

KOMBINASI ENZIM POLIGALAKTURONASE DAN ENZIM PEKTINESTERASE PADA KLARIFIKASI SARI BUAH NAGA SUPER MERAH (*Hylocereus Costaricensis*) DALAM PEMBUATAN SIRUP

COMBINATION OF POLYGALACTURONASE AND PECTINESTERASE ENZYME IN SUPER RED DRAGON FRUIT (*Hylocereus costaricensis*) JUICE CLARIFICATIONS FOR SYRUP PRODUCTION

Esti Widowati, Ardhea Mustika Sari, Rokhimah Sudarmi Ningsih

Program Studi Ilmu Teknologi Pangan, Universitas Sebelas Maret

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Jebres Surakarta 57126

Email : esti_widowati@yahoo.com, estiwidowati@staff.uns.ac.id

Diserahkan [5 Desember 2019]; Diterima [30 Januari 2020]; Dipublikasi [19 Februari 2020]

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the effect of polygalacturonase enzyme (PG) from *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 0.09%, 0.1%, and 0.11% concentration combine with pectinesterase enzyme (PE) from *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 0.5%, 1%, and 1.5% concentration on the super red dragon fruit juice clarification in syrup production based in pH, total soluble solids, transmittance, and viscosity. Polygalacturonase enzyme hydrolyzed the α -1,4- D-glycosidic form galacturonic acid while the pectinesterase enzyme broke the metoxyl group of pectin form pectat acid. Both PG and PE enzymes worked together to hydrolyze pectin. Pectinesterase catalyzed pectin become pectat acid as the substrate for polygalacturonase. In the lower acid degree, polygalacturonase and pectinesterase enzyme combination cause the viscosity and total soluble solid decreased. Degradation of pectin cause the transmittance of super red dragon fruit syrup increased. The result of this research were obtained a partially purified polygalacturonase enzyme with enzyme activity 0.31 U/ml while the pectinesterase enzyme activity was 1.167 U/ml. Samples with the addition 0.11% concentration of polygalacturonase enzyme and 0.5% concentration of pectinesterase enzyme with pH value of 4.303, total soluble solid value of 38.133°Brix, transmittance value of 74.5%T, and viscosity value of 0.128cP was selected sample.

Keywords: clarification, enzyme, fruit syrup, pectin, pectinesterase, polygalacturonase, super red dragon fruit

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan enzim poligalakturonase (PG) bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 pada konsentrasi 0,09%, 0,1%, dan 0,11 % dengan enzim pektinesterase (PE) *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 pada konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5% pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terhadap parameter pH, total padatan terlarut, transmitansi, dan viskositas. Enzim poligalakturonase menghidrolisis ikatan α -1,4- D-glikosidik membentuk asam galakturonat. Enzim pektinesterase bekerja pada ikatan ester senyawa pektin sehingga dihasilkan asam pektat. Enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase bekerja secara sinergis. Enzim pektinesterase mengkatalis pektin menjadi asam pektat yang merupakan substrat untuk enzim poligalakturonase. Pada pH yang rendah, penggunaan enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase dapat menurunkan viskositas dan nilai total padatan terlarut sirup buah naga super merah. Degradasi pektin meningkatkan transmittansi sirup buah naga super merah. Hasil penelitian ini diperoleh enzim poligalakturonase murni parsial dengan aktivitas enzim 0,31 U/ml dan enzim pektinesterase murni parsial dengan aktivitas enzim 1,167 U/ml. Sampel dengan penambahan enzim poligalakturonase 0,11% dan enzim pektinesterase 0,5% dengan nilai pH 4,303, nilai total padatan terlarut 38,133°Brix, nilai transmitansi 74,5% T, nilai viskositas 0,128cP merupakan sampel terpilih.

Kata kunci: buah naga super merah, enzim, klarifikasi, pektin, pektinesterase, poligalakturonase, sirup buah

PENDAHULUAN

Buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) memiliki kandungan nutrisi dan mineral seperti vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3 dan vitamin C, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, glukosa,

fenolik, betasianin, polifenol, karoten, fosfor, besi, dan fitoalbumin (Jaafar *et al.*, 2009). Buah naga segar tidak dapat disimpan lama, karena memiliki kadar air yang tinggi yaitu 90% dan umur simpan 7-10 hari pada suhu 14°C (Farikha, 2013). Salah satu upaya untuk mempertahankan mutu buah naga merah adalah dengan mengolahnya menjadi sirup.

