

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

*COMBINATION OF POLYGALACTURONASE AND CELLULOSE ENZYME ON THE
CLARIFICATION OF SUPER RED DRAGON FRUIT (*Hylocereus costaricensis*) JUICE IN
THE SYRUP MANUFACTURE*

Esti Widowati, Ardhea Mustika Sari, Fitriana Husnayaini

Program Studi Ilmu Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Jebres Surakarta 57126

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

Diserahkan [31 Maret 2020]; Diterima [22 Agustus 2020]; Dipublikasi [24 November 2020]

ABSTRACT

*Super red dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*) has shelf life 7-14 days at 14-20°C. The shelf life of the dragon fruit is relatively short due to the high moisture content amount 90%, therefore it needs advanced processing become syrup. Syrup characteristic which produced was cloudy, turbid and not clear because of pectin and cellulose. The hydrolisis process used polygalacturonase and cellulase enzymes, and clear syrup as the result. The aim of the research were to investigate the various concentration polygalacturonase enzyme from *Bacillus licheniformis* GD2A AR2 and cellulase from *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 to syrup quality, and the best concentration from combination of both enzymes towards the effectiveness of clarification in making super red dragon fruit syrup based on pH, viscosity, total dissolved solids and transmittance. This study used Completely Randomized Factorial Design with two factors. The first factor was the type of enzyme. The research used polygalacturonase and cellulase enzymes. The second factor was the concentration of enzyme, i.e 0%; 0.06%; 0.09%; 0.1% (polygalacturonase) and 0%; 0.1%; 0.13%; 0.16% (cellulase). The study was conducted with three times of sampling repetition and one time of analysis. The data obtained were analyzed statistically with two way Analysis of Variance (ANOVA) and continued with Duncan Multiple Range Test (DMRT) at 5% significance level. The results showed that polygalacturonase and cellulase enzymes have enzyme activity of 0.32 U / ml and 0.06 U / ml. The addition of polygalacturonase and cellulase enzymes and their combinations significantly affect to decrease pH and viscosity and to increase total dissolved solids and the transmittance of the syrup. The best treatment was in addition of 0.09% polygalacturonase and 0.1% cellulase enzymes because it can decrease pH (4.24), decrease viscosity (10.6 cP), increase TSS (43.5°brix) and transmittance (66.2%T).*

Keywords : cellulase, cellulose, dragon fruit, pectin, polygalacturonase, syrup

ABSTRAK

Buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) mempunyai umur simpan 7-14 hari pada suhu 14-20°C. Umur simpan buah naga relatif singkat disebabkan karena kandungan air yang tinggi sebesar 90% sehingga perlu dilakukan pengolahan lanjutan menjadi sirup. Karakteristik sirup yang dihasilkan keruh, berkabut dan tidak jernih karena pektin dan selulosa. Kekeuhan tersebut dapat diatasi dengan enzim poligalakturonase dan selulase sehingga dihasilkan sirup yang jernih. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan variasi konsentrasi enzim poligalakturonase *Bacillus licheniformis* GD2A AR2 dan selulase *Bacillus subtilis* Krakarya_1S6 terhadap kualitas sirup, mendapatkan konsentrasi terbaik dari kombinasi kedua enzim tersebut terhadap efektivitas klarifikasi dalam pembuatan sirup buah naga super merah berdasarkan pH, viskositas, total padatan terlarut dan transmitansi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu jenis enzim terdiri atas poligalakturonase dan selulase. Faktor kedua konsentrasi enzim yang digunakan yaitu 0%; 0,06%; 0,09%; 0,1% (poligalakturonase) dan 0%; 0,1%; 0,13%; 0,16% (selulase). Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan sampel dan satu kali ulangan analisis. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan SPSS menggunakan *two way Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat signifikansi 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim poligalakturonase dan selulase mempunyai aktivitas enzim 0,32 U/ml dan 0,06 U/ml. Penambahan enzim poligalakturonase dan selulase serta kombinasinya berpengaruh nyata terhadap penurunan pH dan viskositas dan peningkatan total padatan terlarut dan transmitansi sirup yang dihasilkan. Perlakuan terbaik terdapat pada penambahan enzim poligalakturonase 0,09% dan selulase 0,1% karena dapat menurunkan pH (4,24) dan viskositas (10,6 cP) serta meningkatkan total padatan terlarut (43,5°brix) dan transmitansi (66,2%T).

Kata kunci: buah naga, selulase, selulosa, pektin, poligalakturonase, sirup

PENDAHULUAN

Buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) merupakan tanaman suku Cactaceae yang banyak dikembangkan di Indonesia. Buah ini berbentuk lonjong mempunyai warna kulit merah gelap dengan sisik besar dan berdaging merah keunguan dengan bertabur biji kecil hitam di dalamnya yang dapat dimakan. Berat buahnya mencapai 250-600 g dengan tingkat kemanisan berkisar 13-15°brix (Kristanto, 2008). Menurut Harvey dkk., (2009), trend produksi buah ini setiap tahun mengalami peningkatan seperti pada daerah Jember produksi tahun 2010 mencapai 4.274 kg sedangkan pada tahun 2011 mencapai 4.720 kg.

Buah naga super merah paling diminati masyarakat karena rasanya yang lebih manis tanpa rasa langu dibandingkan dengan varietas lainnya (Wulandari, 2012). Buah naga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, fosfor, besi, dan lain-lain. Vitamin yang terdapat di dalam buah naga antara lain vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, dan vitamin C (Pratomo, 2008). Umur simpan buah naga tidak lama yaitu sekitar 1-2 minggu dalam suhu 14-20°C. Hal ini disebabkan karena buah naga mempunyai kandungan air yang tinggi yaitu sebesar 90% (Farikha dkk., 2013). Salah satu cara untuk mempertahankan keawetan dan nilai gizi buah naga dapat diolah menjadi sirup (Hadiwijaya, 2014).

Sirup merupakan larutan gula pekat dengan atau tanpa penambahan bahan tambahan pangan yang diizinkan (BSN, 1994). Penelitian ini bekerja sama dengan UKM CV. Wana Bakti Handayani Dukuhan, Prampalan, Masaran, Sragen yang memproduksi produk olahan buah naga. Salah satunya sirup buah naga super merah. Masalah yang dihadapi pada pengolahan sirup buah naga super merah di CV. Wana Bakti Handayani yaitu terdapat pemisahan dan pengentalan pada bagian atas permukaan sesaat setelah dilakukan ekstraksi buah. Selain itu, pada dasar permukaan terbentuk endapan yang mengakibatkan kekeruhan pada sirup yang dihasilkan. Menurut Vinjamuri (2015), kekeruhan yang terdapat

pada sirup tersebut akan mengurangi minat konsumen karena sirup dengan kekeruhan tinggi akan menimbulkan endapan ketika penyimpanan sedangkan sirup yang jernih dan tinggi nutrisi lebih disukai konsumen. Sampai saat ini, untuk mengurangi kekeruhan yang terbentuk dilakukan penyaringan endapan dengan cara konvensional namun, penyaringan tersebut dapat menurunkan rendemen sirup yang dihasilkan.

Kekeruhan dan endapan tersebut dapat disebabkan karena adanya komponen yang tersuspensi. Komponen tersebut berupa pektin dan selulosa yang termasuk polisakarida penyusun tanaman. Pektin merupakan polisakarida kompleks yang terdapat dalam sel tanaman tersusun atas polimer linier asam D-galakturonat yang terhubung oleh ikatan 1-4 glikosidik. (Sharma *et al.*, 2014). Hasil analisis rata-rata kandungan pektin pada daging buah naga super merah yaitu 0,7061%. Sedangkan selulosa merupakan homopolisakarida linier tidak bercabang, terdiri dari unit D-glukosa yang berikatan dengan ikatan β -1,4-glikosidik (Wahlstrom, 2014). Hasil analisis rata-rata kandungan selulosa pada daging buah naga super merah yaitu 0,7061%. Adanya pektin dan selulosa menjadi penghambat proses filtrasi melalui membran (Widowati *et al.*, 2017). Pektin juga mengakibatkan kekentalan pada jus buah naga super merah yang dapat mengurangi hasil rendemen sari buah naga super.

Kekeruhan sirup buah naga super merah dapat dikurangi dengan menghidrolisis molekul pektin dan selulosa menjadi molekul yang lebih sederhana melalui klarifikasi enzimatik. Proses klarifikasi dapat dilakukan dengan cara penambahan enzim pektinase misalnya enzim poligalakturonase yang biasa digunakan secara komersial. Enzim poligalakturonase memiliki kelebihan dalam mengklarifikasi sari buah dengan menghidrolisis asam pektat secara acak menjadi asam galakturonat dan tidak menghasilkan residu metoksil (Widowati *et al.*, 2017). Penambahan enzim poligalakturonase konsentrasi 0,1% dapat menurunkan pH, total padatan terlarut, dan viskositas serta meningkatkan transmitansi

sari buah naga super merah.

Menurut Phuong (2014), enzim pektinase dan selulase dapat mengurangi kekeruhan dengan cara mendegradasi masing-masing substratnya. Penambahan kedua enzim tersebut dapat meningkatkan stabilitas dan kejernihan sari buah. Proses klarifikasi dengan enzim pektinase yang dikombinasikan dengan penambahan enzim selulase dapat meningkatkan rendemen dan kejernihan sari buah karena terdapat proses degradasi polisakarida secara bersamaan (Jori dkk., 2015). Enzim selulase akan menghidrolisis ikatan 1,4- β -D-glukosa pada selulosa menjadi gula-gula yang lebih sederhana (Widowati *et al.*, 2016). Menurut Kothari dkk (2013), penambahan enzim selulase pada produksi sari buah dapat menurunkan viskositas, meningkatkan proses ekstraksi, sakarifikasi, mengurangi rasa pahit sirup. Sedangkan menurut penelitian dari Le *et al.*, (2012) klarifikasi sari buah jambu dengan penambahan enzim selulase dengan konsentrasi 0-0,12% dapat meningkatkan hasil dari sari buah hingga 17,5%. Kombinasi enzim poligalakturonase konsentrasi 0,06%, dan enzim selulase konsentrasi 0,13% berpengaruh nyata pada peningkatan transmitansi serta penurunan viskositas.

Penelitian ini mengaplikasikan kombinasi enzim poligalakturonase dari isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 (Widowati *et al.*, 2017) dan enzim selulase dari isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 (Widowati *et al.*, 2016) pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup. Penelitian ini menggunakan kedua enzim tersebut karena memiliki aktivitas enzim pada kondisi optimum dan kestabilan enzim terutama kestabilan pH yang sesuai pada kondisi proses klarifikasi sari buah jambu merah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui berapa perbandingan konsentrasi terbaik penambahan kedua enzim pada klarifikasi sari buah dalam pembuatan sirup. Faktor yang diteliti dalam penelitian ini adalah perbedaan karakteristik sirup buah naga super merah tanpa perlakuan (kontrol), dengan penambahan enzim poligalakturonase isolat bakteri pektinolitik

Bacillus licheniformis GD2a AR2 konsentrasi 0%; 0,06%; 0,09%; dan 0,1% dan penambahan enzim selulase isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 konsentrasi 0%; 0,1; 0,13%, 0,16% serta keduanya pada klarifikasi sari buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) dalam pembuatan sirup. Penggunaan kedua enzim tersebut diharapkan dapat meningkatkan efektivitas proses klarifikasi pada proses pembuatan sirup.

Bacillus licheniformis GD2a AR2 memiliki karakter Gram positif, berbentuk batang, koloni berantai dan ukuran sel 0,5 μ m. *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 memiliki karakter sama namun berukuran 0,2 μ m. Enzim poligalakturonase dari *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 memiliki aktivitas enzim 0,32 U/ml, pH optimum 3,5-6, kestabilan pH 4-7, suhu optimum pada 55°C dan kestabilan suhu pada 50-60°C. Sedangkan enzim selulase memiliki aktivitas enzim 0,06 U/ml, pH optimum 7, kestabilan pH 5-9, suhu optimum pada 37°C dan kestabilan suhu pada 30-60°C.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui hasil penggunaan variasi enzim poligalakturonase isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 dan enzim selulase isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 terhadap efektivitas klarifikasi sirup buah naga super merah berdasarkan parameter pH, total padatan terlarut, viskositas dan transmitansi. Selain itu untuk mengetahui konsentrasi terbaik dari kombinasi enzim poligalakturonase isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 dan enzim selulase isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 yang menghasilkan klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam analisis penelitian adalah neraca analitik (Mettler Toledo), *juicer* (Phillips), autoklaf (Selecta), inkubator (Selecta), *shaker incubator*

(Selecta), vortex (Heidolph), *sentrifuge* (Hettich), membran selofan *cut off* 12 kDa, *magnetic stirrer*, *hand refractometer* (ATAGO), pH meter (Hanna), *Laminar Air Flow* (Labconco), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *hot plate* (IKA Labortechnik), *coolbox*, viskometer (HAAKE), piknometer (PYREX), aluminium foil, dan peralatan laboratorium pada umumnya di laboratorium.

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) yang mempunyai warna daging buah merah pekat dan terdapat biji kecil yang tersebar merata berwarna hitam. Sampel buah naga super merah diperoleh dari UD. Naga Jaya Makmur, Bululawang, Malang, Jawa Timur dengan berat 400-600 g, diameter sekitar 9-11 cm dengan umur panen \pm 1 tahun dan panen dilakukan saat penelitian berlangsung.

Media yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim poligalakturonase, yaitu aquades, alkohol 90%, amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) (MERCK, Germany), buffer asetat 0,05 M pH 5,2, asam asetat (CH₃COOH) (MERCK, Germany), natrium asetat (CH₃COONa) (MERCK, Germany), barium klorida (BaCl₂) (MERCK, Germany), *yeast extract* (OXOID, USA), disodium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄) (MERCK, Germany), potassium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄) (MERCK, Germany), magnesium sulfat (MgSO₄.7H₂O) (MERCK, Germany), kalium klorida (KCl) (MERCK, Germany), pektin citrus (Sigma-Aldrich, USA), *bacteriological agar* (Difco, USA).

Media yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim selulase, yaitu aquades, alkohol 70%, ammonium sulfat (NH₄)₂SO₄) (MERCK, Germany), buffer asetat 0,05 M pH 5,2, natrium asetat (CH₃COONa) (MERCK, Germany), asam asetat (CH₃COOH) (MERCK, Germany), *Carboxymethyl Cellulose*, magnesium sulfat (MgSO₄.7H₂O) (MERCK, Germany), kalium nitrat (KNO₃) (MERCK, Germany), kalium hidrogen sulfat (K₂SO₄) (MERCK, Germany), fero sulfat (FeSO₄.7H₂O) (MERCK, Germany), kalsium klorida

(CaCl₂) (MERCK, Germany), glukosa (MERCK, Germany), *yeast extract* (OXOID, USA).

Serta isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 dan isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 (Widowati *et al.*, 2016; Widowati *et al.*, 2017).

Tahapan Penelitian

Proses persiapan isolat

Isolat yang digunakan yaitu isolat *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 dan isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* krakarya_1 S6. Isolat diinokulasikan pada media pektin dan media CMC agar miring dengan ose untuk peremajaan bakteri. Agar miring yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 55°C dan 37°C selama 24 jam. Tujuan peremajaan isolat yaitu mengoptimalkan pertumbuhan bakteri. Persiapan isolat dilakukan dengan menggoreskan 1 ose dari subkultur ke dalam 10 ml media pektin cair dan CMC cair. Inkubasi dilakukan pada suhu 55°C dan 37°C selama 24 jam menggunakan inkubator *shaker*. Perhitungan jumlah sel menggunakan *haemocytometer* (Widowati *et al.*, 2016; Widowati *et al.*, 2017).

Produksi, isolasi, dan ekstraksi enzim poligalakturonase dan enzim selulase (Utami dkk., 2015; Widowati *et al.*, 2016; Widowati *et al.*, 2017).

1. Produksi enzim poligalakturonase dan enzim selulase

Isolat sebanyak 10 ml yang telah diinkubasi selama 24 jam dimasukkan ke dalam 90 ml media cair pektin (PG) dan selulase (S). Kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* dengan kecepatan 144 rpm pada suhu 55°C dan 37°C. Enzim dipanen berdasarkan waktu optimum isolat memproduksi enzim. Produksi enzim dilakukan pada fase log pertumbuhan bakteri yaitu 10 jam. Hasil perhitungan sel bakteri dengan *haemocytometer* adalah 8,812 log sel/ml (*Bacillus licheniformis* GD2a AR2) dan 8,975 log sel/ml (*Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6).

2. Isolasi dan ekstraksi enzim poligalakturonase dan enzim selulase

Tahapan isolasi dan ekstraksi dilakukan dengan cara sentrifugasi suspensi sel dari hasil optimum inkubasi atau kultur isolat yang telah mencapai waktu produksi (fase logaritmik) dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C sehingga menghasilkan supernatan yang mengandung *crude enzyme*.

Pemurnian parsial enzim poligalakturonase dan enzim selulase (Sinatari dkk., 2013;Widowati et al., 2016; Widowati et al., 2017).

1. Presipitasi ammonium sulfat

Presipitasi dengan ammonium sulfat bertujuan untuk pemisahan (pemurnian) ekstrak kasar protein (enzim) dari molekul- molekul protein lain. Pengendapan protein menggunakan prinsip *salting out*, yaitu mengendapnya protein (enzim) karena air berikatan dengan garam amonium sulfat. Ketika konsentrasi garam amonium sulfat meningkat secara bertahap pada saat fraksinasi, beberapa molekul air akan tertarik oleh ion garam amonium sulfat sehingga menurunkan jumlah molekul air yang tersedia untuk berinteraksi dengan asam amino hidrofilik dari protein, mengakibatkan protein yang mengandung asam amino hidrofilik akan mengendap (Sinatari dkk., 2013).

Presipitasi enzim poligalakturonase menggunakan amonium sulfat fraksi kejenuhan 50% dan enzim selulase dengan amonium sulfat fraksi kejenuhan 40%. Fraksi kejenuhan penambahan amonium sulfat ditentukan berdasarkan aktivitas tertinggi enzim yang didapatkan dari masing-masing isolat. Jumlah penambahan amonium sulfat dihitung dengan mengalikan supernatan yang dihasilkan dengan nilai kejenuhan pada tabel konversi. Nilai kejenuhan 50% yaitu 313 g/l dan 40% yaitu 243 g/l. Penambahan amonium sulfat dilakukan sedikit demi sedikit dan diaduk menggunakan *magnetic stirer*. Proses presipitasi berlangsung selama 24

jam pada suhu 4°C.

Setelah presipitasi, supernatan disentrifugasi pada 12.000 rpm pada 4°C selama 10 menit. Hasil dari sentrifugasi berupa pelet yang mengandung protein enzim dan non enzim. Pelet dilarutkan dengan penambahan buffer asam asetat 0,05 M pH 5,2 dengan perbandingan 1:1 untuk kemudian dilakukan proses dialisis.

2. Dialisis

Proses dialisis berguna untuk memurnikan protein dalam larutan dari partikel-partikel pengganggu lainnya. Prinsip dari dialisis ialah aplikasi preparasi enzim ke dalam kantong dialisis yang terbuat dari membran semipermeabel yang memungkinkan molekul berukuran kecil untuk bermigrasi. Membran semipermeabel untuk menahan molekul- molekul protein, sedangkan molekul yang lebih kecil seperti garam dan air dapat melewati membran tersebut. Pada penelitian, membran semipermeabel yang digunakan adalah membran selofan *cut off* 12 kDa.

Suspensi pelet dengan buffer dimasukkan dalam kantung membran selofan *cut off* 12 kDa dan diikat rapat. Kemudian dimasukkan dalam larutan buffer asetat 0,05 M pH 5,2 serta diaduk dengan *magnetic stirer* dalam *cool chamber* pada suhu konstan 4°C. Untuk mengetahui adanya amonium sulfat dalam larutan buffer maka dilakukan dengan penambahan BaCl₂. Amonium sulfat akan bereaksi dengan BaCl₂ menghasilkan endapan putih BaSO₄. Dialisis dihentikan saat penambahan BaCl₂ dalam larutan buffer tidak lagi menghasilkan endapan putih BaSO₄, yang mengindikasikan bahwa tidak ada lagi amonium sulfat yang terkandung dalam fraksi enzim (Sinatari dkk., 2013). Penggantian buffer pada proses dialisis dilakukan selama 8 jam sekali sampai tidak terbentuk endapan putih. Setelah tidak ada endapan putih, proses dihentikan dan diperoleh enzim murni parsial.

3. Uji aktivitas enzim kasar maupun murni parsial

Aktivitas enzim kasar dan murni

parsial diukur menggunakan metode *dinitrosalicylic acid* (DNS). Aktivitas enzim ditentukan dengan menghitung gula reduksi yang dibebaskan dari pektin dan selulosa. Enzim kasar/murni parsial sebanyak 0,1 ml ditambah media pereaksi sebanyak 0,9 ml CMC 0,1% untuk selulase dan media pereaksi enzim poligalakturonase terdiri dari (0,7 % w/v) pektin sitrus dan buffer natrium asetat 0,025 M pH 4,8. Enzim diinkubasi pada suhu 55°C (poligalakturonase) dan 37°C (selulase) selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 1 ml reagen DNS dan dilakukan pemanasan pada suhu 90°C selama 10 menit. Larutan enzim didinginkan dan ditambahkan K-Na-Tartat 40% sebanyak 0,5 ml. Sampel dihomogenkan menggunakan vortex. Sampel kemudian ditera dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Aktivitas enzim poligalakturonase kasar sebesar 0,15 U/ml dan meningkat menjadi 0,32 U/ml setelah purifikasi parsial. Sedangkan aktivitas enzim selulase kasar sebesar 0,02 U/ml menjadi 0,06 U/ml setelah purifikasi parsial.

Penentuan variasi konsentrasi enzim poligalakturonase dan enzim selulase serta pembuatan buah naga super merah (Aliaa dkk., 2010; Le dkk., 2012; Widowati et al., 2016; Widowati et al., 2017)

1. Penentuan konsentrasi enzim poligalakturonase (Aliaa dkk., 2010; Widowati et al., 2017)

Variasi konsentrasi enzim poligalakturonase yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%; 0,06%; 0,09%; 0,1%.

2. Penentuan konsentrasi enzim selulase (Le dkk., 2012; Widowati et al., 2016).

Variasi konsentrasi enzim selulase yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0; 0,1%; 0,13%, 0,16%.

3. Penentuan variasi konsentrasi enzim poligalakturonase dan konsentrasi enzim selulase

Klarifikasi sari buah naga super merah dengan kombinasi penambahan enzim poligalakturonase isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 pada konsentrasi 0%; 0,06%; 0,09%; 0,1% dan penambahan enzim selulase isolat bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 pada konsentrasi 0%; 0,1%; 0,13%; 0,16% dilakukan pengujian dengan beberapa parameter uji yaitu total padatan terlarut, viskositas, transmitansi, dan pH. Variasi konsentrasi enzim poligalakturonase dan enzim selulase yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 2**. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan sampel dan satu kali analisis uji.

Pembuatan dan Klarifikasi sirup buah naga buah naga super merah (Modifikasi Nugroho, 2013; Hadiwijaya, 2014)

Pembuatan sirup buah naga super merah secara umum meliputi: sortasi buah, pencucian, pengupasan, pemotongan, penghancuran/pengepresan daging buah, perebusan I, penyaringan, perebusan II, pencampuran dengan larutan gula, pengadukan, pengisian, pasteurisasi, pengemasan dan penyimpanan. Buah naga super merah terpilih dicuci, kemudian dikupas kulitnya. Daging buah dipotong secara melintang kemudian diekstraksi dengan menggunakan *juicer*. *Juicer* akan menghancurkan buah naga super merah dan memisahkan air dengan ampasnya sehingga dapat diperoleh sari buah naga super merah. Rendemen yang dihasilkan pada ekstraksi sari buah naga dapat dilihat pada **Tabel 1**. Sari buah hasil filtrasi dimasukkan dalam 48 botol yang masing-masing diisi 50 ml sari buah naga super merah.

Tabel 1 Rendemen Sari Buah Naga Super Merah Hasil Ekstraksi

Sampel	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	V akhir (ml)	Rendemen (b/b) (%)	Rendemen (v/b) (%)
Sari buah naga super merah	10.252	7.116	4.200	69,41	40,97

Tabel 2 Variasi Konsentrasi Enzim Poligalakturonase dan Enzim Selulase

Enzim Selulase (S)	Enzim Poligalakturonase (PG)			
	0% (A ₀)	0,06% (A ₁)	0,09% (A ₂)	0,1% (A ₃)
0% (B ₀)	A ₀ B ₀	A ₁ B ₀	A ₂ B ₀	A ₃ B ₀
0,1% (B ₁)	A ₀ B ₁	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	A ₃ B ₁
0,13% (B ₂)	A ₀ B ₂	A ₁ B ₂	A ₂ B ₂	A ₃ B ₂
0,16% (B ₃)	A ₀ B ₃	A ₁ B ₃	A ₂ B ₃	A ₃ B ₃

Kemudian setiap sampel diberi perlakuan sesuai dengan **Tabel 2**. Setelah sampel diberikan perlakuan enzim poligalakturonase dan enzim selulase, sampel tersebut diinkubasi pada suhu 50°C selama 60 menit (Widowati *et al.*, 2016; Widowati *et al.*, 2017). Sampel yang telah diberikan perlakuan kombinasi enzim kemudian ditambahkan dengan larutan gula dengan perbandingan 1:1. Sampel dipasteurisasi dan selanjutnya dilakukan pengujian pH (Akesowan dan Choonhahirun, 2013), viskositas (Widowati *et al.*, 2017), total padatan terlarut (Widowati *et al.*, 2017) dan transmitansi (Widowati *et al.*, 2017)

Rancangan Penelitian

Faktor yang diteliti dalam penelitian ini adalah perbedaan karakteristik sirup buah naga super merah tanpa perlakuan (kontrol), dengan penambahan enzim poligalakturonase *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 konsentrasi 0%; 0,06%; 0,09%; dan 0,1% dan penambahan enzim selulase *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 konsentrasi 0%; 0,1; 0,13%, 0,16% serta keduanya pada klarifikasi sari buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*) dalam pembuatan sirup. Analisis dilakukan terhadap empat parameter yaitu pH, viskositas, total padatan terlarut dan transmitansi. Pengujian tersebut untuk menentukan konsentrasi enzim poligalakturonase dan konsentrasi enzim selulase terbaik yang digunakan pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor yaitu variasi konsentrasi dan jenis enzim yang digunakan (enzim poligalakturonase dan enzim selulase). Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan sampel dan satu kali ulangan analisis. Data yang diperoleh dianalisis

secara statistik dengan program SPSS menggunakan *two-way Analysis of Varian* (ANOVA) dan dilanjutkan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) ($\alpha=0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) dalam Pembuatan Sirup

Penelitian ini menggunakan enzim poligalakturonase *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 (0,32 U/ml) dan enzim selulase *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 (0,06 U/ml) dalam pembuatan sirup dari sari buah naga super merah (*Hylocereus costaricensis*). Produksi enzim poligalakturonase menggunakan media pektin cair, sedangkan untuk enzim selulase dengan media CMC. Penggunaan kombinasi enzim dapat meningkatkan karakteristik total padatan terlarut, kecerahan/kejernihan dan menurunkan viskositas sari buah (Sharma *et al.*, 2014). Konsentrasi enzim yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0%; 0,06%; 0,09%; 0,1% tuk poligalakturonase dan selulase sebesar 0%; 0,1%; 0,13%; 0,16%. Analisis dilakukan terhadap pH, total padatan terlarut, nilai transmitansi dan viskositas sirup buah naga super merah hasil klarifikasi.

1. pH

pH merupakan logaritma negatif dari ion H⁺. Pengukuran pH digunakan untuk mengetahui perubahan tingkat keasaman suatu produk. Konsentrasi ion H⁺ ditentukan oleh molekul-molekul yang dapat melepaskan ataupun mengikat ion dalam larutan. Semakin banyak ion H⁺ maka semakin besar konsentrasinya sehingga nilai pH semakin rendah (Li *et al.*, 2015).

pH buah naga segar berkisar antara

4,3-5,1 (Farikha dkk., 2013). Enzim poligalakturonase dapat bekerja optimal pada pH 3,5-6 dan stabil pada pH 4-7 (Widowati *et al.*, 2017). Enzim selulase bekerja optimum pada pH 5-9 dan stabil pada pH 7 (Widowati *et al.*, 2016). Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase diharapkan dapat menurunkan pH sirup buah naga super merah. Penurunan pH dapat menjadi indikator dalam terbentuknya asam galakturonat pada hidrolisis pektin. Hasil analisis pH pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Penambahan enzim poligalakturonase dan selulase maupun kombinasi keduanya berpengaruh nyata dan terdapat interaksi antara kedua enzim terhadap pH sirup buah naga super merah yang dihasilkan. Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase serta kombinasi keduanya secara umum dapat menurunkan pH sirup buah naga super merah dapat dilihat pada **Tabel 3**. Nilai pH sirup berkisar antara 4,23-4,32. Peningkatan konsentrasi enzim selulase tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan pH sirup buah naga super merah. Namun dengan penambahan enzim poligalakturonase, semakin meningkat konsentrasi yang diberikan maka semakin menurun pH nya.

Penambahan enzim poligalakturonase secara umum dapat menurunkan pH sirup buah naga super merah. Akan tetapi, penambahan enzim poligalakturonase pada konsentrasi 0,09% tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan pH dibandingkan

dengan poligalakturonase konsentrasi 0,1%. Menurut Le *et al.*, (2012) sari buah naga super merah dengan penambahan enzim poligalakturonase (0,123 U/ml) konsentrasi 0,09% dan 0,1% dapat menurunkan pH 4,06 menjadi 4,03 dan 4,04.

Prinsip kerja enzim poligalakturonase menghidrolisis ikatan α -1,4- glikosidik menjadi D-galakturonat pada substansi pektin rantai acak. Hasil dari reaksi tersebut akan menghasilkan asam galakturonat dan asam karboksilat. Produksi asam galakturonat menyebabkan terbentuknya kondisi asam sehingga pH sirup buah naga super merah menurun (Aliaa *et al.*, 2010). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Barcelon *et al.*, (2015) yang menjelaskan bahwa klarifikasi sari buah naga dengan perlakuan enzimatik dapat mengakibatkan pektin terhidrolisis sempurna maupun parsial seiring dengan penurunan pH sari buah.

Penurunan pH dapat mengakibatkan penurunan muatan pektin yang merupakan penyusun pembentuk gel. Produk dari hidrolisis pektin ini adalah asam galakturonat yang merupakan asam lemah. Asam galakturonat mengalami disosiasi yang tidak sempurna sehingga kurang kuat untuk melepaskan ion H^+ . Sebagian molekul akan berdisosiasi menjadi kation (H^+) dan anion, sebagian yang lainnya tetap larut dalam bentuk molekul. Semakin banyak ion H^+ yang terakumulasi, maka semakin besar penurunan pH yang dihasilkan (Akbar dkk., 2013).

Tabel 3 Hasil Analisis pH pada Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup dengan Penambahan Enzim Poligalakturonase dan Selulase

Enzim	Enzim Poligalakturonase (PG)				Rata-rata
	0% (A ₀)	0,06% (A ₁)	0,09% (A ₂)	0,1% (A ₃)	
Selulase (S)					
0% (B ₀)	4,28	4,27	4,24	4,24	4,26^a
0,1% (B ₁)	4,36	4,28	4,24	4,23	4,28 ^b
0,13% (B ₂)	4,34	4,28	4,22	4,22	4,27^{ab}
0,16% (B ₃)	4,31,	4,25	4,23	4,22	4,25^a
Rata-rata	4,32 ^C	4,27 ^B	4,23^A	4,23^A	

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan beda nyata pada $\alpha = 0,05$. Sig. PG = 0,000; sig. S = 0,014; sig PG*S = 0,003; R squared = 0,886

Selain menggunakan enzim poligalakturonase, klarifikasi sari buah naga super merah ditambahkan enzim selulase. Penambahan enzim selulase secara umum dapat menurunkan pH sirup buah naga super merah. Akan tetapi, penambahan selulase pada konsentrasi 0,16% tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan pH dibandingkan dengan selulase konsentrasi 0% dan 0,13%.

Enzim selulase bekerja memutus rantai ikatan 1,4-D-glikosidik pada rantai selulosa. Enzim endo-1,4- β -glukanase (EC 3.2.1.4) bekerja secara acak menghidrolisis bagian internal 1,4-D-glikosidik rantai selulosa yang mengakibatkan terbentuknya variasi panjang rantai oligosakarida. Dampak yang ditimbulkan yaitu semakin berkurangnya panjang rantai polisakarida dengan cepat dan secara bersamaan terjadi peningkatan jumlah gula pereduksi secara bertahap. Endoglukanase mempengaruhi terjadinya perubahan pH dalam lingkungan media (Yin *et al.*, 2010;Widowati *et al.*, 2016). Penelitian Sinatari *et al.*, (2013) pada penambahan enzim endo-1,4- β -glukanase *Bacillus* sp. AR 009 pada media dengan pH 4-9 cenderung mengalami perubahan pH menjadi basa. Kenaikan pH tersebut karena adanya akumulasi produk berupa gula reduksi sederhana yang merupakan hasil hidrolisis selulosa secara acak pada ikatan 1,4-D-glikosidik. Hal tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian. Lain halnya dengan penelitian Arsad (2015), penambahan enzim selulase kompleks pada sari buah aren dapat menurunkan pH yaitu 4,28 menjadi 4,19. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian. Pada penelitian ini menghasilkan penurunan pH, namun intensitasnya kecil. Proses

hidrolisis selulosa oleh enzim selulase terjadi pada sisi aktif asam amino glutamat. Fraksi gugus (-COOH) dari asam amino glutamat akan bermuatan negatif membentuk (-COO⁻). Proses hidrolisis selulosa mengakibatkan terbentuknya kelebihan ion (-OH).

Penggunaan kombinasi kedua enzim lebih efisien dalam penurunan pH sirup buah naga super merah. Hal tersebut dikarenakan kedua enzim bekerja pada substrat yang berbeda sehingga secara bersamaan dapat mengoptimalkan proses klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup. Penelitian Abbas *et al.*, (2011), pada pembuatan sirup kurma (*deglet nour*, *allig* dan *kentichi*) dengan penambahan enzim pektinase 50 U/100 g dan enzim selulase 5 U/100 g menghasilkan penurunan pH. Nilai penurunan pH yaitu 4,87 menjadi 3,2 (*deglet nour*), 4,48 menjadi 3,12 (*allig*) dan 4,82 menjadi 3,07 (*kentichi*). Penurunan pH dalam klarifikasi sirup ini masih dalam rentang pH buah naga super merah (4,3-5,1), sehingga tidak menghilangkan rasa khasnya dan masih dapat diterima oleh konsumen.

2. Viskositas

Viskositas merupakan sifat ketahanan terhadap aliran suatu bahan yang berwujud cair, pasta atau dalam bentuk gel atau bubur (Sasanto, 2011). Semakin rendah nilai viskositas, maka dihasilkan cairan yang lebih encer sehingga memudahkan dalam proses filtrasi dan meningkatkan rendemen yang dihasilkan. Viskositas sirup yang terdapat di pasaran yaitu 1,811 cps (Pratama dkk., 2013). Hasil analisis nilai viskositas klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4 Hasil Analisis Viskositas Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup dengan Penambahan Enzim Poligalakturonase dan Selulase (cP)

Enzim Selulase (S)	Enzim Poligalakturonase (PG)				Rata-rata
	0% (A ₀)	0,06% (A ₁)	0,09% (A ₂)	0,1% (A ₃)	
0% (B ₀)	10,7	12,4	11,7	10,2	11,3 ^c
0,1% (B ₁)	15,0	12,2	10,6	10,6	12,1^{ab}
0,13% (B ₂)	14,6	12,7	10,8	10,5	12,2 ^b
0,16% (B ₃)	12,4	10,8	10,7	10,2	11,0 ^a
Rata-rata	13,2 ^B	12,0 ^B	10,9^A	10,4^A	

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan beda nyata pada $\alpha=0,05$. Sig. PG = 0,000; sig. S = 0,000; sig PG*S = 0,000; R squared = 0,999

Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase maupun kombinasi keduanya berpengaruh nyata dan terdapat interaksi antara kedua enzim terhadap nilai viskositas sirup buah naga super merah yang dihasilkan. Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase serta kombinasi keduanya secara umum dapat menurunkan nilai viskositas sirup buah naga super merah terlihat pada **Tabel 4**. nilai viskositas sirup buah naga super merah setelah klarifikasi berkisar antara 10,4-13,2 cP. Peningkatan konsentrasi kedua enzim tidak mempengaruhi transmitansi. Hal tersebut terlihat pada penambahan enzim poligalakturonase 0,13% (12,2 cP) yang menghasilkan nilai viskositas lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi 0,1% (12,1 cP).

Penelitian Pinheiro *et al* (2017) penambahan enzim poligalakturonase dapat menurunkan viskositas sari buah markisa sebesar 80% dan sari buah apel sebesar 50%. Pada penelitian Aalia (2010), penambahan enzim Pectinex 3XL (300 FDU/g pektin) dapat menurunkan viskositas dari 3,58 menjadi 0,97 mPas. Namun, nilai viskositas semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi enzim pektinase. Berbeda dengan penelitian Jori *et al.*, (2015), pada sari buah penambahan 1% enzim pektinase dan selulase viskositas 42,4 cP lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan 0,5% enzim pektinase dan selulase nilai viskositas yaitu 34,9 cP.

Proses hidrolisis pektin dengan enzim pektinase menjadikan struktur pektin lebih sederhana. Enzim poligalakturonase

mampu memutus ikatan α -1,4-glikosidik yang terdapat pada pektin. Enzim poligalakturonase dibagi menjadi terdiri atas dua jenis yaitu ekso poligalakturonase dan endo poligalakturonase. Hidrolisis enzim poligalakturonase mempengaruhi viskositas berdasarkan letak pemotongannya. Hidrolisis pada rantai tengah lebih terlihat pengaruhnya dalam menentukan viskositas apabila dibandingkan dengan pemotongan pada bagian ujung rantai (Pedrolli *et al.*, 2009).

Menurut penelitian Tu *et al* (2013), penggunaan enzim endo poligalakturonase 4 U/ml pada klarifikasi sari buah pepaya menurunkan viskositas sebesar 17,6%. Pada hidrolisis pektin, adanya pektin-protein yang memiliki kemampuan memegang kapasitas air yang tinggi dan mengembangkan struktur kohesi jaringan. Hidrolisis pektin yang menyebabkan kapasitas daya ikat air menjadi menurun dan air bebas dilepaskan ke sistem sehingga viskositas sari buah menurun (Singh *et al.*, 2012).

3. Total Padatan Terlarut

Total padatan terlarut menunjukkan bahan-bahan yang dapat larut dalam larutan. Komponen-komponen tersebut dalam buah berupa glukosa, fruktosa, sukrosa dan protein yang larut air (pektin) (Farikha dkk., 2013). Nilai total padatan terlarut suatu larutan dapat diukur menggunakan *hand refraktometer* (Ihsan dan Wahyudi, 2010). Total padatan terlarut pada daging buah naga super merah yaitu $38,65 \pm 0,31$ (Barcelon dkk., 2015).

Total padatan terlarut dalam pembuatan sirup tinggi, dikarenakan adanya penambahan sukrosa (Susanto,

2011). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3544-1994, kadar gula minimum pada sirup yaitu mutu I 65 % dan mutu II 55%. Menurut Pratama dkk.,(2013), total padatan terlarut pada sirup di pasaran yaitu mencapai 68,4 °Brix.

Total padatan terlarut pada hasil klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup mengalami peningkatan seiring dengan pertambahan konsentrasi enzim. Peningkatan total padatan terlarut dapat menjadi indikator dalam pemutusan rantai selulosa oleh enzim selulase yang menghasilkan gula-gula sederhana. Selain itu, total padatan terlarut yang tinggi mengindikasikan adanya pemecahan pektin menjadi struktur yang lebih sederhana. Hasil analisis total padatan terlarut pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Penambahan enzim poligalakturonase dan selulase maupun kombinasi keduanya berpengaruh nyata dan terdapat interaksi antara kedua enzim terhadap total padatan terlarut sirup buah naga super merah yang dihasilkan. Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase serta kombinasi keduanya secara umum dapat meningkatkan total padatan terlarut sirup buah naga super merah terlihat pada **Tabel 5**. Nilai total padatan terlarut sirup berkisar antara 39,7-42,6°Brix. Peningkatan konsentrasi kedua enzim mempengaruhi kenaikan total padatan terlarut. Hal tersebut terlihat pada penambahan enzim poligalakturonase 0,09% (42,6°Brix) dan enzim selulase 0,13% (42,1°Brix) dibandingkan dengan penambahan enzim poligalakturonase 0,1% (41,4°Brix) dan enzim selulase 0,16% (41,8°Brix).

Peningkatan total padatan terlarut pada klarifikasi sari buah naga

super merah baik dengan penambahan enzim poligalakturonase, enzim selulase dan kombinasi kedua enzim. Konsentrasi enzim dalam hal ini tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Selain itu, peningkatan total padatan terlarut terjadi pada penelitian Arsad *et al* (2015) yaitu pada sari buah aren dengan penambahan enzim pektinase, enzim selulase maupun kombinasi keduanya dapat meningkatkan nilai total padatan terlarut apabila dibandingkan dengan kontrol. Menurutnya, hal tersebut terjadi karena adanya kenaikan gula terlarut yang merupakan hasil dari konversi pektin terlarut oleh enzim pektinolitik dan enzim selulase dalam hidrolisisnya menghasilkan gula.

Penambahan enzim poligalakturonase mengakibatkan pemecahan pektin menjadi asam galakturonat. Semakin banyak pemecahan pektin dapat meningkatkan terbentuknya asam galakturonat. Prinsip kerja enzim poligalakturonase menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik menjadi D- galakturonat pada substansi pektin rantai acak. Asam galakturonat merupakan gula reduksi yang termasuk dalam komponen padatan terlarut sehingga, dapat meningkatkan nilai total padatan terlarut (Pedrolli *et al.*, 2009).

Penambahan enzim selulase yang dalam bentuk endo- β -1,4-glukanase bekerja dengan memotong secara acak pada sisi internal dari rantai selulosa dan menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi sehingga menghasilkan ujung rantai baru. Hal tersebut berefek pada berkurangnya rantai polisakarida dan terjadi peningkatan gula pereduksi secara bertahap (Le *et al.*, 2012). Peningkatan gula pereduksi mengakibatkan nilai total padatan terlarut sirup buah naga super merah meningkat.

Tabel 5 Hasil Analisis Total Padatan Terlarut pada Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup dengan Penambahan Enzim Poligalakturonase dan Selulase ($^{\circ}$ Brix)

Enzim Selulase (S)	Enzim Poligalakturonase (PG)				Rata-rata
	0% (A ₀)	0,06% (A ₁)	0,09% (A ₂)	0,1% (A ₃)	
0% (B ₀)	35,3	40,8	42,2	40,7	39,7 ^a
0,1% (B ₁)	41,0	41,3	43,5	41,3	41,8 ^b
0,13% (B ₂)	42,0	42,1	42,7	41,5	42,1^c
0,16% (B ₃)	41,1	42,0	42,1	41,9	41,8
Rata-rata	39,9 ^A	41,6 ^C	42,6^D	41,4 ^B	

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan beda nyata pada $\alpha=0,05$. Sig. PG = 0,000; sig. S = 0,000; sig PG*S = 0,000; R squared = 0,991

Menurut Vinjamuri (2015), peningkatan TPT berkaitan erat dengan derajat pemecahan jaringan, komponen seperti gula pada proses ini cenderung lebih banyak yang dilepaskan. Berdasarkan hal tersebut, kombinasi kedua enzim dapat menghasilkan pemecahan komponen pektin dan selulosa secara bersamaan dibandingkan dengan menggunakan satu enzim saja. Hal tersebut mengakibatkan semakin banyak terbentuknya gula sederhana yang akan berkontribusi dalam kenaikan total padatan terlarut sirup buah naga super merah.

4. Transmittansi

Transmittansi merupakan perbandingan intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan cahaya datang. Nilai transmittansi merupakan parameter penting untuk mengetahui tingkat kejernihan atau kekeruhan sirup. Semakin tinggi nilai transmittansi, maka tingkat kejernihan semakin tinggi atau tingkat kekeruhan semakin rendah (Sharma et al., 2014). Nilai transmittansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 535 nm. Hasil analisis transmittansi pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase maupun kombinasi keduanya berpengaruh nyata dan terdapat interaksi antara kedua enzim terhadap nilai transmittansi sirup buah naga super merah yang dihasilkan. Penambahan enzim poligalakturonase dan enzim selulase serta kombinasi keduanya secara

umum dapat meningkatkan nilai transmittansi sirup buah naga super merah terlihat pada **Tabel 6**. Nilai transmittansi sirup berkisar antara 56,7-72 %T. Peningkatan konsentrasi kedua enzim mempengaruhi kenaikan nilai transmittansi. Hal tersebut terlihat pada penambahan enzim poligalakturonase 0,06% (72 %T) dan enzim selulase 0,1% (71%T) menghasilkan nilai transmittansi lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan enzim poligalakturonase 0,09% (60,5 %T) dan enzim selulase 0,13% (61,6 %T).

Peningkatan nilai transmittansi disebabkan adanya kerja spesifik enzim dalam menghidrolisis pektin dan selulosa. Penambahan enzim poligalakturonase mengakibatkan pemecahan pektin menjadi asam galakturonat. Semakin banyak pemecahan pektin dapat meningkatkan terbentuknya asam galakturonat. Prinsip kerja enzim poligalakturonase menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik menjadi D-galakturonat pada substansi pektin rantai acak (‘Aliaa et al., 2010).

Menurut Utami dkk., (2015), sari buah yang baru diekstrak kaya akan partikel yang tidak larut (*cloud particles*) yang sebagian besar terbentuk dari pektin. Di partikel ini nukleus protein yang bermuatan positif dilapisi oleh molekul pektin yang bermuatan negatif yang berkontribusi memberikan efek keruh pada sari buah (*cloudiness*). Dengan adanya pektinase yang menghidrolisis pektin maka molekul yang bermuatan negatif pun juga terhidrolisis sehingga kekeruhan sari buah akan berkurang.

Tabel 6 Hasil Analisis Transmittansi Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah dalam Pembuatan Sirup dengan Penambahan Enzim Poligalakturonase dan Selulase (%T)

Enzim Selulase (S)	Enzim Poligalakturonase (PG)				Rata-rata		
	0% (A ₀)	0,06% (A ₁)	0,09% (A ₂)	0,1% (A ₃)			
0% (B ₀)	50,0	0,53	62,6	0	66,8	71,6	62,8 ^b
0,1% (B ₁)	71,9	0,23	77,2		66,2	68,7	71,0^d
0,13% (B ₂)	54,5	0,42	70,4		49,4	72,2	61,6 ^a
0,16% (B ₃)	50,3	0,38	77,9		59,7	74,4	65,6 ^c
Rata-rata	56,7 ^A		72,0^B		60,5 ^B	71,7 ^C	

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan beda nyata pada $\alpha = 0,05$. Sig. PG = 0,000; sig. S = 0,000; sig PG*S = 0,000; R squared = 0,999.

Nilai transmittansi berbanding terbalik dengan viskositas sari buah jeruk, karena semakin rendah viskositas sari buah maka semakin tinggi nilai transmittansinya. Hal ini disebabkan oleh kerja spesifik masing-masing enzim dalam memecah pektin dan selulosa. Sehingga dapat mengurangi kekeruhan dalam sari buah dan meningkatkan kejernihan sari buah. Penelitian Widowati *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa, penggunaan variasi konsentrasi enzim pektinase dapat mengurangi kekeruhan pada klarifikasi sari buah jeruk. Menurut Widowati *et al.*, (2016), selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan 1,4- β . Enzim selulase akan menghidrolisis selulosa menjadi gula-gula sederhana, sehingga ikatan yang mengikat glukosa akan hilang dan dapat mengurangi kekeruhan dalam klarifikasi sari buah naga dalam pembuatan sirup.

Berdasarkan hasil analisis pH, viskositas, total padatan terlarut dan transmittansi pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terdapat keterkaitan antara keempat uji. Penurunan pH dapat disebabkan proses hidrolisis pektin yang membentuk asam galakturonat dan asam karboksilat. Asam galakturonat dalam hal ini termasuk dalam jenis gula reduksi yang merupakan komponen padatan terlarut. Di samping itu, hasil dari hidrolisis selulosa merupakan gula-gula sederhana, dengan kombinasi kedua hal tersebut dapat

meningkatkan total padatan terlarut pada sirup. Semakin banyaknya pektin dan selulosa yang terhidrolisis maka semakin banyak terbentuk molekul yang lebih sederhana. Sehingga partikel yang mengendap menurun dan tingkat kekeruhan turun dan meningkatkan kejernihan sirup. Hal tersebut yang mengakibatkan peningkatan nilai transmittansi. Hidrolisis pektin dan selulosa juga menyebabkan reduksi kapasitas mengikat air. Air bebas akan dilepaskan ke dalam sistem yang mengakibatkan menurunnya nilai viskositas.

Pemilihan Perlakuan Terbaik

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim poligalakturonase isolat bakteri *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 konsentrasi 0%; 0,06%; 0,09% dan 0,1% dengan enzim selulase isolat bakteri *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 0%; 0,1%; 0,13% dan 0,16% terhadap klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup. Hasil dari perlakuan kombinasi kedua enzim tersebut dibandingkan dengan perlakuan kontrol, sehingga didapatkan perlakuan terbaik. Perlakuan terbaik dipilih berdasarkan pertimbangan hasil parameter uji meliputi pH, total padatan terlarut, transmittansi dan viskositas. Penentuan konsentrasi terbaik pada klarifikasi sari buah dalam pembuatan sirup dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7 Penentuan Konsentrasi Terbaik

Sampel	Sirup Buah Naga				
	pH	TPT (°Brix)	%T	Viskositas (cP)	
PG 0% + S 0% (Kontrol)	4,28 ^{cd}	35,3 ^a	50 ^b	10,7 ^b	0
PG 0% + S 0,1%	4,36 ^e	41 ^{bcd}	71,9 ^j	15,0 ^g	0
PG 0% + S 0,13%	4,34 ^e	42 ^f	54,5 ^c	14,6 ^f	0
PG 0% + S 0,16%	4,31 ^d	41,1 ^{cd}	50,3 ^b	12,4 ^{de}	0
PG 0,06% + S 0%	4,27 ^{bc}	40,8 ^{bc}	62,6 ^e	12,4 ^{de}	0
PG 0,06% + S 0,1%	4,28 ^{cd}	41,3 ^{de}	77,2 ^l	12,2 ^d	0
PG 0,06% + S 0,13%	4,28 ^{cd}	42,1 ^f	70,4 ⁱ	12,7 ^e	0
PG 0,06% + S 0,16%	4,25 ^{abc}	42 ^f	77,9 ^m	10,8 ^b	2
PG 0,09% + S 0%	4,24 ^{ab}	42,2 ^f	66,8 ^g	11,7 ^c	1
PG 0,09% + S 0,1%	4,24 ^{ab}	43,5 ^h	66,2 ^f	10,6 ^{ab}	3
PG 0,09% + S 0,13%	4,22 ^a	42,7 ^g	49,4 ^a	10,8 ^b	1
PG 0,09% + S 0,16%	4,23 ^a	42,1 ^f	59,7 ^d	10,7 ^b	1
PG 0,1% + S 0%	4,24 ^{ab}	40,7 ^b	71,6 ^j	10,2 ^a	2
PG 0,1% + S 0,1%	4,23 ^a	41,3 ^{de}	68,7 ^h	10,6 ^{ab}	2
PG 0,1% + S 0,13%	4,22 ^a	41,5 ^e	72,2 ^j	10,5 ^{ab}	2
PG 0,1% + S 0,16%	4,22 ^a	41,9 ^f	74,4 ^k	10,2 ^a	2

Keterangan :

- Notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$

- PG = Enzim Poligalakturonase dan S = Enzim Selulase

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan konsentrasi terbaik dari kombinasi enzim poligalakturonase dan selulase pada klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup. Konsentrasi terbaik dipilih menurut interaksi terhadap semua parameter uji kemudian diberikan bobot skor. Penambahan enzim poligalakturonase dengan konsentrasi 0,09% dan enzim selulase konsentrasi 0,1% memiliki bobot skor tertinggi sehingga dipilih sebagai konsentrasi terbaik.

Penambahan kombinasi enzim poligalakturonase dan selulase pada parameter pH terdapat pengaruh nyata. Penambahan kedua enzim tersebut menghasilkan penurunan pH yang disebabkan oleh kinerja enzim pada hidrolisis substrat masing-masing. Nilai pH yang diperoleh pada pemilihan konsentrasi terbaik tersebut yaitu 4,24, masih mendekati nilai pH buah naga super merah pada umumnya yaitu 4,7-5,1.

Penambahan kombinasi enzim poligalakturonase dan enzim selulase pada parameter viskositas menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap peningkatan nilai viskositas. Semakin rendah nilai

viskositas, maka tingkat semakin encer sirup buah naga super merah. Pada pemilihan konsentrasi terbaik diperoleh nilai viskositas sirup buah naga super merah sebesar 10,2 cP menurun apabila dibandingkan dengan kontrol yaitu 10,7 cP, interaksi keduanya berpengaruh nyata. Penambahan enzim mengakibatkan hidrolisis pektin sehingga kapasitas daya ikat air menurun dan air bebas dilepaskan ke sistem dan menyebabkan viskositas menurun (Singh *et al.*, 2012). Enzim selulase akan menghidrolisis selulosa, kemudian menjadi selobiosa dan hasil akhirnya adalah glukosa (Sharma *et al.*, 2014). Semakin banyak pektin dan selulosa yang terhidrolisis mengakibatkan semakin menurunnya viskositas.

Penambahan kombinasi enzim poligalakturonase dan selulase pada parameter total padatan terlarut terdapat pengaruh nyata. Secara keseluruhan nilai total padatan terlarut mengalami kenaikan. Menurut Arsad *et al.*, (2015) yaitu penambahan enzim pektinase, enzim selulase, dan kombinasi keduanya dapat meningkatkan nilai total padatan terlarut jika dibandingkan dengan kontrol. Menurut hal tersebut terjadi karena adanya kenaikan

gula terlarut yang merupakan hasil dari konversi pektin terlarut oleh enzim pektinolitik. Selain itu, hidrolisis selulosa menghasilkan molekul-molekul gula yang sederhana yang memberikan pengaruh pada peningkatan total padatan terlarut. Pemilihan perlakuan terbaik untuk nilai total padatan terlarut yang mempunyai nilai tertinggi dibandingkan dengan kontrol yaitu 43,5°Brix sedangkan total padatan terlarut kontrol yaitu 35,3°Brix.

Penambahan kombinasi enzim poligalakturonase dan selulase pada parameter transmitansi menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap peningkatan nilai transmitansi. Semakin tinggi nilai transmitansi, maka tingkat kecerahan sirup buah naga super merah semakin tinggi. Selulosa dapat menyebabkan tingkat kekeruhan pada sari buah dalam pembuatan sirup, dengan adanya enzim selulase dapat menghidrolisis selulosa sehingga dapat meningkatkan kecerahan pada sirup yang dihasilkan (Kanmani dkk., 2011). Perlakuan terbaik pada parameter transmitansi diperoleh nilai transmitansi sebesar 66,2 %T lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (50%T).

KESIMPULAN

Penambahan enzim poligalakturonase isolat bakteri *Bacillus licheniformis* GD2a AR2, enzim selulase isolat bakteri *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6 dapat menurunkan pH, meningkatkan total padatan terlarut, meningkatkan transmitansi dan menurunkan viskositas. Penambahan enzim poligalakturonase dan selulase pada klarifikasi sari buah naga super merah menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada semua parameter. Konsentrasi terbaik hasil klarifikasi sari buah naga super merah dalam pembuatan sirup terdapat pada sampel dengan penambahan 0,09 % enzim poligalakturonase isolat bakteri *Bacillus licheniformis* GD2a AR2 dan 0,1 % enzim selulase isolat bakteri *Bacillus subtilis* Krakarya_1 S6.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbès, F., Bouaziz, M.I., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H., Besbes, S. (2011). Date Syrup: Effect of Hydrolytic Enzymes (Pectinase/Cellulase) on Physicochemical Characteristics, Sensory and Functional Properties. *Journal Food Science and Technology*, 44 (1): 1827-1834.
- Akbar, A., Painsoman, R., Coniwanti, P. (2013). Pengaruh Variabel Waktu dan Temperatur terhadap Pembuatan Asap Cair dari Limbah Kayu Pelawan (*Cyanometra cauliflora*). *Jurnal Teknik Kimia*, 1 (19): 1-8.
- