgum manis dengan variasi waktu dan konsentrasi substrat yang telah ditentukan.

## METODE

### Alat

alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu pisau, blender, kertas saring, bunsen, kawat ose, spektrofotometer UV-Vis, lemari pendingin, inkubator, sentrifuge, *laminar air flow*, neraca analitik, *autoclave*, pipet tetes, tabung reaksi, botol kaca dan peralatan gelas (gelas kimia dan erlenmeyer).

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang sorgum, aquadest, *Trichoderma reesei*,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , NaOH,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , PDA, larutan CMC (*carboxy methyl cellulose*) 1%, reagen DNS (*dinitro salisilic acid*), Na-K tartrat, Na-metabisulfit, buffer sitrat, glukosa p.a dan fenol.

### Prosedur Kerja

#### a. Persiapan bahan baku

Pembuatan bubur batang sorgum manis (BBSM) dilakukan dengan mengambil batang sorgum manis yang siap panen lalu dibersihkan. Batang sorgum manis kemudian dipotong kecil-kecil agar mempermudah proses blender menjadi bubur. Hasil blender dikeluarkan dan dimasukkan kedalam wadah.

#### b. Peremajaan jamur *Trichoderma reesei*

Isolat *Trichoderma reesei* diambil dengan menggunakan kawat ose yang dipijarkan, lalu ditanam pada media PDA dengan cara zig zag dalam kondisi aseptis. Isolat jamur kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3 hari.

#### c. Produksi ekstrak kasar enzim selulase

Untuk memproduksi ekstrak kasar enzim selulase, biakan jamur yang telah diremajakan ditanam pada larutan nutrisi. Larutan nutrisi dibuat dengan mencampurkan larutan buffer sitrat pH 5 50 mL dengan 2,0 gram urea, 2 gram  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,075 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,075 gram  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,05 gram  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 5 ml larutan CMC 1%, lalu ditambahkan 45 mL aquades hingga mencapai 100 mL kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 25 gram bubur batang sorgum yang telah diblender dan digojok hingga homogen. Larutan yang telah dibuat disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan kontaminan yang dapat mengganggu pertumbuhan jamur dan juga dapat merusak substrat. Biakan *T.reesei* diambil pada media agar miring dengan cara menggoreskan jarum ose yang telah dipanaskan pada permukaan media agar miring. Kemudian jarum ose yang berisi biakan *T.reesei* dipindahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan nutrisi. Selanjutnya erlenmeyer ditutup rapat menggunakan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Hasil biakan jamur *T.reesei* yang telah jadi selanjutnya disaring kemudian disentrifugasi selama 10 menit untuk memisahkan sel-sel mikroorganisme yang mengendap dan supernatan yang merupakan cairan yang berisi enzim.

#### d. Uji aktivitas enzim

Supernatan yang didapat dari proses sentrifugasi diuji aktivitas enzim selulasenya dengan mencampurkan sebanyak 1 mL CMC 1% dengan 0,8 mL buffer sitrat pH 5 lalu ditambahkan dengan 1 mL supernatan ke dalam tabung reaksi. Sampel diinkubasi pada suhu 35 °C selama 10 menit. Setelah diinkubasi sampel kemudian ditambahkan reagen DNS ke dalam tabung reaksi. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 550 nm dengan spektrofotometer uv-vis. Nilai aktivitas selulase dapat dihitung dengan persamaan berikut [16].

$$AE = \text{Konsentrasi glukosa sampel} \times \frac{1000}{V \times t \times BM}$$

Dimana :

$$\text{Konsentrasi sampel} = ((A_s - A_b) - (A_k - A_b))$$

AE =Aktivitas enzim (Unit/mL)

As =Absorbansi sampel

Ab = Absorbansi blanko

Ak = Absorbansi kontrol

V =Volume enzim

BM =Berat Molekul glukosa (180 gram/mol)

t =Waktu inkubasi (menit)

Untuk menentukan aktivitas spesifik enzim selulase dihitung berdasarkan rumus berikut

$$[17]. \text{Aktivitas spesifik} = \frac{\text{aktivitas selulase}}{\text{konsentrasi protein}}$$

**e. Hidrolisis**

Hidrolisis dilakukan dengan variasi konsentrasi substrat bubur batang sorgum manis (BBSM) yaitu (6, 14, 22, 30)% b/v. Variasi dari masing-masing konsentrasi substrat di timbang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan dengan 5 mL ekstrak kasar enzim selulase lalu diaduk hingga homogen. Campuran selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator kemudian mengatur suhunya hingga 35 °C untuk dilakukan proses hidrolisis dengan variasi waktu (0, 6, 12, 18, 24) jam. Setelah dihidrolisis campuran diletakan pada freezer untuk didinginkan. Selanjutnya mengambil 5 ml larutan untuk menguji kandungan glukosanya dengan metode DNS.