Berdasarkan SNI 3544 (2013) sirup merupakan produk minuman yang dibuat dari campuran air dan gula dengan kadar larutan gula minimal 65% dengan atau tanpa bahan pangan lain dan atau bahan tambahan pangan yang diijinkan sesuai ketentuan yang berlaku. CV. Wana Bakti Handayani telah memproduksi sirup buah naga super merah dengan cara konvensional. Sirup yang diproduksi oleh CV. Wana Bakti Handayani dalam kurun waktu satu bulan menunjukkan adanya endapan di bagian bawah botol kemasan. Endapan tersebut dapat berupa polisakarida seperti pektin dan hemiselulosa yang menyebabkan kekeruhan pada sari buah naga super merah pada umumnya.

Senyawa pektin merupakan senyawa yang terdapat di seluruh jaringan tanaman, terutama sebagai komponen lamella tengah yang berperan sebagai perekat antar dinding sel; bercampur dengan selulosa dan hemiselulosa. Kekeruhan dalam sirup buah dapat diturunkan dengan degradasi pektin.

Menurut Beg *et al.*, (2001) penjernihan sirup dapat dilakukan dengan cara enzimatik yaitu dengan penambahan enzim xilanase, selulase dan pektinase. Degradasi pektin oleh aktivitas enzim dapat menurunkan viskositas sari buah dan meningkatkan rendemen (Plochanski *et al.*, 1998 dalam Sharma *et al.*, 2014). Enzim poligalakturonase bekerja memutus ikatan α -1,4 glikosidik pada rantai asam poligalakturonat secara hidrolisis sehingga dapat menurunkan viskositas sari buah (Ortega *et al.*, 2004; Pedrolli *et al.*, 2009). Enzim pektinesterase bekerja dengan memutuskan ikatan gugus metoksi dari pektin menghasilkan asam pektat dan metanol (Sharma *et al.*, 2014).

Konsentrasi enzim poligalakturonase yang digunakan yaitu 0,09%, 0,1%, 0,11%. Konsentrasi enzim pektinesterase yang digunakan yaitu 0,5%, 1%, 1,5%. Penggunaan kombinasi kedua enzim tersebut diharapkan dapat mengklarifikasi sirup buah naga super merah secara optimal

METODE PENELITIAN

Bahan

Buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) diperoleh dari Keboen Naga

CV Naga Jaya Makmur, Malang, Jawa Timur. Enzim yang digunakan untuk klarifikasi sirup buah naga super merah ialah enzim poligalakturonase didapatkan dari bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 dan enzim pektinesterase bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2. Bahan-bahan analisis antara lain aquadest, yeast extract (OXOID), disodium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4), potasium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), kalium klorida (KCl), amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), *bacteriological agar*, asam asetat (CH_3COOH), natrium asetat (CH_3COONa), barium klorida (BaCl_2) dengan semua bahan bermerek MERCK. Aquades, alkohol 90 %, buffer asetat 0,05 M (pH 5,2), buffer fosfat 0,05 M (pH 7) dan pektin citrus.

Proses Persiapan Isolat

Sebanyak 1 ose kultur koleksi digoreskan pada media pektin agar miring untuk kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 24 jam. Persiapan isolat pada media cair dilakukan dengan menggoreskan 1 ose dari subkultur ke dalam 10 ml media pektin cair. Inkubasi dilakukan pada suhu 55 °C selama 24 jam (Widowati, *et al.*, 2017). Perhitungan sel dilakukan pada saat sebelum dan setelah inkubasi.

Produksi Enzim

Dilakukan dengan cara pembuatan stok inokulum. Setelah melalui proses inkubasi, 10 ml inokulum tersebut ditambahkan 90 ml media pektin cair kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan agitasi 144 rpm pada suhu 55°C. Waktu optimal produksi bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 adalah 10 jam (Widowati, *et al.*, 2017). sedangkan untuk bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 adalah 7 jam (Utami dkk., 2015).

Isolasi dan Ekstraksi Enzim

Sentrifugasi suspensi sel dari hasil inkubasi dalam media pektin cair dengan kecepatan 6.000 rpm, suhu 4°C selama 15 menit.

Pemurnian Parsial Enzim dengan Presipitasi Amonium Sulfat dan Dialisis

Supernatan enzim PG dipresipitasi dengan fraksinasi amonium sulfat 50 % dengan aktivitas tertinggi enzim sebesar 0,09 U/ml (Widowati, *et al*, 2017). Supernatan enzim PE dipresipitasi dengan fraksinasi amonium sulfat 60 % dengan aktivitas tertinggi enzim sebesar 0,093 U/ml (Utami dkk., 2015). Untuk enzim poligalakturonase, nilai kejenuhan 50 % adalah 313 g per liter dengan supernatan 850 ml, sehingga amonium sulfat yang ditambahkan sebanyak = $0,850 \text{ l} \times 313 \text{ g/l} = 266,05 \text{ g}$. Untuk enzim pektinesterase, nilai kejenuhan 60 % adalah 390 g per liter dengan supernatan 850 ml, sehingga amonium sulfat yang ditambahkan sebanyak = $0,850 \text{ l} \times 390 \text{ g/l} = 331,5 \text{ g}$.

