

Pembuatan “High Fructose Syrup” Dari Tepung Maizena Secara Enzimatis (The Making Of High Fructose Syrup From Cornmeal Flour Through Enzymization)

Mahreni dan Endang Sulistyowati
Pengajar Jurusan T. Kimia, FTI UPN “Veteran” Yogyakarta
Jl. SWK 104 Lingkar Utara Condong Catur Yogyakarta 55283
Telp/Fax : 0274 486889
e-mail : Mahreni@eudoramail.com

Abstrak

Tepung maizena bisa digunakan sebagai bahan baku untuk membuat sirup fruktosa dengan bantuan enzim glukoisomerase sebagai katalis untuk mengkonversi glukosa menjadi fruktosa. Fruktosa ini memiliki tingkat kemanisan yang jauh lebih tinggi dari glukosa.

Proses dilakukan melalui dua tahap yaitu tahap hidrolisis tepung menjadi glukosa secara kimia dengan menggunakan katalis HCl kemudian dilanjutkan dengan konversi glukosa menjadi fructose dengan bantuan enzim katalis glukoisomerase.

Tahap hidrolisis dilakukan dengan mencampur 50 gram tepung maizena dan 15 ml HCl 21 % didalam labu leher tiga yang dilengkapi dengan pengaduk dan pendingin balik pada suhu 100°C selama 3 jam. Glukosa yang dihasilkan dipekatkan kemudian 50 ml glukosa pekat dicampur dengan enzim dipanaskan sampai 60°C dan waktu reaksi divariasi. Dari proses tersebut didapatkan kondisi terbaik sebagai berikut:

Untuk 50 ml glukosa, waktu reaksi 150 menit, konsentrasi enzim 1,2 g/l. Fruktosa yang didapat = 258,3 g/l. Reaksi isomerisasi glukosa menjadi fructose dengan enzim glukjoisomerase mengikuti persamaan Michaelis- Menten orde satu, dengan harga $K_m = 0,063 M$ dan $V_{mak} = 0,0167 \text{ mol/l menit}$

Abstract

Cornmeal flour can be used as raw material to make fructose syrup by the help of glucoisomerase enzyme as a catalyst to convert glucose into fructose. Fructose has the sweetness degree that is much more than glucose.

The process is done through two stages, i.e., hydrolysis stage where flour become glucose chemically using HCl catalyst and then continued by converting glucose into fructose by the help of the enzyme of glucoisomerase catalyst.

The hydrolysis stage is made by mixing 50-gram cornmeal flour and 15 ml HCl 21% in a three-neck flash equipped a stirring spoon and a reversible cooler at 100°C for three hours. The produced glucose is concentrated and then 50 ml concentrated glucose mixed with the enzyme is heated to 60°C and the reaction time is varied. From that process, it is obtained the best condition as follows:

For 50 ml glucose, the reaction time is 150-minutes, the concentration of the enzyme is 1.2 g/l. The fructose found = 258.3 g/l. The isomeration reaction of glucose into fructose by glucoisomerase enzyme follows the equation of one-order Michaelis-Menten, with $K_m = 0.063 M$ and $V_{max} = 0.0167 \text{ mol/l minute}$.

1. Pendahuluan

Kebutuhan gula sebagai bahan pemanis semakin meningkat. Kenaikan jumlah impor dan ekspor gula tebu dari tahun 2000 – 2001 dapat dilihat pada tabel 1, yang dikutip dari BPS (Balai Pusat Statistik) :

Tabel 1 : Data Import-Ekspor Gula Tebu pada tahun 2000 - 2001 dari Balai Pusat Statistik

Tahun	Gula Tebu	
	Import	Ekspor
2000	989.297.726 kg	5.114.552 kg
2001	1.025.980.395 kg	4.934.924 kg

Kekurangan bahan pemanis alam (gula tebu) mendorong untuk mengkonsumsi gula sintetis misalnya : sakarin (biang gula) dan natrium siklamat (bibit gula). Akan tetapi, bahan pemanis buatan tidak bisa menggantikan bahan pemanis alam karena kadar penggunaannya dibatasi oleh peraturan kesehatan di banyak negara termasuk di Indonesia, yaitu sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No : 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan.

