



**PRODUKSI SECARA ENZIMATIS HIDROLISAT KULIT KOPI
ARABIKA (*Coffea arabica*) PASCA DELIGNIFIKASI**

SKRIPSI

Oleh
Nafiul Amri

**TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PRODUKSI SECARA ENZIMATIS HIDROLISAT KULIT KOPI
ARABIKA (*Coffea arabica*) PASCA DELIGNIFIKASI**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Nafiul Amri

DPU : Ir. Wiwik Siti Windrati M.P.

DPA : Noor Ariefandie F M.Sc,

**TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Puji Syukur patut saya ucapkan karena berkat Izin Allah SWT Skripsi ini akhirnya selesai disusun. Karya ini saya persembahkan kepada :

1. Bapak Erfan dan Ibu Rahmati yang rela merawat dan membesarkan,serta memberikan perhatian yang sungguh tak dapat dibalas karena tak ternilai harganya. Semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmatNya untuk kedua orangtua saya.
2. Nazarudin Afri. Adik saya yang selalu menemani dan menjadi anak yang berbakti kepada kedua orang tua
3. Sesepeuh Keluarga Alm Hasan Syafi'i, Alm KH Anwar, KH Akhyar dan segenap keluarga KH Bani Ishaq
4. Segenap guru TK Dharma Wanita, SDN Tegal Besar 05, SMPN 08 Jember, dan SMAN 5 Jember, dosen FTP UNEJ yang telah memberikan pengajaran berharga
5. Guru ngaji, para alim ulama, kiyai yang telah mengajarkan ilmu kehidupan
6. Rekan-rekan HIMAGIHASTA, terimakasih telah memberi ilmu yang bermanfaat.

MOTTO

“Bila engkau tak tahan lelahnya belajar, maka engkau harus menahan perihnya Kebodohan”

(Imam Asy Syafi’i)

“Orang boleh salah, agar dengan demikian ia berpeluang menemukan kebenaran dengan proses autentiknya sendiri”

(Emha Anun Najib)

“Bila kaum muda yang telah belajar di sekolah menganggap dirinya terlalu tinggi dan pintar untuk melebur dengan masyarakat yang bekerja dengan cangkul dan hanya memiliki cita-cita sederhana, maka lebih baik pendidikan itu tidak diberikan sama sekali”

(Tan Malaka)

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nafiul Amri

Nim : 111710101016

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Produksi secara Enzimatis Hidrolisat Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Pasca Delignifikasi” adalah benar-benar hasil karya sendiri dan didanai oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia dan berdasarkan arahan dosen pembimbing utama (DPU) dan dosen pembimbing anggota (DPA), kecuali dalam kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar

Jember, 16 Mei 2016

Yang menyatakan,

Nafiul Amri

Nim 111710101030

SKRIPSI

**PRODUKSI SECARA ENZIMATIS HIDROLISAT KULIT KOPI
ARABIKA (*Coffea arabica*) PASCA DELIGNIFIKASI**

Oleh

Nafiul Amri
NIM 111710101030

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Wiwik Siti Windrati M.P
Dosen Pembimbing Anggota : Noor Ariefandie Febrianto, MSc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul Produk Hidrolisat secara Enzimatis Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Pasca Delignifikasi

Telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

pada :

Hari/tanggal : Senin / 16 Mei 2016

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

(Ir. Wiwik Siti Windrati M.P)

(Noor Ariefandie Febrianto, MSc)

NIP 19641109199021002

NIK 111000567

Tim Penguji

Ketua

Anggota

Dr. Ir Jayus

Andrew Setiawan S.TP., M.Si

NIP. 196805161992031004

NIP. 11111

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember,

(Dr. Yuli Witono, S.TP, M.P.)

NIP. 196912121998021001

Produksi secara Enzimatis Hidrolisat Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Pasca Delignifikasi; disusun oleh Nafiul Amri, 111710101030; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dengan Dosen Pembimbing Utama (DPU) Ir. Wiwik Siti Windrati M.P dan Dosen Pembimbing Anggota (DPA) Noor Ariefandie Febrianto, MSc

RINGKASAN

Kulit kopi mengandung biomassa lignoselulosa diantaranya hemiselulosa, lignin, dan polimer selulosa. Komponen selulosa dan hemiselulosa jika dihidrolisis dapat menghasilkan glukosa sebagai hidrolisatnya. Glukosa dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produksi etanol. Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis kulit kopi ialah *acid selulase*. Enzim acid selulase mampu memotong rantai panjang selulosa pada ikatan β -glukosidase serta memiliki sifat endo-selulase dan ekso-selulase. Waktu dan enzim merupakan faktor penting dalam hidrolisis, permasalahan yang muncul pada penelitian ini belum diketahui unit enzim yang digunakan dan lama hidrolisis untuk menghasilkan gula sederhana yang optimal. Tujuan penelitian ini mendapatkan unit enzim dan waktu yang tepat untuk menghidrolisis kulit kopi arabika sehingga menghasilkan gula sederhana yang optimal. Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat untuk Meningkatkan nilai guna limbah kulit kopi arabika sehingga mampu menghasilkan glukosa dan dapat digunakan sebagai bahan baku produksi etanol.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktorial, faktor A merupakan unit enzim yang digunakan (200 unit, 400 unit dan 800 unit) sedangkan faktor B adalah lama hidrolisis (24 jam dan 12 jam). Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya kulit kopi arabika, enzim acid selulase, buffer sitrat, standard glukosa dan standard fruktosa. Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya shaker waterbatch, spektrofotometer dan LCMS. Sampel hidrolisat di analisa kadar total gula, gula pereduksi, derajat polimerisasi dan identifikasi gula menggunakan LCMS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi perlakuan unit enzim dengan lama hidrolisis tidak berpengaruh nyata terhadap nilai total gula pada taraf 5%. Interaksi perlakuan unit enzim dengan lama hidrolisis berpengaruh nyata terhadap nilai gula pereduksi dan derajat polimerisasi pada taraf 5%. perlakuan optimum dalam penelitian ini adalah unit enzim 800 dan waktu hidrolisis 24 jam mampu menghasilkan total gula sebesar 0,584 mg/ml, gula pereduksi 0,114 mg/ml dan derajat polimerisasi 5,15. Identifikasi gula menggunakan LCMS pada perlakuan unit enzim 800 dan waktu hidrolisis 24 jam menghasilkan glukosa sebesar 36,1 ppm (0,0361 mg/ml) dan fruktosa sebesar 17,9 ppm (0,0179 mg/ml).

Kata kunci : Kulit kopi, acid selulase, total gula, gula pereduksi, derajat polimerisasi

SUMMARY

The productivity of Arabica coffee in Indonesia reaches 920 kg/ha at 2012 and 890 kg/ha at 2013. Coffee peel contains lignocellulose biomass such as hemicellulose, lignin, and cellulose polymer. Cellulose and hemicelluloses can be hydrolyzed to produce hydrolysate such as oligomer and sugar dimer. Acid cellulase is used to hydrolyse the coffee peel. During the coffee peel hydrolysis, it is still unknown the amount of enzyme used and the hydrolysis time limit to produce maximal amount of total sugar and reducing sugar. The aim of this research is knowing the enzyme and periode of hydrolysis time limit to hydrolyse arabica coffee peel to obtain optimum total sugar and reducing sugar. This research can be used to give the knowledge to gain the value of arabica coffee peel as an alternative to produce sugar hydrolysate..

This research uses Completely Randomized Design (CRD/RAL) with 2 factorial, A as enzyme unit used (200 unit, 400 unit, and 800 unit), B as the periode of hydrolysis (24 hours and 12 hours). Sampel is analyzed the amount of sugar total, reducing sugar, polymerization degree, and identification of sugar by LCMS. Materials used in this research is Arabica coffee peel, enzyme cellulase acid, citrate buffer, standard glucose and fructose standard. The tools used in the research is Shaker waterbatch, spectrophotometers and LCMS

The result of this research shows that enzyme unit and periode of hydrolysis are not obviously affecting the amount of sugar total gula at degree level 5%, while the amount of reducing sugar is obviously affecting the polymerization degree. The interaction of enzymes and hydrolysis time real impact on reducing sugar value and the degree of polymerization at the level of 5%. The optimum factorial combination on this research is A3B1 which produce sugar total 0,584 mg/ml, reducing sugar 0,114 and polymerization 5,15. The identification of sugar at sampel A3B1 produces glucose 36,1 ppm and fructose 17,9 ppm.

Keywords : coffee peel, acid cellulase, sugar total, reducing sugar, polymerization degree

PRAKATA

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah Swt. Karena segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, “Produksi Hidrolisat Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Secara Enzimatis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

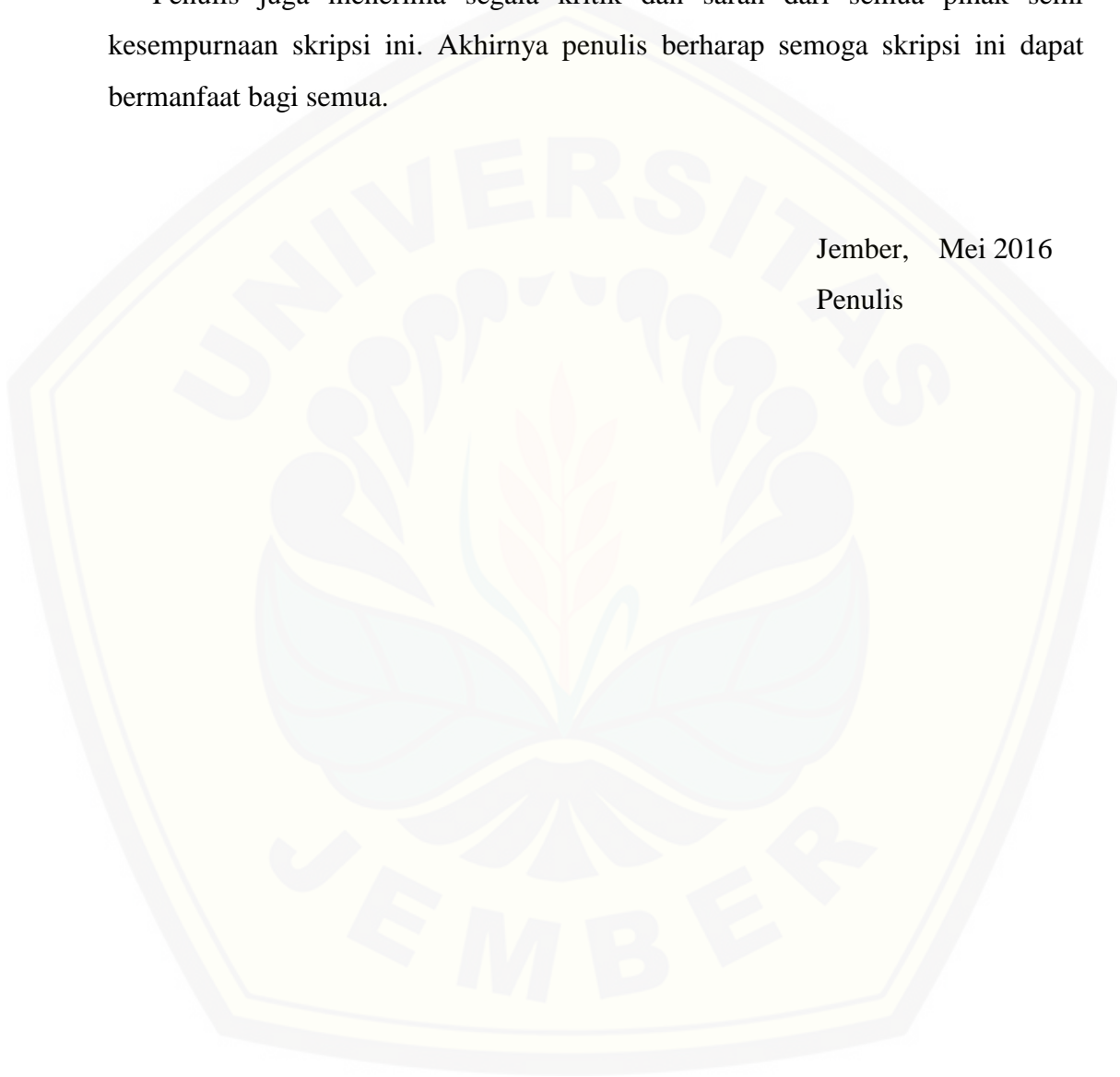
Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT, dengan segala RahmatNya dan HidayahNya skripsi ini dapat diselesaikan
2. Kedua orang tua yang senantiasa memberikan doa, semangat, perhatian, dan pengorbanannya;
3. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
4. Dr. Misnawi, Selaku Direktur Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia
5. Ir Wiwik Siti Windrati MP., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam membimbing penulisan skripsi ini;
6. Noor Ariefandie Febrianto, MSc. Selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak memberikan arahan, perhatian, dan perbaikan dalam penyusunan skripsi ini;
7. Teman-teman seperjuangan penelitian di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Khalimatus Sa’diyah dan Radhiyyan Pratiwi;
8. Segenap Peneliti dan Teknisi Laboratorium Pasca Panen Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia yang telah banyak membantu penulis selama melaksanakan penelitian;
9. Segenap dosen dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian;

10. Teman-teman Teknologi Hasil Pertanian Angkatan 2011 dan pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian karya ilmiah ini;
11. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember,
Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua.