Supernatan dibiarkan selama 24 jam pada suhu 4°C . Setelah presipitasi, supernatan disentrifugasi 12.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Disuspensikan dengan buffer asam asetat 0,05 M pH 5,2 (enzim PG) dan buffer asam fosfat 0,05 M pH 7 (enzim PE) perbandingan 1:1.

Kantong dialisis/selofan direndam dalam aquades selama 24 jam. Salah satu ujung kantong dialisis diikat erat dan endapan yang telah didapatkan dari proses presipitasi dimasukkan kedalam ujung kantong dialisis. Ujung lain dari kantong dialisis kemudian diikat untuk mencegah kebocoran. Setelah itu, kantong dialisis direndam dalam gelas kimia yang berisi buffer (sesuai jenis enzim) selama 24 jam pada suhu 4°C sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Pergantian buffer pada proses dialisis, dilakukan sebanyak 3 kali setiap 8 jam sekali selama 24 jam dialisis serta dicek kandungan amonium sulfat dalam larutan dengan meneteskan BaCl_2 1 %. Amonium sulfat akan bereaksi dengan BaCl_2 membentuk endapan putih BaSO_4 . Dialisis dihentikan ketika penambahan BaCl_2 tidak membentuk endapan putih lagi.

Uji Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim PG ditentukan dengan mengukur gula reduksi yang dibebaskan dari pektin dengan menggunakan metode DNS. Sebanyak 0,1 ml enzim ditambah dengan 0,9 ml media pereaksi terdiri dari (0,7 % w/v) pektin sitrus dan 0,025 M buffer natrium

asetat pH 4,8 (Ordonez *et al.*, 1998). Enzim tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit. Aktivitas enzim diukur dengan menambahkan 1 ml reagen DNS, selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C selama 10 menit. Larutan kemudian didinginkan dan diberi K-Na-Tatrat 40 % sebanyak 0,5 ml, lalu divortex. Blanko yang digunakan adalah enzim yang diinaktif dengan perlakuan sesuai dengan sampel enzim. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi disubstitusikan ke dalam persamaan dari kurva standar asam galakturonat. Aktivitas enzim (U/ml) didapatkan dari perhitungan:

Aktivitas poligalakturonase (Unit/ml) =

$$\frac{X}{0,1 \times t \times \text{BM}}$$

Keterangan :

X = jumlah gula tereduksi sampel

T = waktu inkubasi (menit)

BM= BM asam galakturonat (194,139 g/mol)

Untuk aktivitas enzim pektinesterase dilakukan dengan metode titrasi Kertez (1995) pada suhu 30°C dan pH 7. Aktivitas enzim pektinesterase dihitung dengan rumus:

Aktivitas pektinase (Unit/ml) =

$$\frac{(V_s - V_b) \times N \text{ NaOH} \times 1000}{t \times V_t}$$

Keterangan:

Vs = Volume NaOH untuk mentitrasi larutan reaksi (ml)

Vb = Volume NaOH untuk mentitrasi larutan blanko (ml)

N NaOH= 0,01 N

T = Waktu inkubasi (menit)

Vt= Volume enzim (0,2 ml)

Sebanyak 5 ml larutan substrat pektin (*citrus pectin* (SIGMA) 1 % dalam 0,1 M NaCl pH 7) dan 0,2 ml isolat enzim pektinesterase dimasukkan kedalam tabung reaksi dan pH diatur kembali pada pH 7. Campuran diinkubasi pada suhu 30°C dalam *circulating bath* (HAAKE DL 30) selama 30 menit. Setelah itu dilakukan pengukuran pH akhir, lalu pH akhir dikembalikan ke pH awal dengan penambahan NaOH 0,01 N. Volume NaOH 0,01 N yang ditambahkan digunakan untuk penentuan aktivitas enzim.

Larutan pektin 1 % tanpa penambahan enzim dengan perlakuan yang sama digunakan sebagai Blanko.