Untuk mengatasi masalah tersebut perlu dikembangkan bahan pemanis lain yang bukan sukrosa (gula yang kita kenal sehari-hari) yaitu fruktosa. Mengingat fruktosa mempunyai tingkat kemanisan yang lebih tinggi daripada sukrosa. Bahan utama dipakai jagung dalam bentuk tepung, yaitu tepung maizena. Hal ini dikarenakan kadar karbohidrat yang terkandung didalam jagung cukup tinggi, apabila dibandingkan dengan kadar karbohidrat yang terdapat di dalam ubi kayu, ubi jalar dan padi. Serta harganya yang relatif murah, dan dapat berproduksi tinggi.

2. Tinjauan Pustaka

1. Kandungan gizi tepung jagung.

Kandungan gizi di dalam tepung jagung dalam perbandingan dengan tepung padi, ubi kayu, ubi jalar dapat dilihat pada table 2.

Tabel 2 : Komposisi unsur nutrisi; ubi kayu, ubi jalar, beras dan jagung (per 1000 gram). (Diadaptasi dari First International Symposium on Tropical Roof Crops, 1967; Holleman & Alen, 1956; & Jones, 1959)

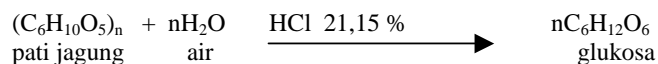
	ubi kayu	ubi jalar	padi		jagung	
			tumbuk	giling	berasan	maizena
Air, gram	625	700	130	130	120	120
Riboflavin, mg	0,3	0,5	4,5	0,3	1,1	0,8
Niasin, mg	6	7	46	16	20	46
Thiamin, mg	0,6	1	3,3	0,8	4,5	1,8
Vitamin C, mg	360	230	na	na	na	na
Vitamin A, I U	trace	5.000	0	0	4.500	3.006
Besi, mg	7	1	14	9	23	12,1
Kalsium, mg	330	340	150	100	210	50
Lemak, gram	3	4	18	7	43	12,1
Protein, gram	12	13	75	67	95	84
Karbohidrat, gr	347	273	767	787	729	773
Energi, kalori	1.460	1.170	na	na	na	na

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa tepung maizena memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi yaitu sebesar 773 gram per 1000 gram maizena, sehingga sangat memungkinkan untuk dijadikan sebagai bahan baku sirup fruktosa.

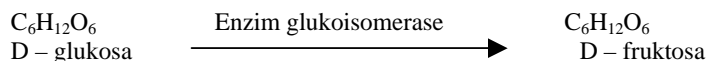
2. Proses Pembuatan HFS Dari Tepung Maizena Secara Umum

Secara umum proses pengubahan pati menjadi fruktosa terbagi atas dua tahap :

1). Proses pengubahan pati jagung (maizena) menjadi glukosa. Yaitu proses pemecahan pati jagung dengan bantuan HCl 21,15 % pada suhu 100 °C menjadi glukosa (Gamman & Sherrington, 1981) :



2). Proses perubahan glukosa menjadi fruktosa, yang dilakukan pada suhu 60 °C dan pH 8,2 dengan bantuan enzim glukoisomerase (Soeharsono M, 1993):



Katalisator dalam proses pengubahan sirup glukosa menjadi sirup fruktosa dapat diperoleh dari : *Lactobacillus brevis*, *Pseudomonas hydrophila*, *Streptomyces phalochromogenes*, dan *Streptomyces albus*. Atau dengan menggunakan enzim yang sudah dimurnikan dengan merek dagang *sweetzyme type A* atau *sweetzyme type Q*, dari NOVO-Denmark. (Soebijanto, 1993)

Produktivitas enzim glukoisomerase, dipengaruhi faktor-faktor sebagai berikut :