**f. Pengukuran Kadar Gula Reduksi**

Untuk mengukur kadar gula reduksi dilakukan menggunakan metode DNS. Dilarutkan 1,06 gram asam 3,5-dinitrosalisilat dan 1,98 gram NaOH dalam 141,6 mL aquades. Setelah itu ditambahkan 30,6 gram Na-K-Tartrat, 0,76 gram fenol yang dicairkan pada suhu 50 °C dan 0,83 gram natrium metabisulfit. Larutan ini dihomogenkan dengan diaduk rata. Untuk membuat kurva standar, dibuat larutan glukosa dengan melarutkan 1000 mg glukosa monohidrat dalam 1000 mL aquades, selanjutnya dari larutan tersebut diencerkan sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 350, 300, 250, 200, 150 dan 100 ppm (Rismawati et al., 2016). Sebelum sampel dianalisis, diambil 5 mL sampel dan ditambahkan dengan 3 mL pereaksi DNS kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih (sekitar 90 °C) selama 5 menit lalu didinginkan pada suhu ruang. Larutan dipindahkan ke dalam kuvet yang telah dicuci dengan aquades dan dikeringkan, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 550 nm.

**g. Analisis Data**

Untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata, pengaruh perlakuan yang diberikan serta pengaruh keterkaitan antar variabel terhadap konsentrasi gula reduksi, data yang dihasilkan dianalisis menggunakan ANOVA dua arah dengan taraf signifikansi 0,05 (95%).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pengukuran kadar gula reduksi dimulai dengan mencampur bubur batang sorgum manis (BBSM) dengan ekstrak kasar enzim selulase *Trichoderma reesei* dengan variasi konsentrasi substrat (6, 14, 22, 30)% b/v yang dihidrolisis dengan waktu 0, 6, 12, 18 dan 24 jam. Hasil hidrolisis kemudian diukur dengan spektrofotometer uv-vis. Data hasil analisis konsentrasi gula reduksi BBSM setelah hidrolisis pada waktu dan konsentrasi substrat bervariasi tergambar dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis konsentrasi gula reduksi BBSM setelah hidrolisis pada waktu dan konsentrasi substrat bervariasi

Waktu (Jam)	Konsentrasi substrat (%b/v)			
	6%	14%	22%	30%
0	0,47553	0,56003	0,67111	0,93757
6	0,52357	0,66771	0,70825	1,14138
12	0,67350	0,80605	0,95256	1,25684
18	0,81218	0,97743	1,15121	1,35293
24	0,73589	0,82138	0,98596	0,99107

Dari tabel 1. dapat dilihat bahwa waktu hidrolisis memiliki pengaruh terhadap konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Hidrolisis awal dimulai dari waktu 6 jam dengan hasil konsentrasi gula