Penentuan Kombinasi Variasi Konsentrasi Enzim

Tabel 1 Variasi Konsentrasi Enzim Poligalakturonase dan Pektinesterase

| Enzim PG | Enzim PE | | | |
|-------------|-------------|---------------|-------------|---------------|
| | 0 % (B0) | 0,5 % (B1) | 1 % (B2) | 1,5 % (B3) |
| 0 % (A0) | A0B0 | A0B1 | A0B2 | A0B3 |
| 0,09 % (A1) | A1B0 | A1B1 | A1B2 | A1B3 |
| 0,1 % (A2) | A2B0 | A2B1 | A2B2 | A2B3 |
| 0,11 % (A3) | A3B0 | A3B1 | A3B2 | A3B3 |

Pembuatan Sirup Buah Naga Super Merah

Proses pembuatan sirup buah naga super merah meliputi: sortasi buah, pencucian, pengupasan, pemotongan, penghancuran daging buah, perebusan I, perebusan II, pencampuran, pengadukan, pengisian, pasteurisasi, pendinginan, pengemasan. Volume sari buah naga super merah pada setiap sampel ialah 50 ml dengan 16 sampel perlakuan dan 3 kali pengulangan sampel.

Sampel diinkubasi pada suhu 55^oC selama 60 menit. Sampel yang telah diberikan perlakuan dengan enzim, kemudian dicampur dengan air rebusan gula, dan asam sitrat. Sampel dibiarkan pada suhu ruang selama 25 menit dan selanjutnya diujikan nilai pH, total padatan terlarut (TPT), transmitansi dan viskositas.

Pengujian Klarifikasi Sirup Buah Naga Super Merah

pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter. Batang *probe* pH meter dicelupkan kedalam larutan dan pH otomatis akan terlihat pada angka.

Total Padatan Terlarut

Sampel yang akan diuji TPT diteteskan pada area uji *hand refractometer*. Hasil dapat dilihat pada skala tanda batas pengamatan

Transmitansi

Nilai transmitansi dilihat dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum, yaitu 535 nm.

Viskositas

Nilai viskositas diukur menggunakan viskometer *falling ball*. Waktu yang diamati melalui *stopwatch* merupakan waktu yang diperlukan bola untuk jatuh pada jarak tertentu. Viskositas cairan dihitung dengan persamaan berikut:

$$\mu = \frac{t(2gr^2(\rho - \rho_0))}{9d}$$

Keterangan:

- μ = viskositas dinamis (mPa.s)
- t = waktu bola jatuh (s)
- g = gravitasi (cm/s²)
- r = jari-jari bola (cm)
- ρ_0 = densitas sampel (g/cm³)
- ρ = densitas bola (8,1 g/cm³)
- d = jarak

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Klarifikasi Sirup Buah Naga Super Merah

Enzim poligalakturonase (PG) dengan aktivitas enzim murni parsial sebesar 0,31 U/ml diperoleh dari bakteri *Bacillus licheniformis* Strain GD2a AR2, sedangkan enzim pektinesterase (PE) dengan aktivitas enzim murni parsial sebesar 1,167 U/ml diperoleh dari bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* Strain GD2a KK2. Sirup dengan kombinasi enzim poligalakturonase (PG) pada konsentrasi 0%, 0,09%, 0,1%, dan 0,11% dan enzim pektinesterase (PE) pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, dan 1,5% diuji berdasarkan parameter pH, total padatan terlarut, transmitansi, dan viskositas.

pH

Tujuan dari pengukuran nilai pH adalah untuk mengetahui perubahan tingkat keasaman dari sirup buah naga super merah. Hasil analisis klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terhadap parameter pH secara umum tidak mengalami perubahan.

Berdasarkan analisis *two way anova* penambahan enzim poligalakturonase pada berbagai konsentrasi tidak berpengaruh terhadap pH. Nilai pH sirup buah naga super merah dengan penambahan enzim poligalakturonase berkisar antara 4,24 ± 0,00 hingga 4,29 ± 0,02. Perlakuan penambahan enzim pektinesterase pada klarifikasi sari

buah naga super merah dalam pembuatan sirup tidak berpengaruh terhadap nilai pH. Kisaran nilai pH dengan variasi konsentrasi enzim pektinesterase berkisar antara $4,25 \pm 0,00$ hingga $4,27 \pm 0,02$. Berdasarkan **Tabel 2**, interaksi antara enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase tidak berpengaruh terhadap nilai pH sirup buah naga super merah hasil klarifikasi. Interaksi tersebut mempunyai nilai korelasi yang lemah.

Nilai pH sirup buah naga super merah hasil penelitian berkisar antara $4,24 \pm 0,02$ hingga $4,31 \pm 0,08$. Pektin dalam jaringan tanaman banyak dalam bentuk protopekin yang tidak larut dalam air. Kondisi pH rendah akan menghidrolisis protopektin menjadi pektin yang lebih mudah larut (Hariyati, 2006). Pada kondisi asam, ikatan glikosidik gugus metil ester dari pektin cenderung terhidrolisis menghasilkan asam galakturonat (Smith dan Bryant, 1968). Asam galakturonat (D-galakturonat) merupakan asam lemah karena memiliki nilai pKa 3,51 (Kulvanen *et al.*, 2012; Kohn dan Kovac, 1978) sehingga menyumbang sedikit asam.

Enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase yang digunakan dalam penjernihan sirup buah naga super merah kinerjanya dapat dipengaruhi oleh inhibitor. Inhibitor tersebut dapat berupa ion-ion logam yang terkandung dalam buah-buahan. Kandungan magnesium (Mg) dalam daging buah naga super merah 60,4 mg/g daging buah sedangkan kandungan kalsium (Ca) adalah 134,5 mg/g daging buah (Kristanto, 2008). Konsentrasi 4 mM ion Zn^{2+} ; Mg^{2+} menjadi inhibitor untuk aktivitas pektinase sedangkan untuk ion Ca^{2+} mulai konsentrasi 6 mM (Anggraini, 2013).

Total Padatan Terlarut (TPT)

Komponen yang terukur sebagai total padatan terlarut pada sirup buah naga super merah pada penelitian ini antara lain sukrosa, gula pereduksi, asam organik, dan protein. Hasil analisis total padatan terlarut (TPT) pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup secara umum mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 2 Hasil Analisis Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup terhadap parameter pH

| Enzim PG | Enzim PE | | | | Rata-rata |
|----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 0 % | 0,5% | 1% | 1,5% | |
| 0% | 4,24±0,03 | 4,24±0,02 | 4,23±0,02 | 4,25±0,04 | 4,24±0,00 ^A |
| 0,09% | 4,25±0,05 | 4,25±0,07 | 4,24±0,05 | 4,27±0,08 | 4,25±0,01 ^A |
| 0,1% | 4,26±0,05 | 4,25±0,05 | 4,26±0,05 | 4,26±0,06 | 4,25±0,00 ^A |
| 0,11% | 4,26±0,08 | 4,30±0,08 | 4,31±0,08 | 4,30±0,06 | 4,29±0,02 ^A |
| Rerata | 4,25±0,00 ^a | 4,26±0,02 ^a | 4,26±0,03 ^a | 4,27±0,02 ^a | |

Keterangan: sig. PG = 0,222; sig. PE = 0,908; sig PG*PE = 0,998; R squared = 0,168. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha = 0,05$

Tabel 3. Hasil Analisis Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup terhadap parameter Total Padatan Terlarut (^oBrix)

| Enzim PG | Enzim PE | | | | Rata-rata |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 % | 0,5% | 1% | 1,5% | |
| 0% | 40,53±0,11 | 39,66±0,11 | 39,13±0,23 | 39,13±0,11 | 39,61±0,66 ^D |
| 0,09% | 39,26±0,11 | 39,00±0,00 | 39,13±0,23 | 39,26±0,11 | 39,16±0,12 ^C |
| 0,1% | 39,20±0,20 | 39,20±0,20 | 38,73±0,11 | 38,33±0,30 | 38,86±0,41 ^B |
| 0,11% | 38,30±0,20 | 38,13±0,23 | 38,20±0,20 | 38,00±0,00 | 38,15±0,12 ^A |
| Rerata | 39,32±0,91 ^c | 38,99±0,64 ^b | 38,79±0,44 ^a | 38,68±0,61 ^a | |

Keterangan: sig. PG = 0,000; sig. PE = 0,000; sig PG*PE = 0,000; R squared = 0,952. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha = 0,05$

Tabel 4 Hasil Analisis Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup terhadap parameter Transmittansi (%T)

| Enzim PG | Enzim PE | | | | Rata-rata |
|-------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| | 0 % | 0,5% | 1% | 1,5% | |
| 0% | 63,96±0,55 | 72,70±1,25 | 73,00±1,51 | 61,30±0,90 | 67,74±6,00 ^A |
| 0,09% | 73,70±1,47 | 72,70±1,08 | 73,53±0,60 | 60,80±1,47 | 70,18±6,27^B |
| 0,1% | 69,10±2,34 | 62,26±2,74 | 66,73±1,93 | 72,50±1,86 | 67,64±4,30 ^A |
| 0,11% | 68,73±0,83 | 74,50±1,37 | 72,13±1,10 | 65,13±2,75 | 70,12±4,08^B |
| Rerata | 68,87±3,97 ^b | 70,54±5,58^c | 71,34±3,13^c | 64,93±5,40 ^a | |

Keterangan: sig. PG = 0,000; sig. PE = 0,000; sig PG*PE = 0,000; R *squared* = 0,926. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha = 0,05$