- Suhu operasi
Semakin tinggi suhu operasi, makin besar aktivitas enzim, tetapi menurunkan stabilitasnya, serta pembentukan warna makin banyak pula. Suhu operasi yang dianjurkan adalah sekitar 60°C.
- pH
pH dari bahan yang akan diolah juga akan mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim. Aktivitas enzim glukoisomerase maksimum dicapai pada pH sekitar 7,8 – 8,3, dan aktivitas menurun dengan cepat pada pH dibawah 7. Enzim menjadi tidak aktif pada pH dibawah 5 dan diatas 9. Stabilitas enzim tertinggi dicapai pada pH sekitar 7 – 8. Stabilitas turun dengan cepat pada pH di atas 8,5 dan di bawah 6,5. Meskipun pada pH tinggi pembentukan warna makin banyak, namun karena waktu tinggal yang relatif pendek, serta dapat dihilangkan dengan pemberian karbon aktif, maka pH pemasukan sebaiknya diatur sekitar $8,2 \pm 0,1$, agar pH keluaran sekitar 7 – 8 (pH disini diukur pada 25°C).
- Waktu kontak
Agar pembentukan hasil samping, misalnya zat warna, dapat ditekan seminimal mungkin, waktu kontak diatur secepat mungkin, biasanya sekitar 1 – 2 jam.
- Aktivator
Aktivitas enzim akan meningkat dengan penambahan aktivator yang sesuai. Ion magnesium adalah aktivator yang baik untuk enzim glukoisomerase. Jumlah ion magnesium yang dibutuhkan biasanya sekitar 1×10^{-3} sampai 5×10^{-3} mol/L.
- Konsentrasi substrat
Untuk larutan dekstrosa dari hasil hidrolisis pati, konsentrasi dekstrosa di dalam larutan (disebut DX) normalnya berkisar antara 93 – 96 %. Berdasarkan uraian tersebut diatas, sejenak sebelum sirup dekstrosa dimasukkan ke dalam kolom isomerisasi, sirup tersebut harus diatur agar dapat memenuhi syarat-syarat sebagai berikut :PH = 8,2 (diukur pada 25°C), suhu: 60°C, kandungan bahan kering = 40 % berat, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,1 g/L atau lebih (Soebiyanto, 1993, http://www.uspto.gov, 4,025,389_files)

3. Model - model reaksi enzimatik

Ada beberapa jenis model kinetika reaksi, diantaranya :

1) Model kinetika Michaelis-Menten. Di dalam model ini, mula-mula terjadi reaksi antara substrat (S) dan enzim (E) yang membentuk senyawa kompleks enzim-substrat [ES], dengan konstanta kecepatan k_1 . Kompleks enzim-substrat [ES] kemudian mengalami dua kemungkinan penguraian yaitu kembali terurai menjadi E dan S dengan kecepatan k_{-1} atau melanjutkan reaksi konstanta kecepatan k_2 menjadi produk (P) dan enzim (E).

2). Pada umumnya, reaksi katalisa enzim melibatkan minimal dua substrat. Dan biasanya salah satu jenis substratnya adalah air, yang konsentrasinya konstan dan sama dengan atau lebih besar 1000 kali bila dibandingkan dengan konsentrasi substrat yang lain. Biasanya pada reaksi dengan dua substrat, muncul sebuah ternary kompleks, yang bisa dibentuk dengan dua substrat yang terikat pada enzim. Mula-mula enzim (E) dan Substrat-1 (S_1) membentuk kompleks enzim-substrat1 (ES_1) dengan konstanta kecepatan k_1 . Kemudian senyawa kompleks enzim-substrat (ES_1) ditambahkan lagi dengan Substrat2 (S_2) dengan konstanta kecepatan k_2 , membentuk ternary kompleks ES_1S_2 . Setelah itu ternary kompleks ES_1S_2 mengalami penguraian menjadi produk (P) dan enzim (E) dengan konstanta kecepatan k_3 :

3). Kompetitif inhibitor mempunyai persamaan struktur yang kuat terhadap substratnya, sehingga inhibitor dan substrat sama-sama bersaing untuk meraih posisi aktif dari sebuah enzyme. Pembentukan kompleks enzim-inhibitor dapat mengurangi jumlah enzim untuk berinteraksi dengan substrat dan akibatnya laju reaksi menurun. Sebuah kompetitif-inhibitor secara normal dapat bergabung dengan enzim secara reversible. Oleh karena itu, efek dari inhibitor dapat diminimalkan dengan meningkatkan konsentrasi substrat. Jika tidak, konsentrasi substrat akan mejadi lebih besar bila dibandingkan dengan konsentrasi substrat pada saat substrat menghambat reaksi. Mekanisme kompetitif inhibitor dapat digambarkan sebagai berikut. Mula-mula enzim (E) dan substrat (S) membentuk senyawa kompleks enzim-substrat (ES) dengan konstanta kecepatan k_1 : Kemudian enzim (E) dan inhibitornya (I) juga membentuk senyawa kompleks enzim-substrat (EI) dengan konstanta kecepatan k_3 : Namun, karena konsentrasi substrat dibuat lebih besar daripada konsentrasi inhibitornya, maka senyawa kompleks enzim-substrat (ES) lah yang akan terurai menjadi enzim (E) dan produk (P) :

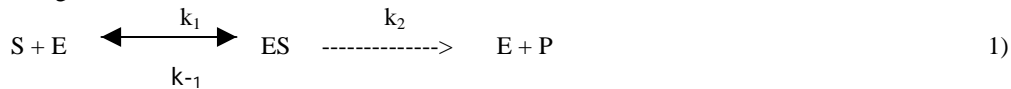
4). Non kompetitif inhibitor berinteraksi dengan enzim dengan cara yang bermacam-macam. Mereka dapat mengikat enzim secara reversible atau pun irreversible pada sisi aktif enzim atau pada sisi lainnya. Pada beberapa kasus, senyawa kompleksnya adalah non aktif. Mekanisme non kompetitif inhibitor adalah sebagai berikut. Mula-mula enzim (E) dan substrat (S) membentuk senyawa kompleks enzim-substrat (ES) dengan konstanta kecepatan k_1 . Kemudian senyawa kompleks enzim-substrat berikatan lagi dengan inhibitorynya membentuk senyawa kompleks enzim-substrat-inhibitor (ESI) dengan konstanta kecepatan k_3 . Karena substrat dan inhibitor tidak saling bersaing untuk mendapatkan posisi yang sama, maka dapat diasumsikan bahwa senyawa kompleks enzim-substrat (ES) akan terurai kembali menjadi enzim (E) dan produk (P) dengan konstanta kecepatan k_5 :

5). Beberapa variasi dari mekanisme untuk non kompetitif inhibitor dapat terjadi. Salah satu contoh kasus adalah kompetitif inhibitor parsial. Mula-mula enzim (E) dan substrat (S) membentuk senyawa kompleks enzim-substrat (ES) dengan konstanta kecepatan k_1 . Kemudian senyawa kompleks enzim-substrat (ES) berikatan dengan inhibitorynya (I) membentuk senyawa kompleks enzim-substrat-inhibitor (ESI) dengan konstanta kecepatan k_3 . Dan karena substrat dan enzimnya saling bersaing untuk mendapatkan posisi aktif enzim, maka senyawa kompleks enzim-substrat-inhibitor (ESI) akan terurai menjadi senyawa kompleks enzim-inhibitor (EI) dan produk (P) dengan konstanta kecepatan k_5 . Namun, untuk reaksi isomerisasi glukosa menjadi fruktosa ini lebih tepat bila menggunakan model kinetika reaksi yang pertama. Karena dalam penelitian ini diasumsikan hanya ada satu jenis substrat (yaitu glukosa) dan tidak terdapat adanya inhibitor. (James M. Lee, 1991)

3. Landasan Teori

Pada penelitian ini, model kinetika yang dipakai adalah model kinetika Michaelis – Menten.

Model kinetika reaksi enzimatik dengan nisbah konsentrasi enzim awal dan substrat awal yang kecil, dapat dianggap mengikuti model kinetika Michaelis – Menten (Bailey and Ollis, 1994), dengan mekanisme reaksi sebagai berikut :



S = konsentrasi substrat

E = konsentrasi enzim glukoisomerase

ES = konsentrasi senyawa intermediate (senyawa kompleks)

P = konsentrasi produk

Persamaan laju reaksinya dinyatakan dengan kecepatan pembentukan produk terhadap waktu (dP/dt) atau dapat ditulis :

$$V = dP / dt = k_2 [ES] \quad 2)$$

Dimana :

V = Laju reaksi

dP/dt = kecepatan pembentukan produk terhadap waktu

[ES] = konsentrasi senyawa kompleks (enzim substrat)

Namun, pada kenyataannya [ES] sulit untuk diukur karena selalu terjadi kesetimbangan. Sehingga setiap [ES] terbentuk, selalu terurai menjadi enzim (E) dan produk (P). Dari sini dapat diasumsikan bahwa kecepatan pembentukan senyawa kompleks enzim-substrat terhadap waktu adalah sama dengan nol. Atau dapat dinyatakan seperti berikut :

$$d[ES] / dt = 0 = k_1 [E][S] - k_{-1} [ES] - k_2 [P] \quad 3)$$

Untuk mengetahui konsentrasi [ES], dapat dengan menggunakan neraca massa enzim, dimana konsentrasi enzim setiap saat [E] adalah sama dengan konsentrasi enzim mula-mula [E₀] dikurangi konsentrasi kompleks enzim-substrat [ES].

$$E = E_0 - [ES] \quad 4)$$

Dengan melihat koefisien stoikiometri persamaan reaksi (1) di atas, bahwa konsentrasi senyawa kompleks enzim-substrat [ES] adalah sama dengan konsentrasi produk [P].

$$P = [ES] \quad 5)$$

Konsentrasi senyawa enzim-substrat [ES] dapat diperoleh dengan jalan mensubstitusikan persamaan (4) dan (5) ke dalam persamaan (3), sehingga akan diperoleh :

$k_1 [E_0][S] - k_1 [ES][S] = [ES]\{k_{-1} + k_2\}$ atau dapat ditulis

$$[ES] = \frac{k_1 [S][E_0]}{k_1 [S](k_{-1} + k_2)} \quad (6)$$

Kemudian dari persamaan (5), masing-masing pembilang dan penyebutnya dibagi dengan k_1 , maka akan diperoleh konsentrasi enzim substrat sebesar :

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{[S]\{k_{-1} + k_2\}/k_1} \quad (7)$$

Untuk mendapatkan persamaan yang lebih sederhana lagi, dapat diasumsikan $\{k_{-1} + k_2\} / k_1 = K_m$, dimana K_m merupakan tetapan kesetimbangan disosiasi $[ES]$, persamaan tersebut dapat dituliskan kembali menjadi

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{[S] + K_m} \quad (8)$$

Laju reaksi dari persamaan reaksi (1) dapat diperoleh dengan jalan mensubstitusikan persamaan (8) ke dalam persamaan (2) :

$$V = \frac{k_2 [E_0][S]}{[S] + K_m} \quad \dots\dots\dots 9)$$

Jika $k_2 [E_0]$ diasumsikan sama dengan V_{max} maka persamaan (9) dapat dituliskan kembali menjadi :

$$V = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_m} \quad \dots\dots\dots 10)$$

Untuk memperoleh harga seper-laju reaksi ($1/V$), persamaan (8) dapat dibalik menjadi :

$$1/V = \frac{[S] + K_m}{V_{max} [S]} \quad \text{atau}$$

$$1/V = 1/V_{max} + K_m/V_{max} (1/[S]) \quad \dots\dots\dots 11)$$

dimana :

$1/V$ = seper-laju reaksi

$1/[S]$ = seper-konsentrasi substrat

Persamaan (11) ini dikenal sebagai metode Lineweaver – Burk untuk menentukan harga V_{max} dan K_m .

4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kondisi operasi optimum dengan variabel konsentrasi enzim glukoisomerase dan waktu reaksi terhadap kualitas sirup yang dihasilkan.

5. Jalannya percobaan

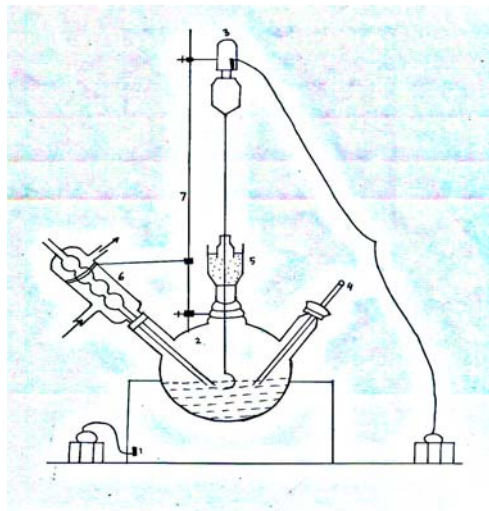
1) Bahan – Bahan

Tepung maizena, hasil analisis menunjukkan : kadar air = 13,01 % dan kadar karbohidrat = 85,89 %.

Enzim glukoisomerase produk NOVO, didapat dari PT. Tainesia Jaya, Solo. Aquadest, HCl 21,15 %, karbon aktif, Na_2CO_3 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Glukosa standar, Reagensia Nelson A dan Nelson B

2) Gambar Alat

Rangkaian alat pembuatan sirup glukosa



Keterangan gambar :

1. Kompor pemanas
2. Labu leher tiga
3. Motor pengaduk
4. Termometer
5. Pengaduk merkuri
6. Pendingin balik
7. Statif

Gambar 1 : Rangkaian alat pembuatan sirup glukosa

3) Cara Kerja

Pembuatan Glukosa

Lima puluh g tepung maizena ditambahkan 500 mL aquades, dimasukkan ke dalam labu leher tiga. Gabus penutup dirapatkan & pemanas dihidupkan. Kemudian pendingin balik & pengaduk dijalankan. Setelah larutan mendidih ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), 15 mL katalisator HCL 21,15 % dimasukkan ke dalam labu. Saat itu merupakan awal reaksi hidrolisis dengan waktu 3 jam. Kemudian ditambahkan karbon aktif. Glukosa yang dihasilkan setelah perlakuan karbon dinetralkan dengan Na_2CO_3 , disaring dengan pompa vacuum. Lalu dipekatkan dengan cara destilasi. Hasil akhir yang didapat adalah sirup glukosa, dan dianalisa kandungan glukosanya dengan menggunakan spektrofotometer-20.

Pembuatan Fruktosa.

Lima puluh mL sirup glukosa hasil pemekatan dimasukkan dalam labu leher tiga, ditambahkan Na_2CO_3 untuk mempertahankan pH glukosa, yaitu 8,2 Larutan dipanaskan pada suhu 60°C untuk mengusir oksigen selama 10 menit, selanjutnya ditambahkan 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ & enzim glukoisomerase dengan konsentrasi tertentu. Kemudian labu ditutup dengan sangat rapat, pengaduk dijalankan, suhu dijaga konstan & setiap waktu tertentu diambil sampel untuk dianalisis kadar fruktosanya dengan menggunakan spektrofotometer-20.

5. Hasil dan pembahasan

1). Sirup Glukosa

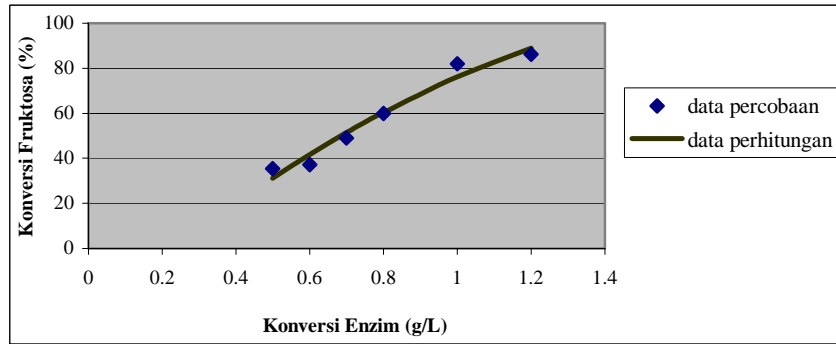
Sirup glukosa diperoleh dari tepung maizena 50 g dan aquades 500 mL, yang dihidrolisis dengan katalisator HCl 21,15 %, 15 mL selama 3 jam. Yang kemudian dijernihkan dengan karbon aktif dan dinetralkan dengan Na_2CO_3 . Selanjutnya, disaring dengan pompa vacuum dan dipekatkan dengan cara destilasi, dan dianalisa kadar glukosanya dengan spektrofotometer-20. Diperoleh hasil analisa glukosa sebesar 270,25 g/L.

2). Pengaruh Konsentrasi Enzim Glukosaisomerase Terhadap Konversi Fruktosa Hasil Isomerisasi Glukosa

Suhu: 60°C , pH : 8,2,; waktu : 1,5j; volume glukosa: 50 m; konsentrasi glukosa : 270,25 g/l; berat MgSO_4 : 0,1g

Tabel 3 : Pengaruh konsentrasi enzim glukoisomerase terhadap konversi fruktosa hasil isomerisasi glukosa

No.	Konsentrasi Enzim (g/L)	Konsentrasi Fruktosa Rerata (g/L)	Konversi (%)
1.	0,5	95,82	35,46
2.	0,6	100,78	37,29
3.	0,7	132,37	48,98
4.	0,8	161,8	59,87
5.	1	221,45	81,94
6.	1,2	232,9	86,18



Gambar 4 : Grafik hubungan antara konsentrasi enzim glukoisomerase dengan konversi fruktosa hasil isomerisasi

Dari tabel 3 dan gambar 4, dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi enzim konversi fruktosa yang diperoleh juga semakin besar. Akan tetapi setelah konsentrasi enzim mencapai 1 g/L, konversi fruktosa relatif konstan karena kemampuan pembentukan kompleks enzim substrat mulai mencapai keseimbangan sehingga penambahan enzim sangat sedikit mempengaruhi jumlah produk
Dimana,

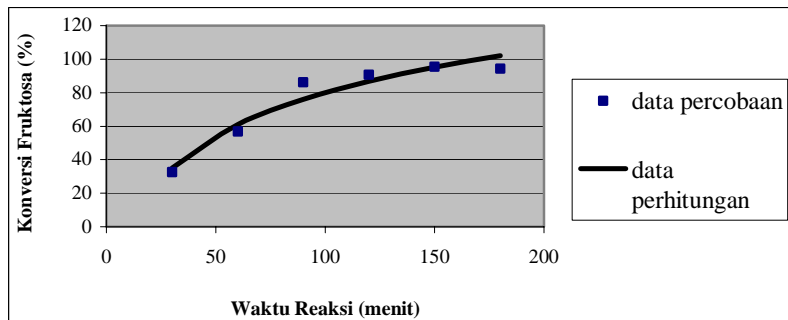
3) Pengaruh Waktu Reaksi Terhadap Konversi Fruktosa Hasil Isomerisasi Glukosa

Suhu: 60°C; pH : 8,2; berat enzim: 1,2 g/L (dari percobaan I); volume glukosa: 50 mL

Konsentrasi glukosa: 270,25 g/L ; berat MgSO₄: 0,1g

Tabel 4 : Pengaruh waktu reaksi terhadap konversi fruktosa hasil isomerisasi glukosa

No.	Waktu Reaksi(menit)	Konsentrasi Fruktosa Rerata (g/L)	Konvers (%)
1.	30	88,4	32,7105
2.	60	153,5	56,7993
3.	90	232,9	86,1795
4.	120	244,7	90,5458
5.	150	258,3	95,5782
6.	180	255,1	94,3941



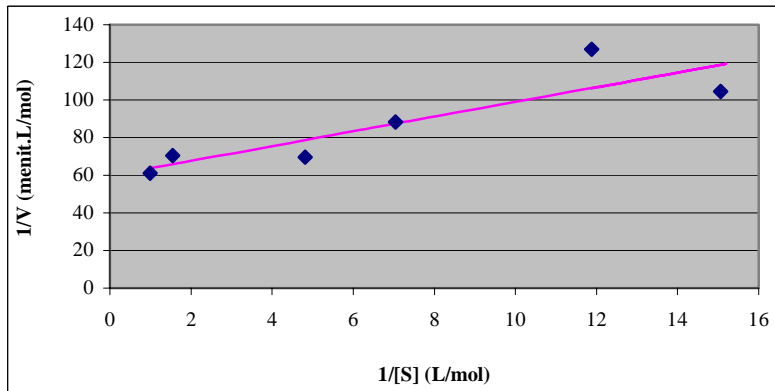
Gambar 5 : Grafik hubungan antara waktu dengan konversi fruktosa hasil isomerisasi

Dari tabel 4 dan gambar 5 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu reaksi, semakin tinggi konversinya. Berarti semakin banyak pula jumlah glukosa yang terisomerisasi. Dapat dilihat pula bahwa laju pembentukan produk semakin lama semakin berkurang, hal ini disebabkan stabilitas enzim semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu.

4). Menentukan Konstanta Michaelis Menten dan Kecepatan Maksimum
 Glukosa awal: 1,5014 mol/L

Tabel 5 : Hubungan antara waktu reaksi terhadap produksi

No.	Waktu reaksi (menit)	Fruktosa hasil (mol/L)	Glukosa Sisa [S] (mol/L)	Laju (V) (mol/L.men)	1/[S] (L/mol)	1/V (men.L/mol)
1.	30	0,4911	1,0103	0,0164	0,9898	61,086
2.	60	0,8528	0,6486	0,0142	1,5417	70,3583
3.	90	0,2939	0,2075	0,0144	4,819	69,5578
4.	120	0,3594	0,142	0,0113	7,0445	88,2714
5.	150	1,435	0,0664	0,0096	15,06	104,53
6.	180	1,4172	0,0842	0,0079	11,88	127,009



Gambar 6 : Grafik hubungan antara 1/[S] dengan 1/V

Hubungan antara konsentrasi waktu dengan konversi fruktosa dapat dinyatakan dengan persamaan : $1/V = 3,8968 \cdot 1/[S] + 59,956$ Dimana, $K_m/V_{max} = 3,8968$ $1/V_{max} = 59,956$
 Dari gambar 6 dapat dilihat bahwa hubungan antara 1/[S] terhadap 1/V merupakan garis lurus dengan kesalahan sebesar 1,27 %.

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa reaksi isomerisasi glukosa menggunakan enzim glukoisomerase mengikuti persamaan Michaelis-Menten orde satu, dengan harga $K_m = 0,065$ M dan $V_{max} = 0,0167$ mol/L.menit

7. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka didapat kesimpulan sebagai berikut :

1. Tepung maizena dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan fruktosa.
2. Dari proses isomerisasi glukosa diperoleh kondisi yang relatif optimal :
 Volume glukosa : 50 m; konsentrasi glukosa : 270,25 g/L; berat $MgSO_4$: 0,1 g; waktu operasi: 150 menit; konsentrasi enzim glukoisomerase: 1,2 g/L Diperoleh, fruktosa : 258,3 g/L atau konversi 95,58 %.
3. Reaksi Isomerisasi glukosa menjadi fruktosa menggunakan enzim glukoisomerase mengikuti persamaan Michaelis-Menten orde satu, dengan harga $K_m = 0,065$ M dan $V_{max} = 0,0167$ mol/L.menit

Daftar Pustaka

Bailey, J.E. and Ollis, D.F., 1990, "Biochemical Engineering Fundamentals", 2nd ed, Mc.Graw Hill Internatinal Editions, Singapore.

Gamman, P.M. and Sherrington, K.B., 1981, "The Science of Food", 2nd ed, Pergammon Press, Singapore.

http://www.google.com/enzyme nomenclature.htm/ecr_1165.htm

http://www.uspto.gov, 4,025,389_files.

M. Lee, James, 1991, "Biochemical Engineering", Prentice Hall, New Jersey.

M, Soeharsono, 1993, "Biokimia", Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No : 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan.

Soebijanto, P.T., 1993, "HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya", PT Gramedia, Jakarta.