Jember, Mei 2016

Penulis



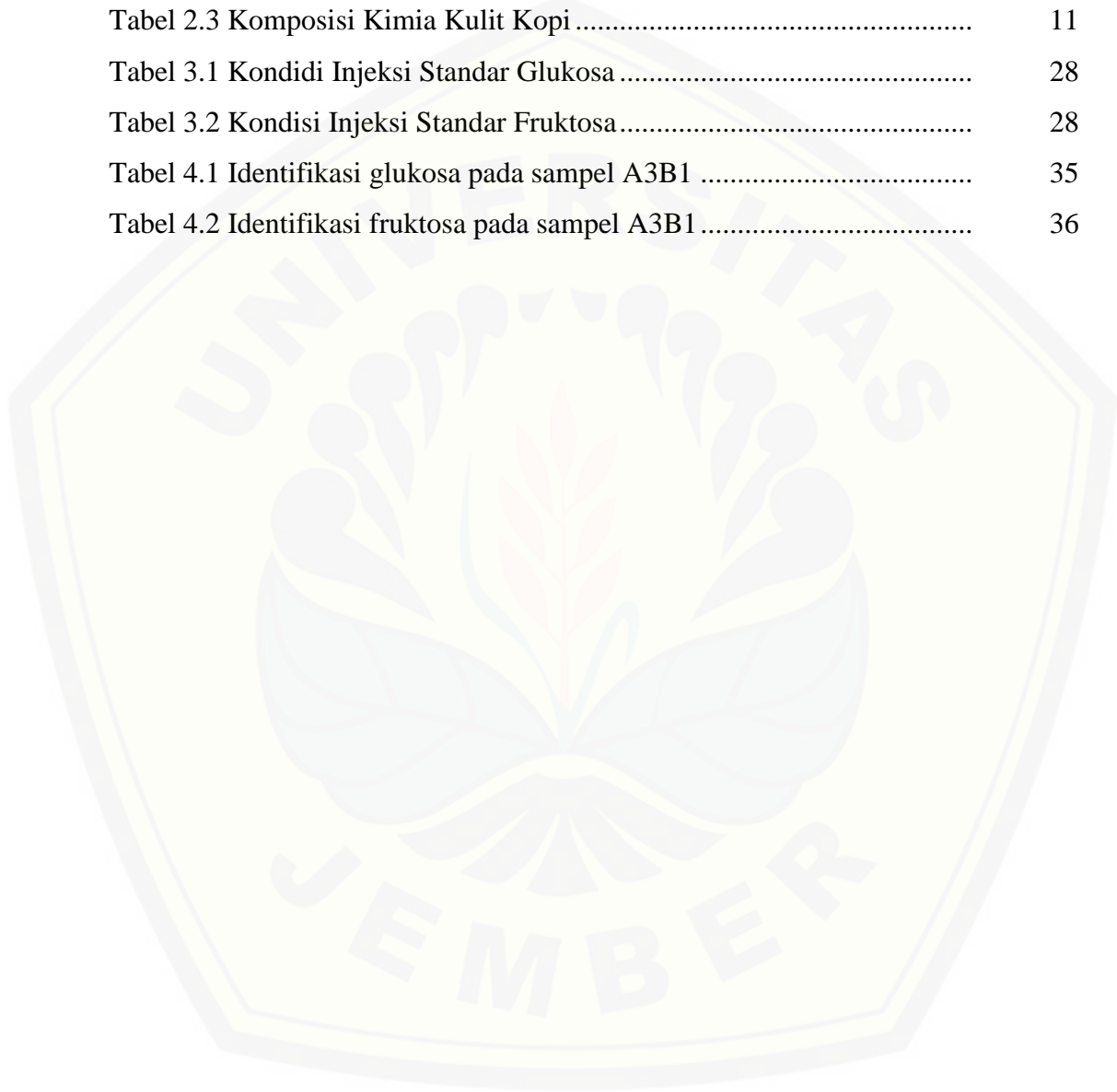
DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan Permasalahan	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Kopi	4
2.1.1 Data Produksi Kopi Arabika dan Robusta.....	4
2.1.2 Karakteristik Buah Kopi.....	4
2.2 Limbah Pengolahan Biji Kopi	5
2.2.1 Estimasi Limbah Kulit Kopi	6
2.2.2 Komposisi Kulit Kopi.....	6
2.2.3 Lignoselulosa	7
2.3 Hidrolisis	10
2.3.1 Hidrolisis Enzimatis.....	10
2.3.2 Enzim Selulase.....	11
2.3.3 Delignifikasi Menggunakan Alkali.....	12

2.4 Hidrolisat Polisakarida	13
2.4.1 Gula Pereduksi	13
2.4.2 Derajat Polimerisasi	15
2.4.3 Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer (LC-MS).....	15
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	16
3.2.1 Bahan Penelitian	16
3.2.2 Alat Penelitian	16
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Parameter Pengamatan	17
3.5 Tahapan Penelitian	17
3.5.1 Persiapan Bahan Baku	18
3.5.2 Delignifikasi Kulit Kopi	19
3.5.3 Hidrolisis Secara Enzimatis.....	19
3.6 Prosedur Analisis	22
3.6.1 Kadar Total Gula	22
3.6.2 Kadar Gula Pereduksi Metode DNS.....	22
3.6.3 Penentuan Derajat Polimerisasi	23
3.6.4 Identifikasi Gula Pereduksi Menggunakan LC-MS.....	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kadar Total gula	25
4.2 Kadar Gula Pereduksi	27
4.3 Derajat Polimerasi	29
4.4 Identifikasi Gula Pereduksi	31
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Kimia Kopi Arabika dan Robusta.....	5
Tabel 2.2 Komposisi Kimia Lendir Biji Kopi.....	10
Tabel 2.3 Komposisi Kimia Kulit Kopi	11
Tabel 3.1 Kondidi Injeksi Standar Glukosa	28
Tabel 3.2 Kondisi Injeksi Standar Fruktosa.....	28
Tabel 4.1 Identifikasi glukosa pada sampel A3B1	35
Tabel 4.2 Identifikasi fruktosa pada sampel A3B1	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Penampang Melintang Buah Kopi.....	7
Gambar 2.2 Struktur Kimia Glukosa.....	9
Gambar 2.3 Letak Lignin Pada Jaringan Tanaman	9
Gambar 2.4 Struktur Kimia Lignin	10
Gambar 2.5 Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis	12
Gambar 2.6 Lignoselulosa Setelah Mengalami Delignifikasi.....	14
Gambar 3.1 Diagram Alir Penghancuran Kulit Kopi Arabika.....	20
Gambar 3.2 Diagram Alir Delignifikasi Kulit Kopi Arabika.....	20
Gambar 3.3 Diagram Alir Hidrolisis Kulit Kopi.....	21
Gambar 4.1 Kadar Total Gula Hidrolisat Kulit Kopi Arabika Pada Berbagai Unit Enzim dan Lama Hidrolisis	26
Gambar 4.2 Kadar Gula Pereduksi Hidrolisat Kulit Kopi Arabika Pada Berbagai Unit Enzim dan Lama Hidrolisis	28
Gambar 4.3 Nilai Derajat Polimerisasi Hidrolisat Kulit Kopi Arabika Pada Berbagai Unit Enzim dan Lama Hidrolisis.....	29
Gambar 4.4 Kurva MS chromatogram glukosa hidrolisat kulit kopi Arabika	31
Gambar 4.5 Kurva MS chromatogram fruktosa hidrolisat kulit kopi Arabika	32

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 DATA ANALISA KADAR TOTAL GULA

LAMPIRAN 2 DATA ANALISA KADAR GULA PEREDUKSI

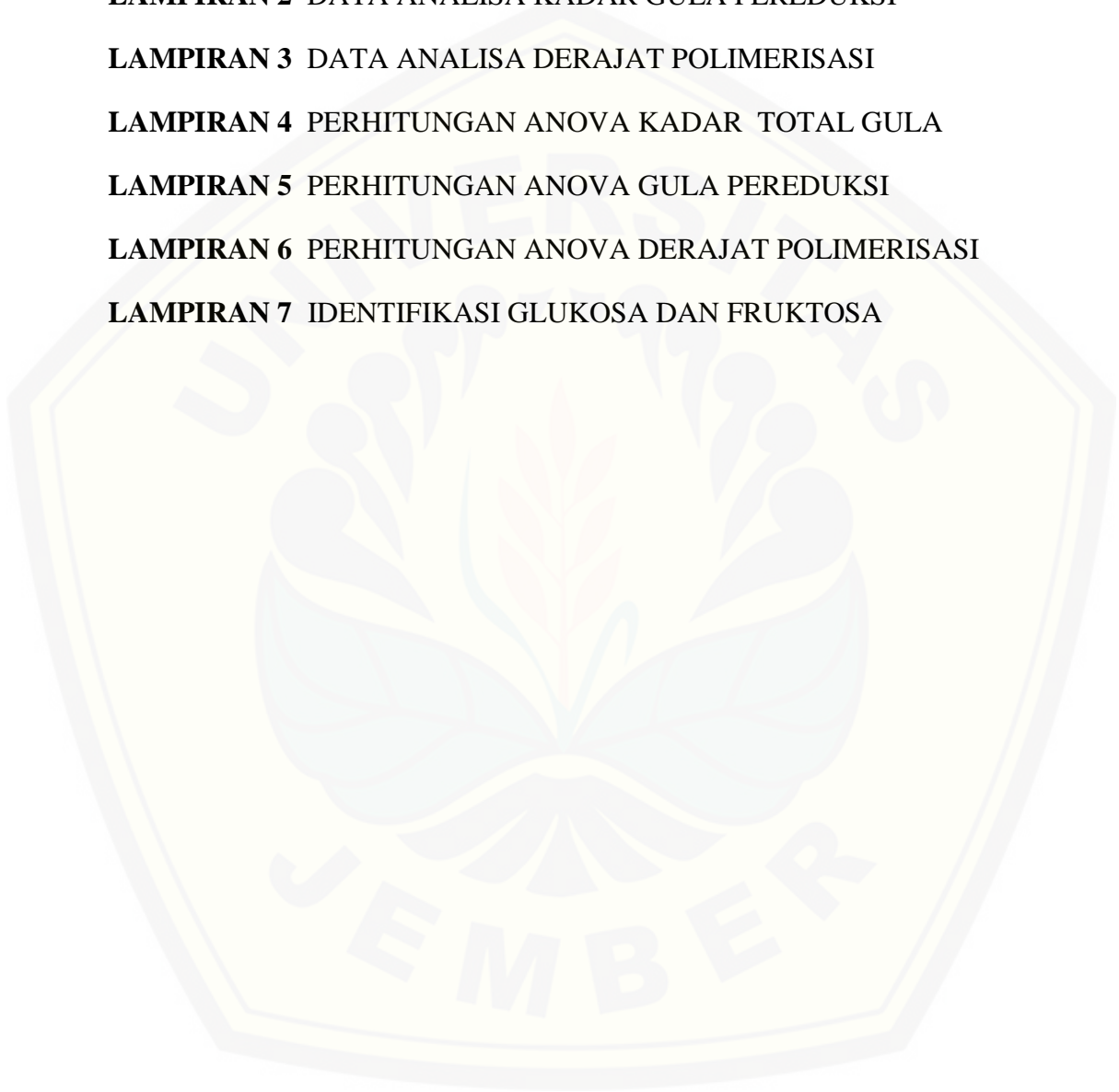
LAMPIRAN 3 DATA ANALISA DERAJAT POLIMERISASI

LAMPIRAN 4 PERHITUNGAN ANOVA KADAR TOTAL GULA

LAMPIRAN 5 PERHITUNGAN ANOVA GULA PEREDUKSI

LAMPIRAN 6 PERHITUNGAN ANOVA DERAJAT POLIMERISASI

LAMPIRAN 7 IDENTIFIKASI GLUKOSA DAN FRUKTOSA



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan penghasil kopi terbesar ketiga di dunia setelah Brazil dan Vietnam. Rata-rata produktivis kopi arabika di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 890 kg/ha (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2014). Pengolahan kopi arabika secara basah menghasilkan limbah salah satunya kulit kopi. Produktivitas kopi arabika tersebut akan menghasilkan kulit kopi yang cukup banyak. Kulit kopi yang dihasilkan sebesar 60 % dari bahan (Oliveria, 2012). Direktorat Jenderal Perkebunan (2015), menyebutkan bahwa Indonesia setiap tahunnya mampu menghasilkan biji kopi kering sekitar 179.947 ton dan limbah kulit kopi sebesar 215.936,4 ton.

Pengolahan biji kopi akan menyisakan kulit kopi berupa limbah padat (Herman, 2008). Penggunaan kulit kopi saat ini belum dimanfaatkan secara maksimal sehingga hanya menjadi limbah yang tidak bermanfaat dan menimbulkan pencemaran (Wu *et al.*, 2011 ; Richana, 2002). Kulit kopi mengandung biomassa lignoselulosa dan hemiselulosa yang sangat potensial dan dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan kertas, kompos serta bioetanol (Foyle *et al.*, 2007). Komponen selulosa dan hemiselulosa perlu di hidrolisis sehingga dapat menghasilkan oligomer dan dimer gula sebagai hidrolisatnya (Perez *et al.*, 2002), tetapi terdapat lignin pada kulit kopi yang harus dikurangi, karena bahan tersebut membungkus bagian selulosa dan sifatnya yang sulit dipecah selama hidrolisis sehingga perlu dilakukan degradasi komponen lignin terlebih dahulu menggunakan NaOH 0,1 M (Caecilia, 2015). Proses hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatik atau kimia. Hidrolisis kimia menggunakan asam akan menghasilkan limbah yang berbahaya dan berdampak negatif pada lingkungan.

Alternatif yang mampu menggantikan penggunaan asam untuk hidrolisis adalah enzim. Salah satu enzim yang mampu menghidrolisis komponen selulosa pada kulit kopi adalah enzim acid selulase. Enzim ini mampu memotong ikatan ikatan β -1,4 glikosida pada substrat selulosa, selodekstrin, selobiosa dan turunan

selulosa lainnya. Hidrolisis secara enzimatik memiliki perbedaan pada spesifikasi pemotongan rantai polisakarida dan hidrolisat yang dihasilkan dapat dikonsumsi oleh ternak maupun manusia (Piliang, 2006). Hidrolisis secara enzimatik pada biomassa berbasis dasar selulosa telah dilakukan diantaranya hidrolisis kulit kentang menggunakan enzim selulase 27 $\mu\text{l/g}$ dengan suhu 45° C selama 1 jam dengan pH 5 menghasilkan efisiensi hidrolisis hingga 30% (Lewandowicz *et al.*, 2012). Hidrolisis biji kopi menggunakan enzim selulase dengan suhu 30° C selama 3 hari dengan pH 4,5 menghasilkan gula pereduksi sebanyak 45 mg/ml (Hazirur, 2013). Penelitian mengenai hidrolisis selulosa secara enzimatik menggunakan enzim *acid selulase* juga telah dilakukan sebelumnya pada tandan kosong kelapa sawit (Caecilia, 2015). Enzim *acid selulase* memiliki kemampuan untuk memecah selulosa secara endoenzim, eksoenzim dan mampu menghidrolisis ikatan β -glukosidase pada komponen selulosa (Anonim, 2010).

1.2 Perumusan Masalah

Salah satu enzim yang sering digunakan dalam menghidrolisis komponen selulosa adalah enzim *acid selulase*. Enzim *acid selulase* mampu memotong ikatan β -1,4 glikosida pada substrat selulosa untuk menghasilkan gula-gula sederhana. Menurut Zin dan Ware (2002), waktu hidrolisis dan jumlah unit enzim merupakan faktor yang diduga mempengaruhi hasil hidrolisis, oleh karena itu akan dikaji mengenai pengaruh unit enzim dan lama hidrolisis pada kulit kopi arabika terhadap gula pereduksi yang dihasilkan.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh jumlah unit enzim dan waktu hidrolisis pada kulit kopi arabika terhadap gula pereduksi yang dihasilkan.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat yaitu meningkatkan nilai guna limbah kulit kopi arabika sehingga mampu menghasilkan glukosa dan dapat digunakan sebagai bahan baku produksi etanol.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Komposisi Kimia Kulit Kopi

Kulit kopi terdiri dari 20 % lendir kopi. 40 % kulit kopi dan 40 % adalah biji kopi dan kulit majemuk (Gathuo *et al.*, 1991). Komposisi lendir dari biji kopi dan komposisi kimia kulit kopi dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan Tabel 2.3.

Tabel 2.2 Komposisi kimia lendir biji kopi

Komponen	Kadar (%)
Air	84,2
Glukosa (gula reduksi)	2,5
Protein	8,9
Sukrosa (gula non reduksi)	1,6
Pektin	1,0
Abu	0,7

Sumber : Wilson (1985)

Tabel 2.3 Komposisi kimia kulit kopi arabika

Komponen	Kadar %
Abu	1,5
Nitrogen bebas	31,3
Tanin	7,8
Total asam	1,6
Kafein	2,3
Asam klorogenik	2,6
Pektin	6,5
Gula reduksi	12,4
Gula non reduksi	2,0
Serat kasar	21,4

Sumber : Wilson (1985).

Terdapat tiga lapisan pada kulit kopi yang telah terpisah dari bijinya. Ketiga lapisan itu adalah exocarp, daging buah, dan kulit tanduk. Menurut Richana (2002), pemanfaatan kuli kopi saat ini hanya sebagai pakan ternak, pupuk dengan harga yang murah. Setelah biji kopi dipanen, kemudian dilakukan pengupasan dan kulitnya dijemur kemudian dibuat pakan ternak dan kompos.

2.2 Sifat Lignoselulosa

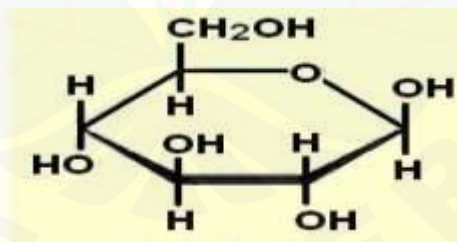
Komponen utama lignoselulosa adalah hemiselulosa, selulosa dan lignin. Proses fotosintesis pada tanaman dapat membentuk ikatan kimia yang menghasilkan bahan dasar dinding sel tumbuhan, ketiga komponen tersebut membentuk suatu ikatan kimia. Masing-masing komponen tersebut dapat dipecah dengan bantuan mikroorganisme, diantaranya bakteri dan kapang yang dapat menghidrolisis dan memecah selulosa untuk diubah menjadi sumber energi (Enari,1983). Selulosa merupakan polimer linier glukosa dengan struktur rantai yang seragam. Unit-unit glukosa terikat dengan ikatan glikosidik. Dua unit glukosa yang berdekatan bersatu dengan mengeliminasi satu molekul air di antara gugus hidroksil pada karbon 1 dan karbon 4. Kedudukan $-\beta$ dari gugus $-\text{OH}$ pada C1 membutuhkan pemutaran unit glukosa berikutnya melalui sumbu C1-C4 cincin piranosa. Unit ulang terkecil dari rantai selulosa adalah unit selobiosa dengan panjang 1,03 nm dan terdiri atas dua unit glukosa. Hidrolisis selulosa menghasilkan monomer yaitu glukosa.

Hemiselulosa merupakan istilah umum bagi polisakarida yang larut dalam alkali. Hemiselulosa sangat dekat asosiasinya dengan selulosa dalam dinding sel tanaman (Fengel dan Wegener, 1984; Howard *et al.*, 2003). Lima gula netral, yaitu glukosa, mannososa, dan galaktosa (heksosan) serta xilosa dan arabinosa (pentosan) merupakan konstituen utama hemiselulosa (Fengel dan Wegener, 1984). Berbeda dari selulosa yang merupakan homopolisakarida dengan monomer glukosa dan derajat polimerisasi yang tinggi (10.000– 14.000 unit), rantai utama hemiselulosa dapat terdiri atas hanya satu jenis monomer (homopolimer), seperti xilan, atau terdiri atas dua jenis atau lebih monomer (heteropolimer), seperti glukomannan. Rantai molekul hemiselulosa pun lebih pendek daripada selulosa.

Polimer selulosa berbentuk lantai linier dan dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. Struktur tersebut membuat selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis karena sifatnya kristalin dan tidak mudah larut (Holtzapple *et al.*, 2003). Selulosa selalu bergabung dengan polisakarida seperti lignin, pektin, hemiselulosa dan xilan, oleh karena itu selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam. Selulosa sering berasosiasi dengan

lignin membentuk lignoselulosa, proses fotosintesis menghasilkan komponen selulosa, lignin, dan hemiselulosa pada tumbuhan. Molekul selulosa didalam tumbuhan tersusun dalam bentuk fibril yang terdiri atas beberapa molekul paralel yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik sehingga sulit diuraikan (Goyskor dan Eriksen, 1980 dalam Fitriani, 2003). Beberapa mikroorganisme bisa menghidrolisis selulosa untuk digunakan sebagai sumber energi, seperti bakteri dan fungi (Sukumaran *et al.*, 2005)

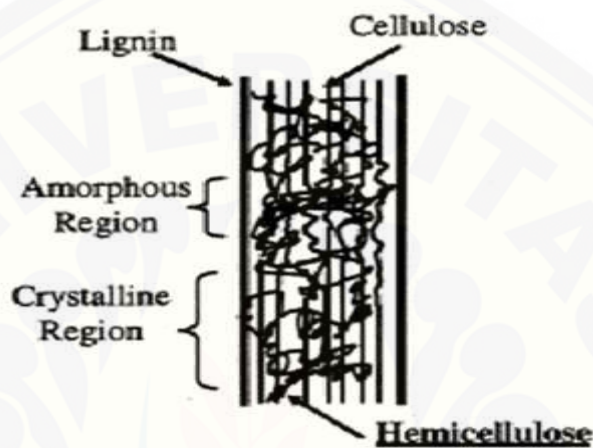
Rantai selulosa terdiri dari satuan glukosa anhidrida yang saling berikatan melalui atom karbon pertama dan ke empat. Ikatan yang terjadi adalah ikatan β 1,4 glikosidik. Secara alamiah beberapa molekul selulosa tersusun dalam bentuk fibril yang terdiri atas beberapa molekul selulosa yang dihubungkan dengan ikatan glikosidik. Fibril tersebut membentuk struktur kristal yang dibungkus oleh lignin. Selulosa memiliki sifat kuat dan keras karena komposisi kimia dan strukturnya diselubungi oleh lignin. Sifat kuat dan keras yang dimiliki oleh sebagian besar bahan berselulosa membuat bahan tersebut tahan terhadap peruraian secara enzimatik. Secara alami, penguraian selulosa berlangsung sangat lambat (Fan *et al.*, 1982). Struktur kimia glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.1.



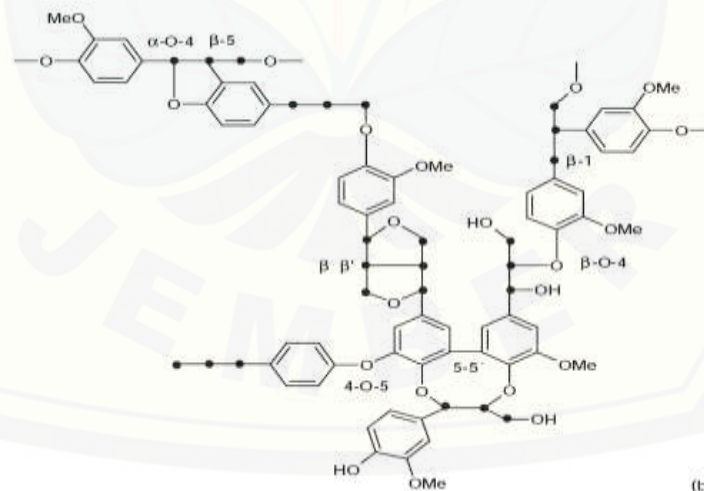
Gambar 2.1 Struktur kimia glukosa (Bansal, 2009)

Lignin mempunyai struktur molekul yang sangat berbeda dengan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenil propana. Kandungan lignin dalam kayu daun jarum lebih tinggi daripada dalam kayu daun lebar. Di samping itu, terdapat beberapa perbedaan struktur lignin dalam kayu daun jarum dan dalam kayu daun lebar (Fengel dan Wegener 1984). Fujita dan Harada (1991) menjelaskan selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang

berada dalam kayu yang merupakan salah satu bahan lignoselulosa. Selulosa adalah senyawa kerangka yang menyusun 40– 50% bagian kayu dalam bentuk selulosa mikrofibril, di mana hemiselulosa adalah senyawa matriks yang berada di antara mikrofibril-mikrofibril selulosa. Lignin adalah senyawa yang keras yang menyelimuti dan mengeraskan dinding sel.



Gambar 2.2 Letak lignin pada jaringan tanaman (Mosier *et al.*, 2005)



Gambar 2.3 Struktur kimia lignin (Sixta, 2006)

2.3 Hidrolisis Selulosa Menggunakan Enzim Selulase

Hidrolisis merupakan proses pemutusan polimer bahan menjadi monomer-monomer penyusunnya. Hidrolisis lignoselulosa untuk memecah polisakarida

yaitu selulosa dan hemiselulosa diubah menjadi monomer gula-gula penyusunnya. Glukosa merupakan hasil hidrolisis sempurna komponen selulosa, sedangkan monomer heksosa dan pentosa merupakan hasil hidrolisis dari komponen hemiselulosa. Hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatik atau asam (kimia).

Hidrolisis secara enzimatik, komponen lignoselulosa dihidrolisis menggunakan enzim pada suhu dan pH tertentu yang dapat menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa (Winarno, 1995). Keuntungan hidrolisis enzimatik dibandingkan hidrolisis asam, diantaranya adalah tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Hamelinck *et al.*, 2005). Kelemahan hidrolisis enzimatik antara lain membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim biasanya dihambat oleh beberapa bahan penyusunnya contohnya lignin yang terdapat pada kulit kopi. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam, namun pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis.

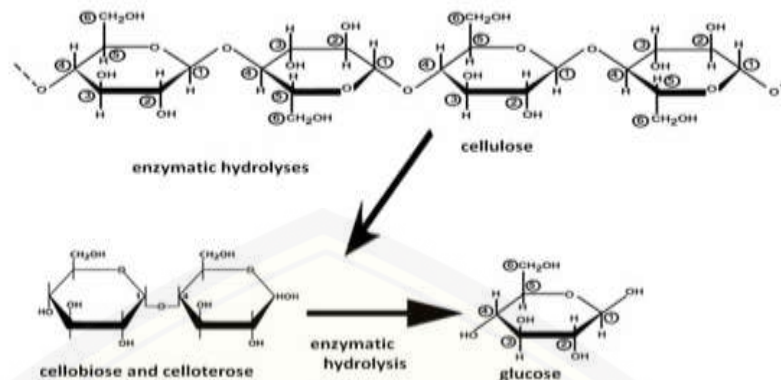
2.4 Sifat Enzim Selulase

Struktur selulosa merupakan komponen utama pembentuk dinding sel tanaman yang menyusun sekitar setengah dari tanaman keras. Selulosa umumnya digunakan dalam industri tekstil maupun kertas. Setiap molekul selulosa mengandung 1000-1 juta unit D- glukosa yang dihubungkan bersama ikatan β -1,4 glikosida. Selulosa dari berbagai sumber memiliki struktur molekul yang sama. Namun selulosa dari berbagai sumber memiliki perbedaan dari struktur kristalnya dan ikatan dengan biomolekul lainnya (Enari, 1983).

Struktur selulosa terdiri dari daerah kristalin dan daerah amorf (non kristalin) yang membentuk suatu struktur dengan kekuatan tegangan tinggi yang pada umumnya tahan terhadap hidrolisis enzimatik terutama pada daerah kristalin. Selulosa dapat dihidrolisis oleh enzim selulase yang terdiri dari suatu kompleks campuran dari enzim dengan spesifitas berbeda dalam menghidrolisis ikatan glikosidiknya (Howard *et al.*, 2003)

Kemampuan selulase ini membuka jalan untuk pemanfaatan limbah-limbah pertanian yang mengandung selulosa terutama dalam upaya untuk meningkatkan nilai tambah dari limbah tersebut. Selulosa dapat dikonversi menjadi produk bernilai ekonomi yang lebih tinggi seperti selo-oligosakarida, glukosa, etanol, dan pakan dengan jalan menghidrolisis selulosa dengan bantuan selulase sebagai katalisator. Selulase merupakan golongan enzim yang mampu memutus ikatan β -1,4 pada substrat selulosa, selodekstrin, selobiosa dan turunan selulosa lainnya.

Selulase terdiri dari tiga jenis yaitu selobiohidrolase (eksoglukanase) yang secara spesifik memutus unit-unit selobiosa dari ujung non pereduksi dari rantai selulosa dan berperan menghidrolisis daerah kristalin selulosa, endoglukanase yang memutus ikatan internal selulosa pada daerah amorf, endoglukanase dan eksoglukanase bekerja sama membebaskan selobiosa dari serat selulosa dan β -glukosidase (selobiase) yang memutus secara spesifik unit glukosa dari ujung non pereduksi dari selo oligosakarida. Ketiga enzim ini bekerja sama menghidrolisis selulosa yang tidak larut, menjadi glukosa sehingga aktivitas gabungan ketiga enzim dapat diukur dengan menghitung jumlah glukosa yang dihasilkan (Bansal, 2009). Enzim *acid selulase* sering digunakan dalam proses hidrolisis, Salah satunya penggunaan enzim *acid selulase* untuk hidrolisis tandan kosong kelapa sawit (Caecilia, 2015). Enzim tersebut memiliki kemampuan memecah selulosa secara endoterm, eksoterm dan memecah ikatan β -glukosidase pada komponen selulosa (Anonim, 2010). Enzim selulase dapat mengkatalis proses selulolisis (hidrolisis selulosa) yang akan menghasilkan selobiosa, selooligosakarida dan glukosa (Sukumaran *et al.*,2005). Mekanisme hidrolisis selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis

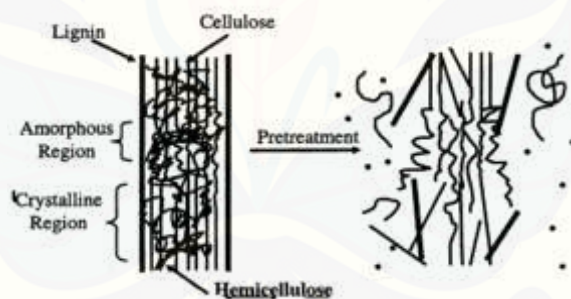
Penelitian hidrolisis menggunakan enzim selulase salah satunya adalah hidrolisis bonggol jagung menggunakan enzim selulase yang dihasilkan dari *T.resei* (Ouyang et al., 2009). Terdapat dua metode hidrolisis tongkol jagung pada penelitian tersebut. Limbah tongkol jagung menggunakan hidolisis enzimatis secara langsung dalam satu tahap dan hidrolisis bertingkat. Hasil penelitian menyebutkan bahwa, hidrolisis bertingkat menggunakan enzim selulase mampu meningkatkan hasil akhir hidrolisis berupa glukosa dari 43% menjadi 90%.

2.5 Proses Delignifikasi Menggunakan Alkali

Kulit kopi arabika memiliki komponen lignoselulosa diantaranya selulosa, hemiselulosa dan lignin (Enari,1983). Biomassa lignoselulosa sangat sulit untuk dibiotransformasi, baik dengan mikroba maupun enzim. Hal ini yang membatasi penggunaannya dan menghambat konversinya menjadi produk bernilai tambah. Lignin berperan sebagai pelindung selulosa terhadap serangan enzim pemecah selulosa. Komposisi kimia dan struktur yang demikian membuat bahan yang mengandung selulosa bersifat kuat dan keras, sedangkan adanya ikatan hidrogen menyebabkan selulosa tidak larut dalam air. Delignifikasi merupakan proses penghilangan lignin yang terdapat pada komponen lignoselulosa. Delignifikasi dilakukan dengan bantuan bahan alkali/alkali pretreatment. Bahan yang sering digunakan di dalam alkali pretreatment adalah NaOH dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Kedua bahan tersebut jika digunakan dalam delignifikasi dapat menyerang dan merusak struktur lignin, bagian kristalin dan amorf, memisahkan sebagian lignin dan

hemiselulosa serta menyebabkan pengembangan struktur selulosa (Enari, 1983; Marsden dan Grey, 1986 ; Gunam dan Guna, 2011).

Delignifikasi menggunakan alkali dilakukan dengan merendam bahan yang mengandung komponen lignoselulosa dengan konsentrasi tertentu. Menurut Caecilia (2015), perlakuan awal basa dengan NaOH dengan konsentrasi 0,1 M pada tandan kosong kelapa sawit yang mengandung lignoselulosa dapat menghilangkan sebagian lignin dan hemiselulosa yang melindungi molekul selulosa pada tandan kosong kelapa sawit, sekaligus mampu memutuskan ikatan hidrogen terutama ikatan inter molekul selulosa sehingga selulosa berada dalam keadaan tidak terikat. Keadaan ini menyebabkan selulosa menjadi longgar baik terhadap ikatan komponen non-selulosa maupun pada selulosanya sendiri sehingga enzim selulase dapat lebih mudah kontak dengan selulosa yang akhirnya hidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana dapat berjalan lebih sempurna. Lignoselulosa setelah dilakukan pretreatment (delignifikasi) dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Lignoselulosa setelah mengalami delignifikasi (Mosier *et al.*, 2005)

2.5 Hidrolisat Polisakarida

Polisakarida pada umumnya mempunyai molekul besar dan lebih kompleks daripada monosakarida dan oligosakarida. Molekul polisakarida terdiri atas banyak molekul monosakarida. Berat molekul polisakarida bervariasi dari beberapa ribu hingga lebih dari satu juta. Contoh polisakarida adalah amilum, glikogen, dekstrin, selulosa. Polisakarida di bedakan menjadi dua yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Monosakarida dan disakarida

mempunyai rasa manis sehingga disebut dengan gula. Rasa manis ini disebabkan karena gugus hidroksilnya. Sedangkan polisakarida tidak terasa manis karena molekulnya yang terlalu besar tidak dapat dirasa oleh indera pengecap dalam lidah (Sudarmadji, 1996).

2.6 Sifat Gula Pereduksi

Gula reduksi merupakan golongan gula karbohidrat yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi senyawa-senyawa penerima electron, Hal ini dikarenakan adanya gugus aldehid atau keton bebas dalam molekul karbohidrat Sifat ini tampak pada reaksi reduksi ion-ion logam misalnya ion Cu^{++} dan ion Ag^+ yang terdapat pada pereaksi-pereaksi tertentu. Adapun senyawa-senyawa gula reduksi adalah glukosa dan fruktosa. Semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida (laktosa, maltosa) termasuk sebagai gula pereduksi, kecuali sukrosa dan pati (polisakarida). Umumnya gula pereduksi yang dihasilkan berhubungan erat dengan aktifitas enzim, dimana semakin tinggi aktifitas enzim maka semakin tinggi pula gula pereduksi yang dihasilkan. (Lehninger, 1982).

2.7 Derajat Polimerisasi Hidrolisat Hasil Hidrolisis Enzimatis

Derajat polimerisasi hidrolisat menunjukkan nilai perubahan hasil hidrolisis berupa total gula terlarut menjadi gula-gula pereduksi. Derajat polimerisasi hidrolisat dapat dihitung dari kadar total gula terlarut dikurangi kadar gula pereduksi. Nilai Derajat Polimerisasi dipengaruhi oleh kadar total gula terlarut dan kadar gula pereduksi, dimana semakin besar kadar total gula terlarut dan semakin kecil kadar gula pereduksi yang didapat maka nilai Derajat Polimerisasi akan semakin besar.

2.8 Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer (LC-MS)

Struktur senyawa organik dan berat molekul suatu bahan dapat diketahui dengan bantuan alat *Mass Spectrofotometer* (MS). Selain itu, alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen-komponen suatu senyawa. Kombinasi HPLC dengan MS (LC-MS) memiliki selektivitas yang tinggi, sehingga identifikasi dan kuantifikasi dapat dilakukan dengan jumlah

sampel yang sedikit dan tahapan preparasi yang minimal. Hal ini membuat LC-MS semakin populer untuk mendeteksi berbagai senyawa termasuk glukosa dan fruktosa (Maryam, 2007).

LC-MS menggunakan fasa gerak untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan di antara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik dan menghasilkan spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2008).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Laboratorium Biokimia Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dan Laboratorium Biosain Politeknik Negeri Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2015-April 2016.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan baku dalam penelitian ini adalah kulit kopi Arabika hasil samping olahan basah dari Kabupaten Bondowoso dan enzim *acid selulase* jenis Sqzyme dengan aktivitas 1g enzim setara 10000 unit. Bahan-bahan untuk analisis adalah NaOH, DND, dan K-Na Tartarat, H₂SO₄ pekat, fenol 5%, standar glukosa dan fruktosa.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain *Shaker water batch* vertikal dengan kecepatan 60 rpm dan LC-MS merk shimadzu 2020.

3.3 Rancangan penelitian

Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu Faktor A (Konsentrasi enzim) dan Faktor B (Waktu hidrolisis). Percobaan ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Hidrolisis kulit kopi secara enzimatis menggunakan sampel kulit kopi arabika metode basah dan akan dilakukan dengan variasi sebagai berikut:

Faktor A = unit enzim

A1 = 200 unit

A2= 400 unit

A3 = 800 unit

Faktor B = Waktu Hidrolisis

B1 = 24 jam

B2 = 12 jam

Dari kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi perlakuan sebagai berikut:

A/B	A1	A2	A3
B1	A1B1	A2B1	A3B1
B2	A1B2	A2B2	A3B2

Data yang diperoleh akan diolah menggunakan Anova. Jika ada perbedaan pada tiap perlakuan akan dilakukan Uji Wilayah Berganda DMRT (Duncan New Multiple Range Test) pada taraf 5%.

3.4 Parameter Pengamatan

Beberapa parameter yang diamati dalam penelitian ini sebagai berikut.

1. Analisis total gula terlarut (Dubois, 1956).
2. Kadar gula reduksi (Miller, 1959).
3. Penentuan derajat polimerisasi (Thalaga *et al.*, 2009).
4. Identifikasi gula menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer* (LC-MS).

3.5 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap diantaranya persiapan bahan baku, hidrolisis enzimatis, dan analisa total gula terlarut, gula pereduksi dan analisis derajat polimerisasi.

3.5.1 Persiapan Bahan Baku

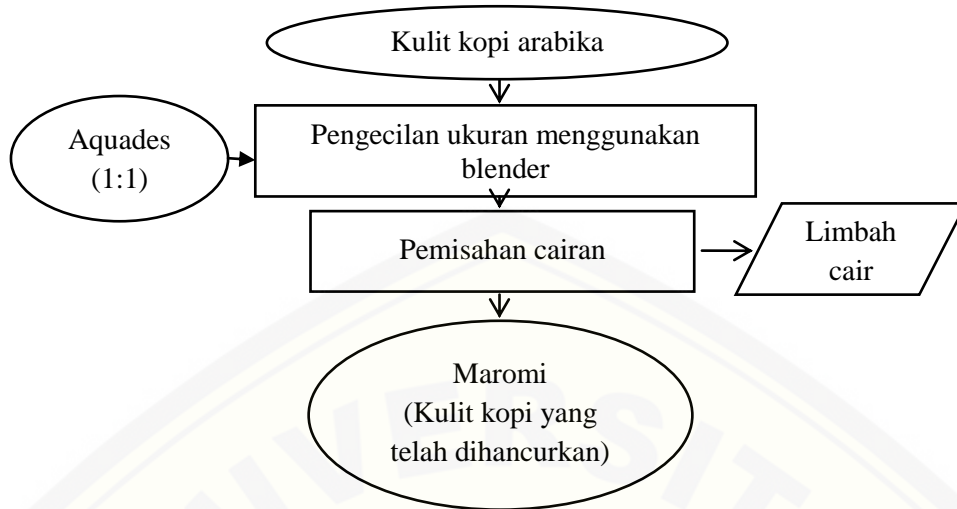
Kulit kopi arabika kemudian dilakukan penghancuran menggunakan blender dengan penambahan 100 ml aquades dengan perbandingan 1:1. Slury yang didapatkan setelah penghancuran. Akan dilakukan delignifikasi menggunakan NaOH. Skema kerja dalam proses persiapan bahan baku, selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.5.2 Delignifikasi Kulit Kopi

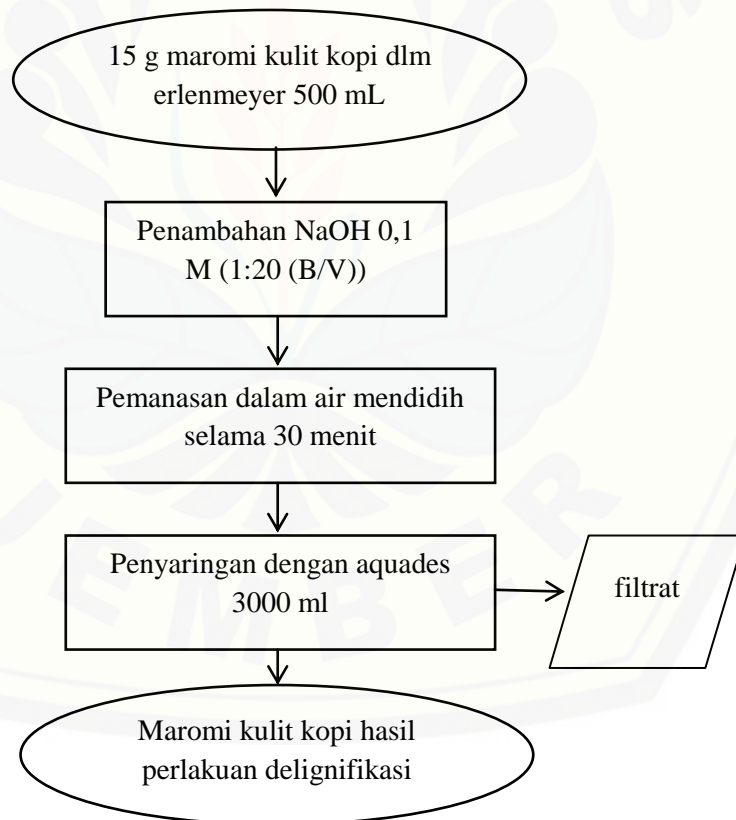
Proses ini diawali dengan memasukkan kulit kopi yang telah dihancurkan kedalam erlenmeyer 500 ml. Kemudian menambahkan NaOH 0,1 M dengan perbandingan 1 : 20 (b/v). Setelah itu, campuran kulit kopi dan NaOH yang terdapat pada erlenmeyer dipanaskan pada air mendidih selama 30 menit. Campuran tersebut kemudian disaring dan dicuci menggunakan aquades sebanyak 3000 ml. Filtratnya/cairannya dibuang, kemudian didapatkan kulit kopi terdelignifikasi yang siap digunakan sebagai bahan untuk hidrolisis. Skema kerja delignifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.2.

3.5.3 Hidrolisis Secara Enzimatis

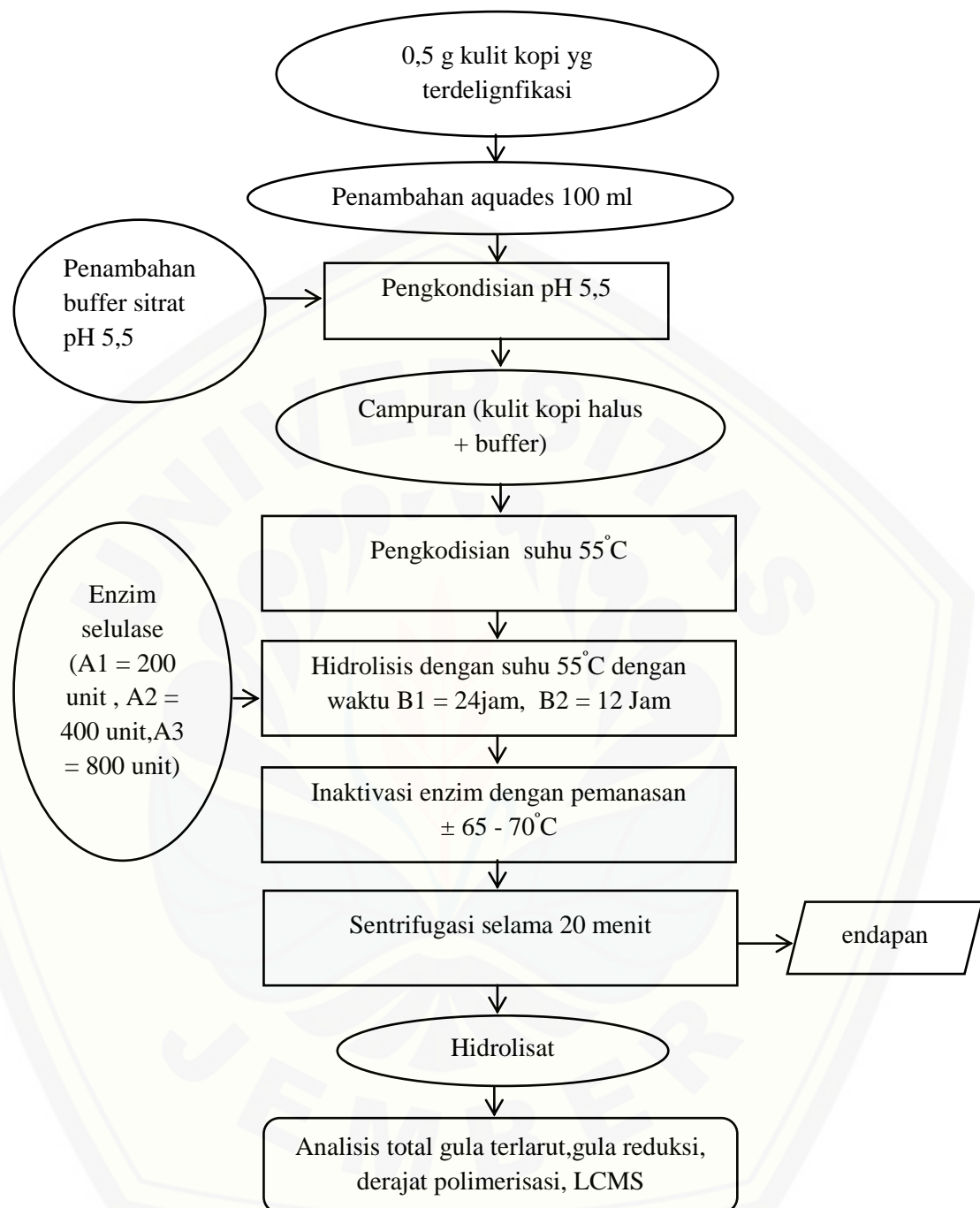
0,5 g Kulit kopi yang telah terdelignifikasi dilarutkan kedalam aquades. campuran tersebut kemudian ditambahkan buffer sitrat hingga pH 5,5. Kemudian dilakukan pre inkubasi di shaker water batch dengan suhu 55⁰ C selama 3-5 menit. Kemudian ditambahkan enzim acid seluase dengan jumlah unit sesuai rancangan percobaan (A1 = 100 unit, A2 = 400 unit, A3 = 800 unit). Selanjutnya dilakukan hidrolisis menggunakan alat shaker water batch pada suhu 55⁰ C. Waktu hidrolisis dilakukan sesuai rancangan percobaan (B1 = 24 jam, B2 = 12 jam). Kemudian hidrolisis dihentikan dengan pemanasan pada suhu 65⁰C – 70⁰C untuk menginaktivasi enzim dan mencegah terjadinya hidrolisis lanjut (Steven, 2002). Setelah itu didapatkan filtrat yang akan di analisa gula total, gula pereduksi, dan derajat polimerisasi. Skema kerja hidrolisis kulit kopi arabika dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.1 Diagram alir penghancuran kulit kopi arabika (Anonim, 2010)



Gambar 3.2 Diagram alir delignifikasi kulit kopi Arabika (Septiyani,2011)



Gambar 3.3 Diagram alir hidrolisis kulit kopi (Lewandowicz *et al.*, 2012).

3.6 Prosedur Analisis

3.6.1 Kadar Total gula terlarut (Dubois, 1956)

Persiapan sampel yang dilakukan untuk analisis kadar total gula terlarut menggunakan metode hidrolisis secara enzimatis. Adapun penentuan kadar total gula terlarut diawali dengan pembuatan kurva standar total gula terlarut yang diperoleh dari pengukuran absorbansi glukosa standart pada berbagai konsentrasi. 1 ml larutan standar dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml larutan fenol 5% dan divortex. Setelah itu ditambahkan 2,5 ml H₂SO₄ pekat secara cepat, divortex, dan didinginkan selama 20 menit. Setelah dingin larutan divortex dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Penentuan total gula terlarut sampel sama dengan pembuatan kurva standar total gula terlarut, tetapi 1 ml larutan gula standar diganti dengan 1 ml sampel yg di encerkan pada 20 ml. Kadar total gula terlarut sampel diperoleh dari persamaan kurva standar dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai total gula terlarut (mg/ml).

3.6.2 Kadar Gula Pereduksi Menggunakan Metode DNS (Miller, 1959)

Analisis ini diawali dengan membuat reagen *Dinitrosalislic acid* (DNS) dengan melarutkan 10 g NaOH, Na₂SO₄ 0,5 g, dan K-Na Tartarat 182 g dalam 1000 ml aquades kemudian di stirer hingga larut tanpa pemanasan. Setelah semua bahan terlarut sempurna ditambahkan DNS 10 g sedikit demi sedikit dan dilakukan pengadukan hingga terlarut sempurna. Pembuatan kurva standard dilakukan dengan membuat berbagai konsentrasi glukosa, 1 ml larutan glukosa standard dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan Larutan DNS sebanyak 1 ml ditambahkan pada masing-masing tabung rekasi dan dipanaskan pada suhu 100⁰ C selama 15 menit. Dinginkan selama 5 menit. Kemudian proses pengukuran absorbansi pada masing-masing larutan dengan panjang gelombang 540 nm. Kurva standar diperoleh dengan memplotkan absorbansi dan konsentrasi glukosa. Penentuan Kadar gula reduksi sampel sama dengan pembuatan kurva standar namun 1 ml larutan standard diganti dengan 1 ml sampel yg diencerkan sebesar 20 ml. Kadar gula reduksi dihitung dengan rumus persamaan $y = ax + b$

yang diperoleh dari kurva standar, dimana x sebagai gula reduksi dan y sebagai nilai absorbansi sampel.

3.6.3 Penentuan Derajat Polimerisasi (Thalagala *et al.*, 2009).

Derajat polimerisasi (DP) adalah jumlah unit monomer pada makromolekul atau molekul oligomer dalam suatu blok atau rantai. DP dapat dihitung dari kadar total gula terlarut dikurangi kadar gula pereduksi. Nilai DP dipengaruhi oleh kadar total gula terlarut dan kadar gula pereduksi, dimana semakin besar kadar total gula terlarut dan semakin kecil kadar gula pereduksi yang didapat maka nilai DP akan semakin besar. Derajat polimerisasi menunjukkan panjang rantai polimer penyusun gula. Semakin rendah nilai DP, maka semakin pendek rantai penyusun gula, artinya telah terjadi pemutusan polimer berantai panjang menjadi menjadi polimer berantai pendek akibat proses hidrolisis. Berikut ini rumus untuk menentukan nilai derajat polimerisasi :

$$\text{Nilai (DP)} = \frac{\text{kadar total gula terlarut } (\frac{\text{g}}{\text{ml}})}{\text{kadar gula pereduksi } (\frac{\text{g}}{\text{ml}})}$$

3.6.4 Identifikasi Gula Menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer* (LC-MS)

Analisa kuantitatif gula (fruktosa dan glukosa) ini diawali dengan menyaring sampel hidrolisat kulit kopi arabika dengan *syringe filter* 40 μl . Kemudian standard fruktosa dan glukosa diinjeksi dengan kondisi sesuai pada Tabel 3.1 dan 3.2.

Tabel 3.1 Kondisi injeksi standar glukosa

<i>Glucose Separation Condition</i>		
<i>Instrument</i>	Shimadzu LC-MS 2020	
<i>Column</i>	C 18 Waters	
<i>Mobile Phase</i>	Water (100 %)	
<i>Flow rate</i>	1 mL/min	
<i>Column Temperature</i>	40°C	
<i>Injection Volume</i>	2 µL	
<i>Interface</i>	DUIS (ESI - APCI)	
<i>Total Runtime</i>	3 min	
<i>Sim</i>	- Negative	179 m/z

Tabel 3.2 Kondisi injeksi standar fruktosa

<i>Fructose Separation Condition</i>		
<i>Instrument</i>	Shimadzu LC-MS 2020	
<i>Column</i>	C 18 Waters	
<i>Mobile Phase</i>	Water (100 %)	
<i>Flow rate</i>	0.5 mL/min	
<i>Column Temperature</i>	40°C	
<i>Injection Volume</i>	2 µL	
<i>Interface</i>	DUIS (ESI - APCI)	
<i>Total Runtime</i>	4.5min	
<i>Sim</i>	- Negative	179 m/z

Setelah optimasi standard selesai dan didapatkan kurva standard, sampel di injeksi sebanyak 2 µL dengan mengkondisikan kecepatan aliran tiap menit, pengaturan berat molekul 179 dan waktu selama injeksi yaitu 4,5 menit. Hasil yang didapatkan pada sampel yaitu berupa glukosa dan fruktosa dengan konsentrasi berbeda.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang mampu menghasilkan gula-gula sederhana maksimal adalah enzim 800 unit dengan waktu hidrolisis 24 jam. Penggunaan unit enzim *acid selulase* yang semakin tinggi dan semakin lama waktu hidrolisis mampu menghasilkan kadar total gula terlarut, gula pereduksi dan derajat polimerisasi yang optimal. Unit enzim 800 dan waktu hidrolisis 24 jam mampu menghasilkan kadar total gula terlarut sebesar 0,584 mg/ml. Kadar gula pereduksi pada perlakuan enzim 800 unit dengan waktu hidrolisis 24 jam. sebesar 0,114 mg/ml. Nilai rata-rata derajat polimerisasi dari perlakuan hidrolisis 800 unit enzim dan waktu 24 jam adalah 5,15. Identifikasi gula menggunakan LCMS pada sampel perlakuan 800 unit enzim dan waktu 24 jam mampu menghasilkan glukosa 36,1 ppm dan fruktosa sebesar 17,9 ppm. Enzim acid selulase yang digunakan untuk hidrolisis belum mampu menghasilkan gula pereduksi secara maksimal dan hanya menghasilkan 1 % gula reduksi dari kulit kopi arabika.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang metode hidrolisis enzimatis. Baik dari waktu hidrolisis, persiapan bahan baku dan penggunaan enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Product Sqzyme CSP Acid Celullase Suntaq International Limited. http://www.suntaqzymes.com/prd_view.aspx?id=26dantypeid=12. (12 april 2015)
- Adney, B. dan Baker, J. 2008. *Measurement of Cellulase Activities*. A National Laboratory Of The US. Departement of Energy Office of Energy Efficiency and Renewable Energy.
- Apriyantono, A. D., Fardiaz. N.L., Puspitasari., Sedarnawi dan Budiyanto, S. 1989. *Petunjuk Laboraturium Analisa Pangan*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Asidue, J.J.1989. *Processing Tropical Crops : A Technological Approach*. London . Macmilan Press Limited Page : 24-41.
- Bansal, P. 2009. Modelling Cellulose Kinetics On Lignocellulosic Substrates. *J Bio Technol Adv*. 10:1016.
- Belitz, H.D., Hoioidonk, G.V., dan Faaij. A. P.C. 2008. *Ehanol Form Lignocellulosic Biomass Techno Economic Performance in Short Midle and Long Term*. Biomass and Bioenergy. 28 : 384-410.
- Caecilia, N. 2015. "Pengaruh Perlakuan Awal Basa Dan Hidrolisis Enzimatis Terhadap Kadar Gula Reduksi Tandan Kosong Kelapa Sawit".Tidak Diterbitkan. Skripsi. Fakultas Pertanian : Universitas Lampung.
- Clarke, R. J. dan Macrae, R. 1987. *Coffe Technology . Elsevier Applied Science*, Volume 2. London and New York.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2014. *Statistik Perkebunan Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bima Produksi Perkebunan.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2015. *Statistik Perkebunan, Kopi Arabika*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bima Produksi Perkebunan.
- Diniyah, N., Maryanto, Nafi', A., Sulistia, D., dan Subagio, A. 2013. *Ekstraksi dan Karakterisasi Polisakarida Larut Air Dari Kulit Kopi Varietas Arabika (Coffea arabica) Dan Robusta (Coffea canephora)*. Jember : FTP.UNEJ.

- Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers, dan Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *J. Anal. Chem.* 28 (3): 350-356.
- Enari, T. M. dan Fogarty, W. M. 1983. *Microbial Enzymatic and Biotechnology*. London : Applied Science Published.
- Fan, L.T., Y.H. Lee, dan M, M, Gharpuray. 1982. *The Nature of Lignocellulosics and Their Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis*. *Adv. Biochem. Eng.* 23: 158 – 187.
- Faridah, N D., Rahayu, P, W, dan Apriyadi, M, S. 2013. Modifikasi Pati Garut (Marantha Arundinacea) Dengan Perlakuan Hidrolisis Asam Dan Siklus Pemanasan-Pendinginan Untuk Menghasilkan Pati Resisten Tipe 3. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 23 (1) : 61-69.
- Fengel, D. dan Wegener, G. 1984. *Kimia Kayu, Reaksi Ultrastruktur*: Terjemahan Hardjono, S. Yogyakarta: UGM Press.
- Fitriani., bahri, S. dan nurhaemi. 2003. Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (Zea Mays) dari Hasil Proses Delignifikasi. *Online Jurnal of Natural Science*. Vol 2(3):66-74. Palu : Universitas Tadulako.
- Foyle, T., Jennings, L., dan Mulcahy, P.2007. Compositional analysis of lignocellulosic materials: Evaluation of methods used for sugar analysis of waste paper and straw. *Bioresour Technol* 98:3026-3036.
- Fujita dan Harada, 1991. *Ultrastructure and formation of wood cell wall*. P. 3-57. In D.N.S. Hon and N. Shiraishi (Ed). *Wood and Cellulosic Chemistry*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Gathuo, Nantulya., dan Gardiner, P. R.. 1991. *Trypanosomaviva.x*: adaptation of two East African stocks to laboratory rodents. *J. Protozool.* 34: 48-53.
- Girisuta. Buana. 2007. Levulinic Acid from Lignocellulosic Biomass. Netherlands : University of Groningen.
- Gunam, I.B.W., Buda, Ketut., DAN Guna, I.M.Y.S. 2011. Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Dengan Larutan NaOH Dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi Terhadap Produksi Enzim Selulase Dari *Aspergillus Niger* Nrrl A-li, 264. *Jurnal Biologi XIV* (1) : 55-61.
- Gunarto, A. 2009. Penampilan Fenotipik Klon Kentang G1 Hasil Fusi Protoplas dan Biji Botanis yang Resisten Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum*. Bionatura. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. Vol. 11: 179-194. Bandung : LPPKM Unpad.

- Hazirur. 2013. “Produksi Kopi Secara Enzimatis Menggunakan Bakteri Proteolitik dan Kombinasi Bakteri Selulolitik dan Xilanolitik Dari Luwak”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Fakultas Pertanian: Institut Pertanian Bogor.
- Herman, 2008. *Perkembangan dan Prospek Komoditas Kopi*. Bogor: Lembaga Riset Perkebunan Indonesia.
- Howard, R. L., Abotsi .E., Jansen, V.R., Howard, S. 2003. Lignesellulosa Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production, Review. *African J of Biotechnol* 2(12):602-611.
- Khan, M. A. 2010. “Hydrolysis of Hemicellulose by Commercial Enzyme Mixtures”. Tidak Diterbitkan. Thesis. Lules : Luleå University of Technology.
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Lehninger, A. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : Erlangga.
- Lewandowicz, G., Bialas, W., dan Leciezki, M. 2012. Enzymatic hydrolysis of potato pulp. *Acta Scientiarum Polonorum*. 11(1) : 53-59.
- Mahida, U.N., 1984, *Pencemaran Air dan Pemanfaatan Limbah Industri*. Jakarta : Penerbit CV. Radjawali.
- Makfoeld, D. 2009. *Kamus Istilah Pangan dan Nutrisi*. Yogyakarta: Kanisius Publisher.
- Maryam, R. 2007. *Metode Deteksi Mitotoksin*. J. Mikol. Ked. Indon. Vol. 7 (1-2): 12- 24.
- Miller, G. L. 1959. *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. *Analisis Chemistry*(31):426-428.
- Mosier,N., Wyman ,C., Dale ,B., Elander ,R., Lee Y.Y., Holtzapple ,M., Ladisch, M. 2005. *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*. *Bioresour Technol* 96: 673-686.
- Oliveria, 2012. *Penyimpanan Biji Kopi dan Kakao*. Jember : Balai Penelitian Perkebunan Jember.
- Ouyang , Jia., Zhenjiang L., Xin, L., Hanjie,Y., and Qiang Y. 2009. Enhanced Enzymatic Conversion And Glucose Production Via Two-Step Enzymatic

- Hydrolysis Of Corncob Residue From Xylo Oligosaccharides Producer's Waste. *Bio Resources* 4(4), 1586-1599.
- Perez, J., Munoz-Dorado, J., de la Rubia, T., dan Martinez, J. 2002. *Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview*. *International Microbiology* 5 (2): 53-63.
- Piliang, W.G, 2006. *Fisiologi Nutrisi Volume 1*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Richana, 2002. "Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia". *Buletin AgroBio* 5(1):29-36.
- Ruriani, E., Meryandini., Anja., Sunarti, C., Titi. 2011. Rekayasa Proses Produksi Bioetanol Dari Tongkol Jagung Melalui Sakarifikasi Dan Fermentasi Secara Simultan. Tidak Diterbitkan. Jember : Prosiding Seminar Perteta.
- Septiyani, R. 2011. "Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi Enzim Selulase untuk Menghidrolisis Selulosa dan Hemiselulosa Ampas Tebu menjadi Gula Reduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Universitas Lampung : Bandar Lampung.
- Sixta, H. 2006. *Handbook of Pulp*. WILEY-VCH verlag GmbH dan Co Weinheim. Pages 21-22, 609-611, 634, 850, 880, 1126, 1228.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1996. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Susmiati, Y., D. Setyaningsih, T.C. Sunarti. 2011. Rekayasa proses hidrolisis pati dan serat ubi kayu (*Manihot utilissima*) untuk produksi bioetanol. *Agritech* 31(4): 384-390.
- Thalagala, Kodama, Mishima, Isono, Furujo, Kawasaki, dan Hisamatsu. 2009. Study on a New Preparation of D-Glucose Rich Fractions from Various Lignocelluloses through a Two-Step Extraction with Sulphuric Acid. *J Appl Glycosci* 56:1-6.
- Wardhana, D.I. 2014. "Produksi gula pereduksi dari kulit kapi robusta dengan metode hidrolisis asam". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian: Universitas Jember.
- Wilson, K. C. 1985. *Coffee Botany, Biochemistry and Production of Bean Beverage*. The Avi Publishing Co. Inc, Westport, Connecticut.
- Winarno, F.G. 1984. *Biofermentasi dan Biosintesa protein*. Bandung : Angkasa.
- Winarno, F. G. 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta : PT Gramedia Utama.

Wu., Michael, L and Goldberg. 2011. L-Arabinose and oligosaccharides production from sugar beet pulp by xylanase and acid hydrolysis. *African J. Biotechnology*. 10(10):1907-1912.

Yoshida, M., Yuan, L., Sathosi U., Kensuke, K., Yusuke, U., Hitomi, I., Sathosi, K., dan Kiyoharu, F. 2008. *Effects of Cellulose Crystallinity, Hemicellulose, and Lignin on the Enzymatic Hydrolysis of Miscanthus Sinesis to Monosaccharides*. 72 (3) : 805-810. Japan : Biosel. Biotechnol. Blochem.

Zhang, J., Smith, K M., Tackaberry, T., Sun, X., Carpenter, P., Slugoski, MD., Robins, MJ., Nielsen, LP., Nowak, I., Baldwin, SA., Young, JD., Cass, CE. 2006. Characterization of the transport mechanism and permeant binding profile of the uridine permease Fui1p of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 281(38):28210-2. USA : Standford Universty.

Zinn, R. A., dan Ware. 2002. *Fibrolitic Enzyme Supplementation, a Tool for Enhancing Energy Intake in Growing-Finishing Feedlot Cattle*. Prociding of the 18th Annual Symposium. Nottingham. University Press, UK.

LAMPIRAN 1. DATA ANALISA KADAR TOTAL GULA

Perlakuan	U1A1B1	U1A2B1	U1A3B1	U2A1B1	U2A2B1	U2A3B1	U3A1B1	U3A2B1	U3A3B1
Absorbansi	0,173	0,224	0,337	0,177	0,223	0,336	0,188	0,247	0,338
	0,185	0,215	0,34	0,186	0,225	0,354	0,178	0,258	0,353
	0,192	0,223	0,338	0,175	0,224	0,347	0,177	0,265	0,36
Rata-rata	0,1833333	0,220667	0,3383333	0,179333333	0,224	0,345667	0,181	0,256667	0,350333
Stdev	0,009609	0,004933	0,0015275	0,005859465	0,001	0,009074	0,006083	0,009074	0,01124
total gula mg/ml	0,181	0,274	0,568	0,171	0,283	0,586	0,175	0,364	0,598

Perlakuan	U1A1B2	U1A2B2	U1A3B2	U2A1B2	U2A2B2	U2A3B2	U3A1B2	U3A2B2	U3A3B2
Absorbansi	0,188	0,226	0,344	0,177	0,269	0,312	0,143	0,244	0,316
	0,173	0,217	0,335	0,179	0,266	0,322	0,159	0,268	0,325
	0,184	0,221	0,349	0,176	0,267	0,326	0,155	0,246	0,322
Rata-rata	0,182	0,221	0,343	0,177	0,267	0,320	0,152	0,253	0,321
Stdev	0,0077675	0,004509	0,0070946	0,001527525	0,001528	0,007211	0,008327	0,013317	0,004583
total gula mg/ml	0,177	0,276	0,578	0,166	0,391	0,522	0,104	0,354	0,524

LAMPIRAN 2. DATA ANALISA KADAR GULA PEREDUKSI

PERLAKUAN	U1A1B1	U1A2B1	U1A3B1	U2A1B1	U2A2B1	U2A3B1	U3A1B1	U3A2B1	U3A3B1
Absorbansi	0,1360	0,2080	0,2880	0,1311	0,2090	0,2680	0,1210	0,2110	0,2770
	0,1420	0,2110	0,2790	0,1220	0,2180	0,2910	0,1420	0,2070	0,2670
	0,1330	0,2090	0,2990	0,1190	0,2030	0,2780	0,1430	0,2010	0,2580
Rata-rata	0,1370	0,2093	0,2887	0,1240	0,2100	0,2790	0,1353	0,2063	0,2673
Jumlah mg/ml	0,0271	0,0714	0,1200	0,0191	0,0718	0,1141	0,0261	0,0696	0,1070
Stdev	0,0046	0,0015	0,0100	0,0063	0,0075	0,0115	0,0124	0,0050	0,0095

PERLAKUAN	U1A1B2	U1A2B2	U1A3B2	U2A1B2	U2A2B2	U2A3B2	U3A1B2	U3A2B2	U3A3B2
Absorbansi	0,1180	0,1810	0,2250	0,1280	0,1880	0,2230	0,1070	0,1800	0,2260
	0,1120	0,1800	0,2110	0,1180	0,1870	0,2190	0,1010	0,1880	0,2090
	0,1220	0,1650	0,2160	0,1020	0,1710	0,2020	0,1120	0,1710	0,2010
Rata-rata	0,1173	0,1753	0,2173	0,1160	0,1820	0,2147	0,1067	0,1797	0,2120
Jumlah mg/ml	0,0150	0,0506	0,0763	0,0142	0,0547	0,0747	0,0085	0,0532	0,0730
Stdev	0,0050	0,0090	0,0071	0,0131	0,0095	0,0112	0,0055	0,0085	0,0128

LAMPIRAN 3. DATA NILAI DERAJAT POLIMERISASI

Perlakuan	Nilai Masing-Masing Ulangan			JUMLAH	Rata-Rata	STDEV
A1B1	6,6822579	8,933974386	6,713911	22,330143	7,443381	1,290988762
A2B1	3,8367838	3,940267918	5,231725	13,008777	4,336259	0,77722074
A3B1	4,7321089	5,135525242	5,591003	15,458637	5,152879	0,429709962
A1B2	11,772905	11,67581034	12,2385	35,687215	11,89574	0,300783921
A2B2	5,4569079	7,152845291	6,649929	19,259683	6,419894	0,871055703
A3B2	7,5737184	6,989602845	7,173349	21,73667	7,245557	0,298677452

LAMPIRAN 4. PERHITUNGAN ANOVA UNTUK ANALISA KADAR TOTAL GULA

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata *	Total Kuadrat			TOTAL KUADRAT
	I	II	III		I	II	III	
A1B1	0,181	0,171	0,175	0,176 ± 0,005	0,033	0,029	0,031	0,278
A2B1	0,274	0,283	0,364	0,307 ± 0,050	0,075	0,080	0,132	0,848
A3B1	0,568	0,586	0,598	0,584 ± 0,015	0,323	0,343	0,358	3,070
A1B2	0,177	0,166	0,104	0,149 ± 0,039	0,031	0,028	0,011	0,200
A2B2	0,276	0,391	0,354	0,340 ± 0,059	0,076	0,153	0,125	1,042
A3B2	0,578	0,522	0,524	0,541 ± 0,032	0,334	0,272	0,275	2,637
Total	2,054	2,119	2,119	2,097 ± 0,038	0,872	0,906	0,931	8,075

Keterangan * adalah nilai ± standard deviasi dari tiga pengulangan

Faktor B	ulangan	Faktor A			Total	Σ Total
		A1	A2	A3		
B1	1	0,181	0,274	0,568	1,023	3,200
	2	0,171	0,283	0,586	1,040	
	3	0,175	0,364	0,598	1,137	
Total		0,527	0,921	1,752		
B2	1	0,177	0,276	0,578	1,031	3,092
	2	0,166	0,391	0,522	1,079	
	3	0,104	0,354	0,524	0,982	
Total		0,447	1,021	1,624		
ΣTotal		0,974	1,942	3,376		6,292

	A1 ²	A2 ²	A3 ²
B1	0,0328	0,0751	0,322624
	0,0292	0,0801	0,343396
	0,0306	0,1325	0,357604
Total	0,093	0,288	1,024
B2	0,0313	0,0762	0,334084
	0,0276	0,1529	0,272484
	0,0108	0,1253	0,274576
Total	0,070	0,354	0,881
ΣTotal	2,71		

perlakuan	6
Ulangan	3
FK	2,199403556
JKT	0,5097
JKP	0,4923
JK(A)	0,486832444
JK(B)	0,000648
JK (AB)	0,0048
JKG	0,0174

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F Tabel		Keterangan
					5%	1%	
Perlakuan	5	0,4923	0,0985	67,7861	3,11	5,06	s
A	2	0,4868	0,2434	167,5843	3,89	6,93	s
B	1	0,0006	0,0006	0,4461	4,75	9,33	ns
AB	2	0,0048	0,0024	1,6578	3,89	6,93	ns
Galat	12	0,0174	0,0015				
Total	22	1,0020					

LAMPIRAN 5. PERHITUNGAN ANOVA GULA PEREDUKSI

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata *	Total Kuadrat			TOTAL KUADRAT
	I	II	III		I	II	III	
A1B1	0,027	0,019	0,026	0,024 ± 0,004	0,0007	0,0004	0,0007	0,002
A2B1	0,071	0,072	0,070	0,071 ± 0,001	0,0051	0,0052	0,0048	0,015
A3B1	0,120	0,114	0,107	0,114 ± 0,007	0,0144	0,0130	0,0114	0,039
A1B2	0,015	0,014	0,008	0,013 ± 0,004	0,0002	0,0002	0,0001	0,001
A2B2	0,051	0,055	0,053	0,053 ± 0,002	0,0026	0,0030	0,0028	0,008
A3B2	0,076	0,075	0,073	0,075 ± 0,002	0,0058	0,0056	0,0053	0,017
Total	0,360	0,349	0,337	0,349 ± 0,019	0,029	0,027	0,025	0,081

Keterangan * = ± standard deviasi dari tiga pengulangan

Faktor B	Ulangan	Faktor A			Total	Σ Total
		A1	A2	A3		
B1	1	0,027	0,071	0,120	0,219	0,626
	2	0,019	0,072	0,114	0,205	
	3	0,026	0,070	0,107	0,203	
Total		0,072	0,213	0,341		
B2	1	0,015	0,051	0,076	0,142	0,420
	2	0,014	0,055	0,075	0,144	
	3	0,008	0,053	0,073	0,135	
Total		0,038	0,158	0,224		
ΣTotal		0,110	0,371	0,565		1,046

	A1 ²	A2 ²	A3 ²
B1	0,0007	0,0051	0,014407
	0,0004	0,0052	0,013020
	0,0007	0,0048	0,011440
Total	0,002	0,015	0,039
B2	0,0002	0,0026	0,005824
	0,0002	0,0030	0,005577
	0,0001	0,0028	0,005336
Total	0,001	0,008	0,017
ΣTotal	0,08		

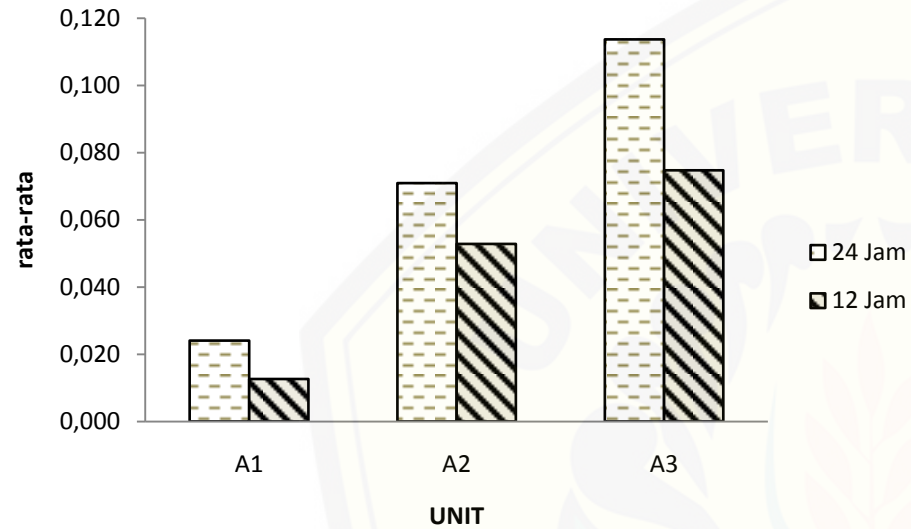
perlakuan	6
ulangan	3
FK	0,06084
JKT	0,0205
JKP	0,0204
JK(A)	0,01739
JK(B)	0,00236
JK (AB)	0,0006
JKG	0,0002

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F Tabel		Keterangan
					5%	1%	
Perlakuan	5	0,0204	0,0041	295,6806	3,11	5,06	S
A	2	0,0174	0,0087	631,2145	3,89	6,93	S
B	1	0,0024	0,0024	171,0680	4,75	9,33	S
AB	2	0,0006	0,0003	22,4530	3,89	6,93	S
Galat	12	0,0002	0,00001				
Total	22	0,0409					

Tabel dua arah

	A1	A2	A3	JUMLAH
B1	0,024	0,071	0,114	0,209
B2	0,013	0,053	0,075	0,140
JUMLAH	0,037	0,124	0,188	0,349

Digital Repository Universitas Jember



uji lanjut duncan	
ktg	0,00001
db galat	12
r	3

r _{0,05(3,12)}	4,75	3,98	3,49	3,26	3,11
dmrt 0,5	0,010177	0,008527	0,007478	0,006984764	0,006663

Perlakuan	rata-rata	Selisih						Notasi
		0,013	0,024	0,053	0,071	0,075	0,114	
A1B2	0,013	0,00						a
A1B1	0,024	0,0115	0,00					b
A2B2	0,053	0,0402	0,0287	0,00				c
A2B1	0,071	0,0584	0,0468	0,0181	0,00			d
A3B2	0,075	0,0621	0,0506	0,0219	0,00375	0,00		e
A3B1	0,114	0,1011	0,0896	0,0609	0,0428	0,0390	0,00	f

LAMPIRAN 6. PERHITUNGAN ANOVA DERAJAT POLIMERISASI

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata *	Total Kuadrat			TOTAL KUADRAT
	I	II	III		I	II	III	
A1B1	6,6822579	8,933974	6,713911	7,443 ± 1,29	44,65257	79,815898	45,0766	169,5450656
A2B1	3,8367838	3,940268	5,231725	4,336 ± 0,78	14,72091	15,525711	27,37095	57,6175693
A3B1	4,7321089	5,135525	5,591003	5,153 ± 0,423 11,895 ±	22,39285	26,37362	31,25932	80,02578949
A1B2	11,772905	11,67581	12,2385	0,301	138,6013	136,32455	149,7809	424,706719
A2B2	5,4569079	7,152845	6,649929	6,412 ± 0,871	29,77784	51,163196	44,22156	125,1626007
A3B2	7,5737184	6,989603	7,173349	7,245 ± 0,298 42,493 ±	57,36121	48,854548	51,45694	157,6726943
Total	40,054682	43,82803	43,59842	3,968	307,5067	358,05752	349,1662	1014,730438

Keterangan * = ± standard deviasi dari tiga pengulangan

Faktor B		Faktor A			Total	Σ Total
		A1	A2	A3		
B1	1	6,682	3,837	4,732	15,251	
	2	8,934	3,940	5,136	18,010	50,798
	3	6,714	5,232	5,591	17,537	
Total		22,330	13,009	15,459		
B2	1	11,773	7,153	7,574	26,499	
	2	11,676	6,650	6,990	25,315	76,684
	3	12,239	5,457	7,173	24,869	
Total		35,687	19,260	21,737		
Σ Total		58,017	32,268	37,195		127,481

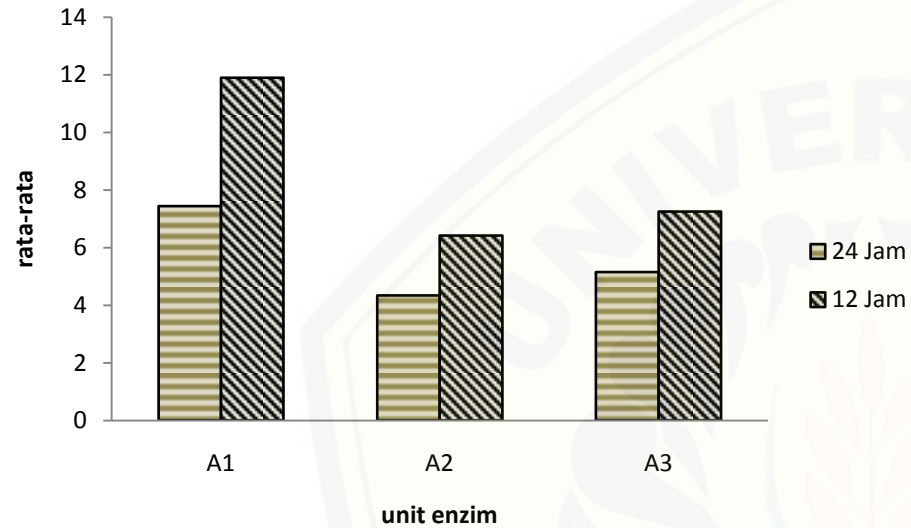
	A1 ²	A2 ²	A3 ²
B1	44,6526	14,7209	22,392855
	79,8159	15,5257	26,373620
	45,0766	27,3709	31,259315
Total	169,545	57,618	80,026
B2	138,6013	51,1632	57,361211
	136,3245	44,2216	48,854548
	149,7809	29,7778	51,456936
Total	424,707	125,163	157,673
Σ Total	1014,73		

perlakuan	6
ulangan	3
FK	902,8576258
JKT	111,8728
JKP	105,0852
JK(A)	62,26874522
JK(B)	37,22697601
JK (AB)	5,5895
JKG	6,7876

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F Tabel		Keterangan
					5%	1%	
Perlakuan	5	105,0852	21,0170	45,1211	3,11	5,06	s
A	2	62,2687	31,1344	66,8418	3,89	6,93	s
B	1	37,2270	37,2270	79,9218	4,75	9,33	s
AB	2	5,5895	2,7948	6,0000	3,89	6,93	s
Galat	12	5,5895	0,4658				
Total	22	215,7600					

Tabel dua arah

B/A	A1	A2	A3	JUMLAH
B1	7,443380988	4,336259	5,152879	16,93251901
B2	11,89573841	6,419894	7,245557	25,56118936
JUMLAH	19,3391194	10,75615	12,39844	42,49370838



Uji lanjut dmrt

r _{0,05(3,12)}	4,75	3,98	3,49	3,26	3,11
-------------------------	------	------	------	------	------

lsr 0,935835 1,568262 1,375184 1,284556 1,2254509

perlakuan	A2B1	A3B1	A2B2	A3B2	A1B1	A1B2
rata	4,336259	5,152879	6,4198942	7,245556751	7,443381	11,895738

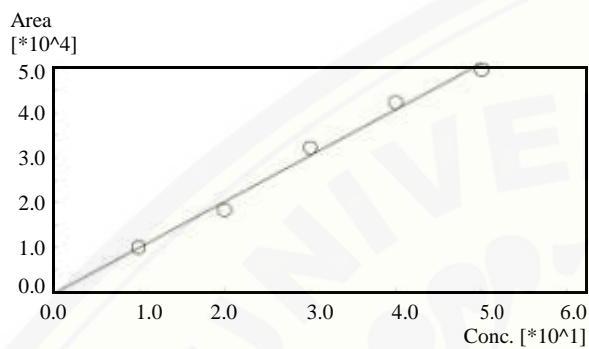
Perlakuan	rata-rata	Selisih						Notasi
		4,336	5,153	6,420	7,246	7,443	11,896	
A2B1	4,336	0,00						a
A3B1	5,153	0,8166	0,00					b
A2B2	6,420	6,4199	1,2670	0,00				c
A2B2	7,246	6,4289	7,2456	0,8257	0,00			d
A1B2	7,443	1,0235	7,4434	7,4434	0,19782	0,00		e
A1B2	11,896	5,4668	10,6287	11,8957	11,89574	4,4524	0,00	f

Lampiran 7. Identifikasi Glukosa dan Fruktosa

Kurva Standar Glukosa

Glucose Calibration Curve

ID# : 1 m/z : 179.00
 Name : RT:1.533
 Quantitative Method : External Standard
 Function : $f(x)=1033.64*x-569.763$
 Rr1=0.9950616 Rr2=0.9901476
 MeanRF: 1.004422e+003 RF SD: 6.177334e+001 RF %RSD: 6.150140
 FitType : Linear
 ZeroThrough : Not Through
 Weighted Regression : None



#	Conc.(Ratio)	MeanArea	Area
1	10	9839	9839
2	20	18368	18368
3	30	32135	32135
4	40	42299	42299
5	50	49556	49556

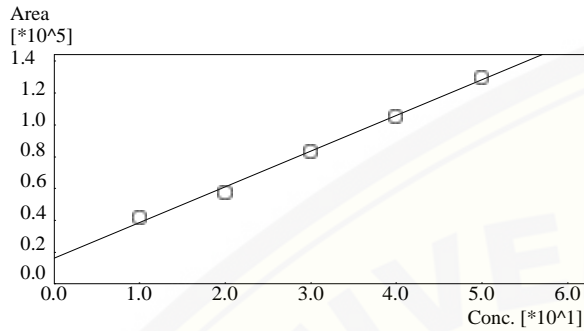
ID#1 Compound Name: RT:1.533

Title	Ret. Time	Area	Height	Std. Conc.	Conc.
std glucose 10 ppm.lcd	1.550	9839	1120	10.0 ppm	10.1 ppm
std glucose 20 ppm.lcd	1.557	18368	2047	20.0 ppm	18.3 ppm
std glucose 30 ppm.lcd	1.539	32135	2192	30.0 ppm	31.6 ppm
std glucose 40 ppm.lcd	1.556	42299	4175	40.0 ppm	41.5 ppm
std glucose 50 ppm.lcd	1.549	49556	5309	50.0 ppm	48.5 ppm
sample.lcd	1.536	36794	3017	--	36.1 ppm
Average	1.548	31499	2977		31.0 ppm
%RSD	0.568	47.360	51.621		46.519
Maximum	1.557	49556	5309		48.5 ppm
Minimum	1.536	9839	1120		10.1 ppm

Kurva Standard Fruktosa

Fructose Calibration Curve

ID# : 1 m/z : 179.00
 Name : RT:3.200
 Quantitative Method : External Standard
 Function : $f(x)=2241.76*x+16113.6$
 Rr1=0.9976410 Rr2=0.9952876
 MeanRF: 3.002151e+003 RF SD: 6.500447e+002 RF %RSD: 21.652627
 FitType : Linear
 ZeroThrough : Not Through
 Weighted Regression : None

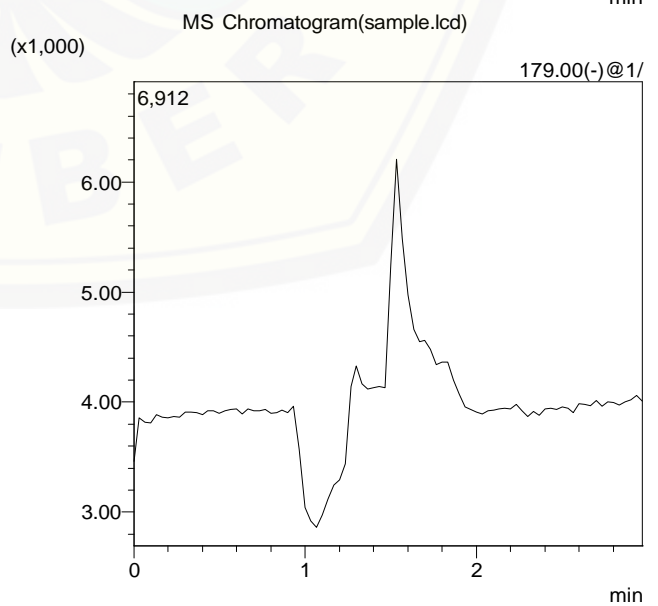
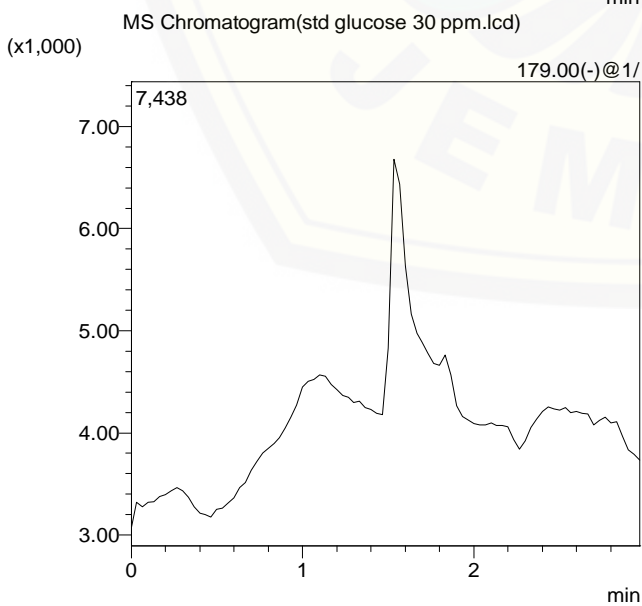
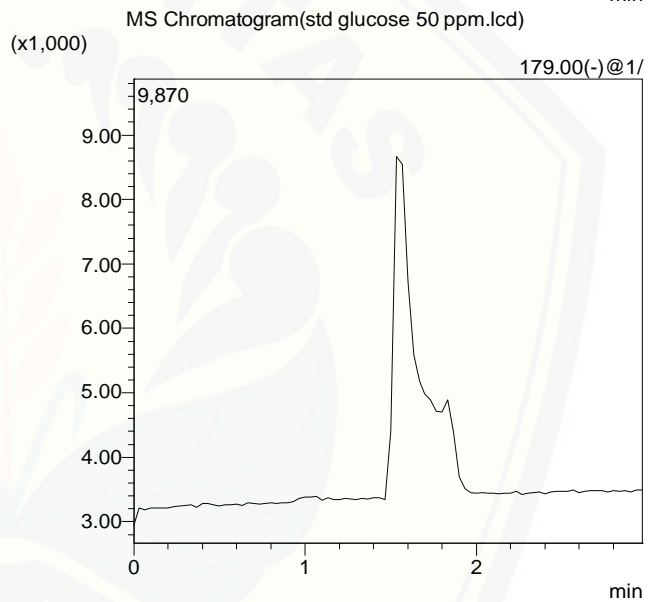
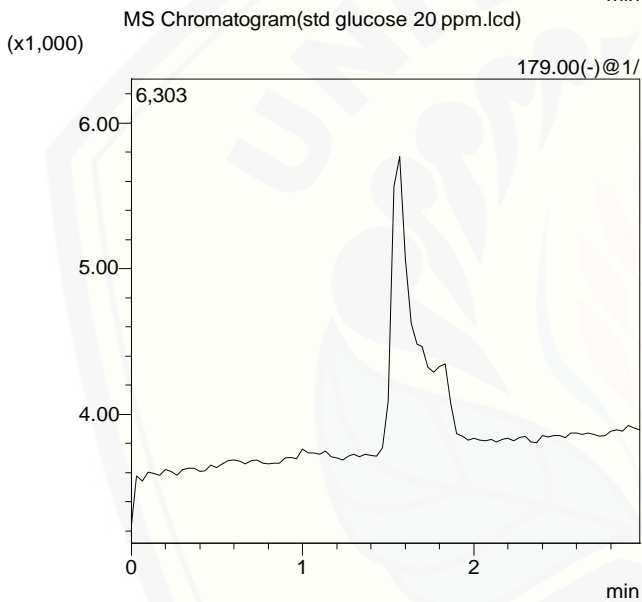
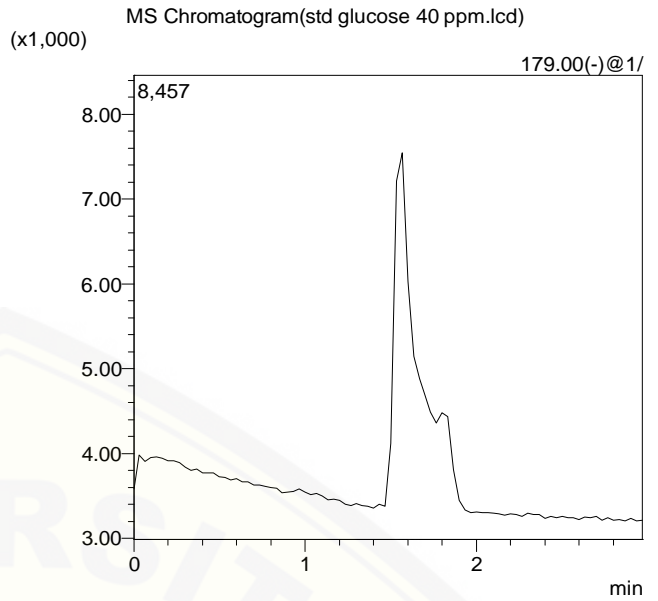
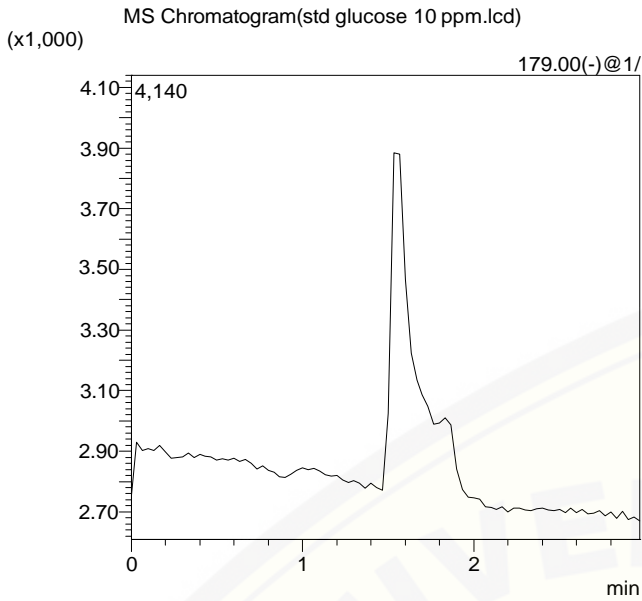


#	Conc.(Ratio)	MeanArea	Area
1	10	41481	41481
2	20	57396	57396
3	30	83068	83068
4	40	105240	105240
5	50	129647	129647

ID#1 Compound Name: RT:3.200

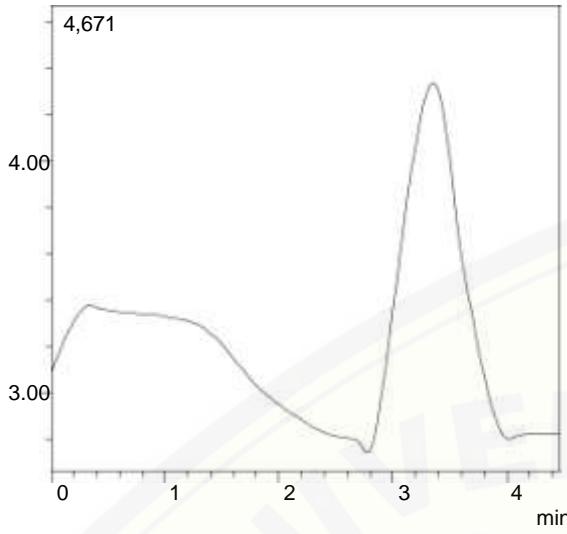
Title	Ret. Time	Area	Height	Std. Conc.	Conc.
std fructose 10 ppm.lcd	3.199	41481	2515	10.0 ppm	11.3 ppm
std fructose 20 ppm.lcd	3.197	57396	2926	20.0 ppm	18.4 ppm
std fructose 30 ppm.lcd	3.195	83068	4885	30.0 ppm	29.9 ppm
std fructose 40 ppm.lcd	3.197	105240	5931	40.0 ppm	39.8 ppm
std fructose 50 ppm.lcd	3.206	129647	7344	50.0 ppm	50.6 ppm
sampel.lcd	3.233	56129	1483	--	17.9 ppm
Average	3.204	78827	4181		28.0 ppm
%RSD	0.448	42.711	53.690		53.685
Maximum	3.233	129647	7344		50.6 ppm
Minimum	3.195	41481	1483		11.3 ppm

Chromatogram LCMS Glukosa

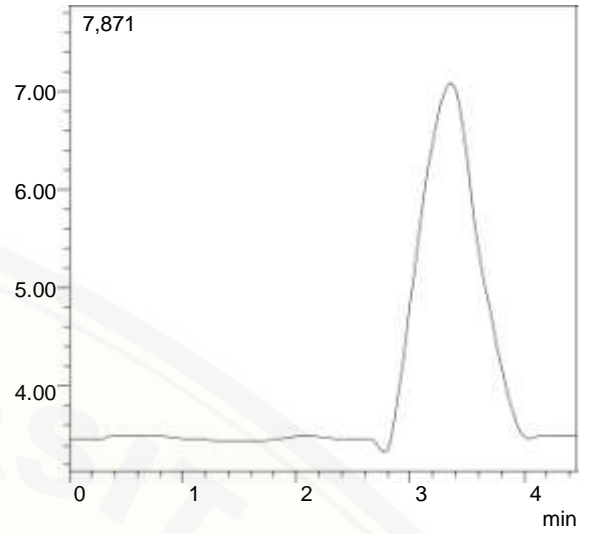


Chromatogram LCMS Fruktosa

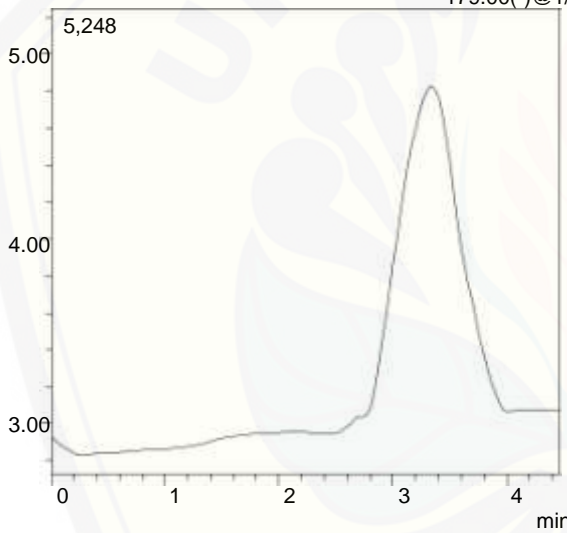
MS Chromatogram(std fructose 10 ppm.lcd)
(x1,000) 179.00(-)@1/



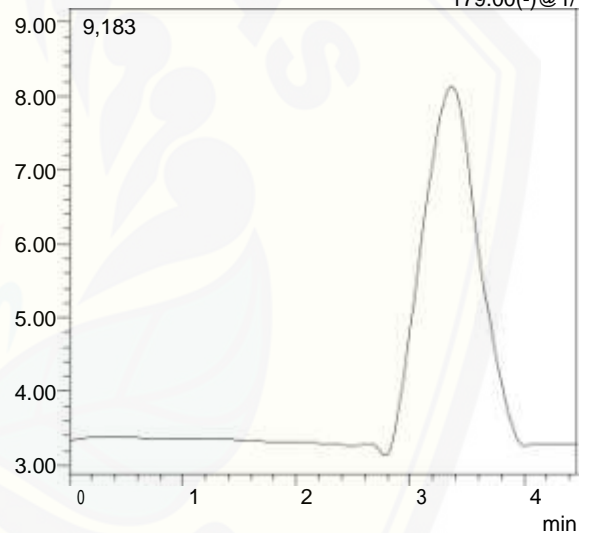
MS Chromatogram(std fructose 40 ppm.lcd) 179.00(-)@1/



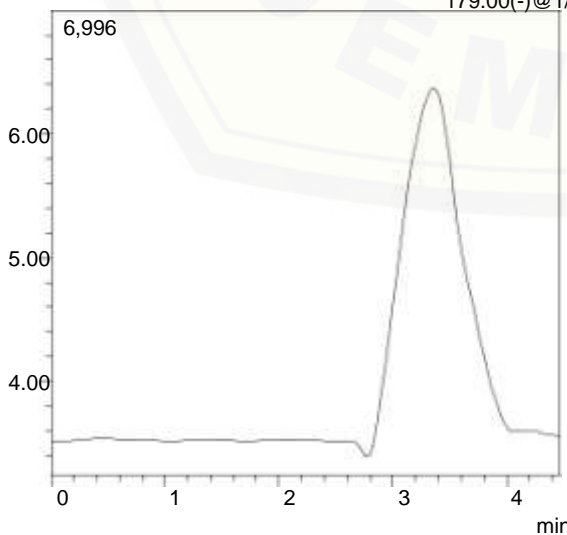
MS Chromatogram(std fructose 20 ppm.lcd)
(x1,000) 179.00(-)@1/



MS Chromatogram(std fructose 50 ppm.lcd)
(x1,000) 179.00(-)@1/



MS Chromatogram(std fructose 30 ppm.lcd)
(x1,000) 179.00(-)@1/



MS Chromatogram(sampel.lcd)
(x1,000) 179.00(-)@1/