Tabel 5 Hasil Analisis Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup terhadap parameter Viskositas (cP)

| Enzim PG | Enzim PE | | | | Rata-rata |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | 0 % | 0.5% | 1% | 1.5% | |
| 0% | 0,13±0,02 | 0,13±0,01 | 0,13±0,03 | 0,16±0,05 | 0,137±0,01 ^B |
| 0,09% | 0,14±0,03 | 0,12±0,03 | 0,12±0,02 | 0,10±0,01 | 0,120±0,01 ^{AB} |
| 0,1% | 0,11±0,01 | 0,10±0,00 | 0,10±0,00 | 0,10±0,00 | 0,102±0,00^A |
| 0,11% | 0,12±0,02 | 0,12±0,03 | 0,11±0,01 | 0,11±0,01 | 0,115±0,00^A |
| Rerata | 0,125±0,01^a | 0,117±0,01^a | 0,115±0,01^a | 0,17±0,02^a | |

Keterangan: sig. PG = 0.021; sig. PE = 0.902; sig PG*PE = 0.615; R *squared* = 0.373. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha = 0,05$

Pada **Tabel 3**, nilai total padatan terlarut tertinggi terdapat pada sampel kontrol dengan nilai TPT sebesar 39,61⁰Brix. Secara keseluruhan, nilai total padatan terlarut paling rendah ditunjukkan oleh sampel dengan penambahan enzim poligalakturonase sebesar 0,11% (38,15⁰Brix). Kerja masing-masing enzim dan interaksi antara kedua jenis enzim berpengaruh terhadap nilai total padatan terlarut.

Hasil klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terhadap parameter total padatan terlarut dari analisis *two way anova* pada **Tabel 3** menunjukkan adanya pengaruh penambahan enzim poligalakturonase pada beberapa konsentrasi. Nilai total padatan terlarut dari sirup buah naga super merah berkisar antara 38,15 ± 0,12⁰Brix hingga 39,61 ± 0,66⁰Brix. Hasil analisis *two way anova* klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup menunjukkan adanya pengaruh enzim pektinesterase terhadap parameter total padatan terlarut. Kisaran nilai total padatan terlarut adalah 38,68 ± 0,61⁰Brix hingga 39,32 ± 0,91⁰Brix. Nilai total padatan terlarut pada sirup buah naga super merah dengan kombinasi enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase ada pada kisaran 38,15

±0,12⁰Brix hingga 39,61 ± 0,66⁰Brix. Berdasarkan **Tabel 3**, terdapat pengaruh dari interaksi antara enzim poligalakturonase dan pektinesterase terhadap hasil klarifikasi sari buah naga dalam pembuatan sirup pada parameter total padatan terlarut.

Transmittansi

Kejernihan sirup dinyatakan dengan nilai transmittansi (T) dimana T merupakan perbandingan antara intensitas cahaya yang dilewatkan oleh sampel dibandingkan dengan intensitas referensi. Semakin tinggi nilai transmittansi berarti semakin jernih larutan tersebut (Nurdjannah, 2003).

Hasil analisis transmittansi pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup secara umum mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan analisis *two way anova* yang ditunjukkan **Tabel 4**, penambahan enzim poligalakturonase berpengaruh terhadap nilai transmittansi dengan kisaran nilai antara 67,64 ± 4,30 hingga 70,18 ± 6,27. Penambahan enzim pektinesterase juga berpengaruh terhadap nilai transmittansi dengan kisaran nilai antara 64,93 ± 5,40 hingga 71,34 ± 3,13. Enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase menunjukkan adanya interaksi yang

mempengaruhi hasil klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup. Interaksi tersebut memiliki nilai korelasi yang kuat.

Penambahan enzim poligalakturonase meningkatkan transmitansi sari buah naga super merah seiring bertambahnya konsentrasi yang digunakan karena enzim poligalakturonase mereduksi kekeruhan dengan cara mendegradasi pektin yang merupakan substansi penyebab kekeruhan sari buah. Enzim poligalakturonase yang memutus ikatan poligalakturonat menjadi asam galakturonat. Hal ini mengakibatkan luas permukaan % transmitansi meningkat sehingga semakin banyak cahaya yang diteruskan melalui larutan sirup. Nilai % transmitansi yang semakin tinggi menunjukkan semakin jernih larutan sirup tersebut (Ananta, 1991).