reduksi yang menunjukkan adanya peningkatan kadar gula sebelum hidrolisis dan setelah dimulainya hidrolisis. Peningkatan konsentrasi gula reduksi terus mengalami peningkatan hingga waktu 18 jam dengan konsentrasi substrat 30% b/v yang mana merupakan perlakuan yang mendapatkan konsentrasi gula tertinggi yaitu sebesar 1,3529%. Peningkatan kadar gula terjadi disebabkan oleh adanya reaksi hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh ekstrak kasar enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei*. Tiga komponen enzim selulase yang berperan dalam perombakan selulosa menjadi glukosa endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Endoglukanase berperan untuk memutuskan ikatan selulosa secara random dengan memulai serangan acak pada sisi internal daerah amorf dari serat selulosa sehingga sisi yang terbuka dapat diserang oleh eksoglukanase. Kemudian kerja dari eksoglukanase yaitu memotong ujung-ujung rantai selulosa. Eksoglukanase menyerang bagian luar dari selulosa sehingga dihasilkan selobiosa sebagai struktur utamanya. Selanjutnya  $\beta$ -glukosidase berfungsi memotong selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa. Kadar gula mulai meningkat pada proses hidrolisis dari rentang waktu 6 jam, 12 jam hingga 18 jam. Hal ini dikarenakan reaksi antara enzim dengan substrat yang cocok menyebabkan kinerja enzim juga optimal. Waktu kontak antara enzim dengan substrat juga menentukan efektivitas kerja enzim, sehingga semakin lama waktu reaksi maka kerja enzim juga akan semakin optimum. Namun pada waktu tertentu, kadar gula mengalami penurunan dikarenakan semakin lama waktu hidrolisis jumlah substrat akan semakin berkurang karena telah banyak yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan cenderung menurun. Kandungan gula reduksi pada bahan mengalami penurunan setelah dihidrolisis selama 24 jam dengan kandungan gula reduksi paling rendah pada konsentrasi substrat 6% b/v yaitu sebesar 0,7358%. Fenomena ini dikarenakan pada proses awal hidrolisis, enzim selulase menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xilosa mencapai hasil maksimal pada jam ke-18 kemudian konsentrasi gula reduksi pada hidrolisis 24 jam mengalami penurunan. Produk dari hasil hidrolisis dapat menjadi inhibitor bagi aktivitas enzim selulase [18]. Hal ini didasarkan pada teori bahwa jamur atau cendawan sebagai organisme heterotrof menggunakan sumber karbon dari bahan-bahan organik misalnya glukosa untuk pertumbuhannya [10]. Penurunan aktivitas enzim menunjukkan bahwa terjadi perubahan konformasi enzim dengan substrat sehingga ikatan antara keduanya semakin melemah [19]. Penurunan hasil kandungan gula reduksi juga disebabkan oleh interaksi antara enzim dan konsentrasi substrat yang semakin lama menyebabkan terjadinya akumulasi produk yang terbentuk sebelumnya dan menyebabkan penghambatan bagi enzim yang bekerja [20].

Selain waktu hidrolisis, kadar gula reduksi yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Dari tabel 1. kadar gula meningkat dari setiap variasi konsentrasi substrat (6, 14, 22, 30)% b/v pada waktu 0-18 jam dengan nilai tertinggi sebesar 1,35293% pada konsentrasi substrat 30% b/v dan mengalami penurunan pada waktu 24 jam. Penurunan kadar gula reduksi terjadi karena hampir semua enzim telah membentuk kompleks enzim-substrat, sehingga tidak ada lagi sisi aktif enzim yang bebas. Saat sisi aktif pada enzim mulai berikatan dengan substrat maka kecepatan maksimum reaksi akan tercapai. Namun setelah penambahan substrat berikutnya tidak akan mempengaruhi tingkat reaksi. Hal ini disebabkan oleh seluruh sisi aktif enzim telah jenuh atau telah dipakai oleh substrat [21]. Fenomena tersebut juga didukung oleh teori Michaelis-Menten dengan hipotesis mereka tentang terjadinya kompleks enzim-substrat dimana peningkatan dan penurunan kadar gula yang dihasilkan disebabkan kontak antara enzim dengan substrat. Konsentrasi substrat 6% b/v dan 14% b/v mengalami peningkatan kadar gula yang paling sedikit dari konsentrasi substrat 22% b/v dan 30% b/v yang mengalami peningkatan kadar gula cukup tinggi. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim hanya akan menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, maka makin banyak substrat yang akan bergabung pada sisi aktif enzim sehingga konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar serta menyebabkan besarnya kecepatan reaksi dan kadar gula yang dihasilkanpun semakin banyak. Konsentrasi substrat (6, 14, 22 dan 30)% b/v selalu mengalami peningkatan kadar gula sampai hidrolisis 18 jam karena konsentrasi substrat berpengaruh terhadap kontak enzim-substrat. Enzim memiliki spesifitas yang

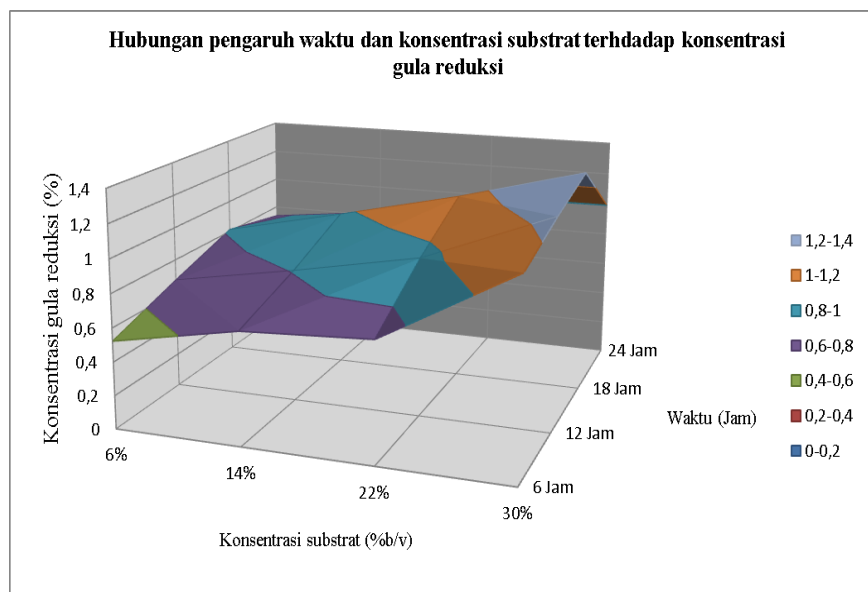
tinggi yang mana apabila substrat cocok dengan enzim, maka kinerja enzim juga optimal [22]. Kadar gula yang dihasilkan pada proses hidrolisis belum mencapai konsentrasi substrat optimum. Hal ini dikarenakan kadar gula dari masing-masing konsentrasi substrat mulai menurun pada waktu hidrolisis 24 jam. Menurunnya kadar gula tersebut mengindikasikan bahwa kecepatan reaksi pada hidrolisis berlangsung lambat karena kandungan gula pada substrat sudah sedikit karena lamanya proses hidrolisis.

Tabel 2. ANOVA Tests of Between-Subjects Effects  
Dependent Variable: Konsentrasi gula reduksi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1.614 <sup>a</sup>	15	.108	386.497	.000	.997
Intercept	26.410	1	26.410	94861.717	.000	1.000
Waktu_Hidrolisis	.398	3	.133	477.011	.000	.989
Konsentrasi_Substrat	1.085	3	.362	1299.124	.000	.996
Waktu_Hidrolisis * Konsentrasi_Substrat	.131	9	.015	52.117	.000	.967
Error	.004	16	.000			
Total	28.029	32				
Corrected Total	1.619	31				

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

Berdasarkan tabel 2. diketahui bahwa nilai F hitung dan nilai partial eta square untuk faktor konsentrasi substrat lebih dominan dibandingkan faktor waktu hidrolisis terhadap kadar gula reduksi yang dihasilkan.



Gambar 1. Hubungan antara pengaruh waktu dan konsentrasi substrat terhadap konsentrasi gula reduksi

Kurva pada gambar 1. menunjukkan bahwa konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu hidrolisis dan konsentrasi substrat. Konsentrasi gula reduksi selalu meningkat dari hidrolisis 6 jam, 12 jam sampai 18 jam dengan nilai tertinggi dihasilkan pada waktu hidrolisis 18 jam dengan konsentrasi substrat 30% b/v namun mengalami penurunan pada waktu hidrolisis 24 jam. Hal ini dikarenakan jumlah substrat pada awal hidrolisis masih cukup banyak sehingga dengan semakin lamanya waktu hidrolisis, kadar gula yang dihasilkan juga meningkat. Selain itu juga dapat disebabkan sumber nutrisi masih banyak tersedia sehingga memungkinkan terjadi peningkatan kadar gula pada waktu tertentu. Namun pada waktu tertentu akan mengalami penurunan kadar gula dikarenakan semakin lama waktu hidrolisis jumlah substrat akan semakin berkurang karena telah banyak yang terhidrolisis sehingga kadar gula yang dihasilkan cenderung menurun. Penurunan hasil kadar gula pada waktu 24 jam juga mengindikasikan bahwa laju hidrolisis substrat berlangsung lambat disebabkan oleh interaksi antara enzim dan konsentrasi substrat yang semakin lama menyebabkan terjadinya akumulasi produk yang terbentuk sebelumnya dan menyebabkan penghambatan bagi enzim yang bekerja.

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka kadar glukosa yang dihasilkan juga meningkat. Waktu optimum hidrolisis yang menghasilkan kadar glukosa tertinggi yaitu 18 jam. Dalam rentang variasi yang digunakan dalam penelitian ini, makin tinggi konsentrasi substrat maka konsentrasi glukosa semakin meningkat.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- [1] B. Narindri, N.M. Cahyato, R. Millati, Produksi Bioetanol Daun Sorghum (*Sorghum bicolor* L.Moench), *J. Biota*. 1 (2016) 44–50. <https://doi.org/10.24002/biota.v1i1.712>.
- [2] F. Assegraf, Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa paradisiacal*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatis, Universitas Jendral Soedirman, 2009.
- [3] A.F. Fauzi, Pemanfaatan buah pepaya (*carica papaya* l.) sebagai bahan baku bioetanol dengan proses fermentasi dan distilasi, Program Diploma, Fakultas Teknik., 2011.
- [4] S. Kim, B.E. Dale, Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues, *Biomass and Bioenergy*. 26 (2004) 361–375.
- [5] T. Nurmala, *Serealia Sumber Karbohidrat Utama*, Rineka Cipta Obor Indonesia, Jakarta, 2003.
- [6] S. Prasad, A. Singh, H.C. Joshi, Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India, *Energy and Fuels*. 21 (2007) 2415–2420. <https://doi.org/10.1021/ef060328z>.
- [7] M. Pabendon, M. Aqil, S. Masud, *Kajian Sumber Bahan Bakar Nabati Berbasis Sorgum Manis*, Balai Penelitian Tanaman Serelia, Sulawesi Selatan, 2012.
- [8] V.H. Teetor, D. V Duclos, E.T. Wittenberg, K.M. Young, J. Chawhuaymak, M.R. Riley, Effects of planting date on sugar and ethanol yield of sweet sorghum grown in Arizona, *Elsevier*. 34 (2010) 1293–1300.
- [9] N.N.K. Asih, P. Suarya, I.B.P. Manuaba, I.N. Wirajana, Hidrolisis Batang Jagung Secara Enzimatis dari Tanah Hutan Mangrove, *Cakra Kim. (Indonesian E-Journal Appl. Chem.* 6 (2018) 106–115.
- [10] M. Pelczar, E.C. Chain, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, UI-Press, Jakarta, 2005.
- [11] Y. Sun, J. Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review, *Bioresour. Technol.* 83 (2002) 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7).
- [12] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.* 96 (2005) 673–686. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>.
- [13] T.M. Pakula, K. Salonen, J. Uusitalo, M. Penttilä, The effect of specific growth rate on protein synthesis and secretion in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*, *Microbiology*.

- 151 (2005) 135–143. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27458-0>.
- [14] R. Irawati, Karakterisasi Ph, Suhu Dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim Selulase Kasar Yang Diproduksi Oleh *Bacillus Circulans*, *J. Chem. Inf. Model.* 53 (2016) 1689–1699.
- [15] A.M. Kartini, E.S. Pandebesie, Produksi Bioetanol dari Batang *Sorghum bicolor* (L .) Moench dengan *Saccharomyces cerevisiae* dan Konsorsium *S. cerevisiae* - *Pichia stipitis*, *J. Purifikasi.* 16 (2016) 118–129.
- [16] H. Kombong, Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur *Aspergillus niger*, *J. Ilmu Dasar.* 5 (2004) 16–20.
- [17] P. Cahyani, Wijanarka, B. Raharjo, Aktivitas Spesifik Selulase *Serratia marcescens* dengan Variasi Konsentrasi Amonium Sulfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dan pH, *J. Biol.* 6 (2017) 41–49.
- [18] N. Idiawati, Produksi Enzim Selulase oleh *Asepergilus Niger* pada Ampas Sagu, *Natur Indones.* 16 (2014) 1–9.
- [19] A.. Lehninger, *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*, Erlangga, Jakarta, 2010.
- [20] N. Azzahra, A. Amri, S.P. Utami, *Hidrolisis Mikroalga Tetraselmis Chuii Menjadi Glukosa Menggunakan Enzim Selulase*, 2 (2015).
- [21] D.. Nelson, M.. Cox, *Principles of Biochemistry*, Worth Publisher, New York, 2005.
- [22] P. Aziz, *Enzim dan Fakto-Faktor Yang Mempengaruhi Laju Reaksi Enzim*, *Addit. Mater. FIK Biochem. Exp. Cl.* (2012).