Viskositas

Viskositas atau biasanya disebut kekentalan suatu cairan menggambarkan besarnya hambatan atau resistensi cairan tersebut terhadap aliran, pengadukan atau *shaker*. Hasil analisis viskositas pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup secara umum mengalami penurunan. Penambahan enzim poligalakturonase pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup menunjukkan adanya pengaruh terhadap parameter viskositas dengan nilai berkisar antara $0,102 \pm 0,00$ cP hingga $0,137 \pm 0,01$ cP. Berdasarkan **Tabel 5**, hasil analisis *two way anova* menunjukkan tidak adanya pengaruh penggunaan enzim pektinesterase pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terhadap parameter nilai viskositas. Nilai viskositas dengan penambahan enzim pektinesterase berkisar antara $0,115 \pm 0,01$ cP hingga $0,125 \pm 0,01$ cP. Pada penambahan enzim poligalakturonase dan pektinesterase ternyata tidak terdapat interaksi yang nyata terhadap penurunan viskositas sirup buah naga super merah. Interaksi tersebut memiliki nilai korelasi yang lemah.

Dengan perlakuan enzim pektinase khususnya poligalakturonase, degradasi pektin mempengaruhi penurunan kemampuan mengikat air (WHC) dari pektin.

Air bebas dilepaskan ke dalam sistem yang mengakibatkan viskositas menurun (Singh *et al.*, 2012). Perlakuan enzimatis untuk degradasi pektin dapat menyebabkan reduksi pada kemampuan untuk mempertahankan air, mengurangi viskositas sari buah dengan pembebasan air ke sistem (Sandri *et al.*, 2011).

Perlakuan Terbaik

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu kombinasi enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup, maka dipilih perlakuan terbaik yaitu pada kombinasi konsentrasi enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase masing-masing 0,11% dan 0,5%. Hasil ini dilihat dari perlakuan yang memberikan pengaruh terhadap interaksi antara kedua enzim serta untuk semua parameter.

Tabel 6 Penentuan Konsentrasi Terbaik

| N o | Sampel | Sirup Buah | | | | |
|-----|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-----|
| | | pH | TPT | %T | Viskositas | Jml |
| 1 | Kontrol | 4,240 ^a | 40,533 ^d | 63,966 ^{bc} | 0,132 ^b | 1 |
| 2 | PG 0% ; PE 0,5% | 4,243 ^a | 39,666 ^c | 72,700 ^c | 0,136 ^{ab} | 3 |
| 3 | PG 0% ; PE 1% | 4,236 ^a | 39,133 ^d | 73,000 ^c | 0,137 ^{ab} | 3 |
| 4 | PG 0% ; PE 1,5% | 4,253 ^a | 39,133 ^d | 61,300 ^{ab} | 0,164 ^b | 1 |
| 5 | PG 0,09% ; PE 0% | 4,256 ^a | 39,266 ^d | 73,700 ^c | 0,145 ^{ab} | 3 |
| 6 | PG 0,09% ; PE 0,5% | 4,256 ^a | 39,000 ^{cd} | 72,700 ^c | 0,129 ^{ab} | 3 |
| 7 | PG 0,09% ; PE 1% | 4,243 ^a | 39,133 ^d | 73,533 ^c | 0,120 ^{ab} | 3 |
| 8 | PG 0,09% ; PE 1,5% | 4,276 ^a | 39,266 ^d | 60,800 ^a | 0,105 ^a | 2 |
| 9 | PG 0,1% ; PE 0% | 4,260 ^a | 39,200 ^d | 69,100 ^d | 0,115 ^{ab} | 2 |
| 10 | PG 0,1% ; PE 0,5% | 4,256 ^a | 39,200 ^d | 62,266 ^{ab} | 0,100 ^a | 2 |
| 11 | PG 0,1% ; PE 1% | 4,266 ^a | 38,733 ^c | 66,733 ^{cd} | 0,108 ^a | 2 |
| 12 | PG 0,1% ; PE 1,5% | 4,260 ^a | 39,200 ^d | 72,500 ^d | 0,109 ^a | 3 |
| 13 | PG 0,11% ; PE 0% | 4,263 ^a | 38,200 ^{ab} | 68,733 ^d | 0,120 ^b | 3 |
| 14 | PG 0,11% ; PE 0,5% | 4,303 ^a | 38,133 ^{ab} | 74,500 ^c | 0,128 ^{ab} | 4 |
| 15 | PG 0,11% ; PE 1% | 4,303 ^a | 38,200 ^{ab} | 72,133 ^c | 0,115 ^{ab} | 4 |
| 16 | PG 0,11% ; PE 1,5% | 4,313 ^a | 38,000 ^a | 65,133 ^c | 0,110 ^a | 3 |

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan variasi konsentrasi enzim poligalakturonase bakteri *Bacillus licherniformis* strain GD2a AR2 dan enzim pektinesterase bakteri *Bacillus licherniformis* strain GD2a KK2 berpengaruh terhadap parameter nilai total padatan terlarut dan nilai transmitansi. Sedangkan kombinasi kedua enzim tidak berpengaruh terhadap nilai pH dan viskositas. Konsentrasi terbaik hasil klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terdapat pada sampel dengan penambahan 0,11% enzim poligalakturonase bakteri *Bacillus licherniformis* strain GD2a AR2 dan 0,5%

enzim pektinesterase bakteri *Bacillus licherniformis* strain GD2a KK2.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D.P., Anna R, Sasangka P, Diah M. (2013). Pengaruh Ion-ion Logam terhadap Aktivitas Pektinase dari *Aspergillus niger* pada Penjernihan Sari Buah Jambu. *NATURAL B*, Vol. 2 No. 1: 1.
- Badan Standarisasi Nasional. (2013). SNI 3544:2013. *Sirup*. Jakarta.
- Beg, Q.K., Kapoor M, Mahajan L., Hoondal G.S. (2001). Microbial Xylanases and Their Industrial Applications: A Review. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol*, Vol. 56 No. 3-4: 326-338.
- Farikha, I. N , Choirul A, Esti W. (2013). Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil Alami Terhadap Karakteristik Fisikokimia Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknosains Pangan*, Vol. 2 No. 1: 30-37.
- Hariyati, N. M. (2006). *Ekstraksi dan Karakterisasi Pektin Dari Limbah Proses Pengolahan Jeruk Pontianak (Citrus Nobilis Var Microcarpa)*. Bogor. Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Jaafar, R.A., Rahman, A. R. B. A.; Mahmud, N. Z. C, Vasudevan, R. (2009). Proximate Analysis of Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Applied Science* Vol. 6 No.7:1341-1346.
- Kertez, Z.I. (1995). *Pectic Enzyme: Methods in Enzymology*. Vol 1: 158-162. Academic Press: New York.
- Kohn, R, Kovac P. (1978). Dissociation Constants of D-galacturonic Acid and D-glucuronic Acid and their O-methyl Derivates. *Chem. Zvesti* Vol. 32 No. 4: 34.
- Kristanto, D. (2008). *Buah Naga : Pembudidayaan di Pot dan di Kebun*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Kulvanen, J, Dominik M, Yanming W, Satu H, Merja P, Peter R, Marilyn G. W. (2012). Engineering Filamentous Fungi for Conversion of D-Galacturonic Acid to L-Galactonic Acid. *Applied and Enviromental Microbiology*, Vol. 78 No. 24: 59.
- Nurdjanah, N. (2003). Penjernihan Sirup Pala Dengan Chitosan dan Hemisellulase. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, Vol. 16 No. 1: 3.
- Ordonez, R.G, Morlon, J; Gasparian, S, Guyot, J.P. (1998). Occurence of A Thermoacidophilic Cell-bound Exopectinase in *Alicyclobacillus acidocaldarius*. *Folia Microbiology*, Vol. 4 No. 6: 126.
- Ortega, N, S.de Diego, M. Perez-Mateos, M.D. Busto. (2004). Kinetic Properties and Thermal Behaviour of Polygalacturonase Used in Fruit Juice Clarification. *Food Chemistry*, Vol. 88: 48-50.
- Pedrolli, D.B, Monteiro, A. C, Gomes, E, Carmona, E. C. (2009). Pectin and Pectinases: Production, Characterization and Industrial Application of Microbial Pectinolytic Enzymes. *The Open Biotechnology Journal*, Vol. 3 No. 9: 9-18.
- Sandri, I. G. (2011). Clarification of Fruit Juice by Fungal Pectinases. *LWT-Food Science and Technology* Vol. 44: 2219.
- Sharma, H. P, Hiral P, Sugandha S. (2014). Enzymatic Extraction and Clarification of Juice from Various Fruits-A Review. *Trends in Post Harvest Technology* Vol. 2 No. 1: 2.
- Singh, A, Sanjay K, H.K. Sharma. (2012). Effect of Enzymatic Hydrolysis on the Juice Yield from Bael Fruit (*Aegle maemelos Correa*) Pulp. *American Journal of Food Technology*, Vol. 7 No. 9: 64.
- Smith, B. (1968). Properties of Pectin Fraction Separated on Diethyleaminoethyl-Cellulose Columns. *AVI Publ. Inc., Westport, Connecticut*.

Widowati,E., Utami, R dan Khalistyatika, K.
(2017). Screening and Characterization
pf Polygalacturonase as Potential
Enzyme for keprok Garut orange (*Citrus
nobilis* var *chrysocarpa*) Juice
Clarification. Journal of Physics:
Conference of Series 909 (1), 012088.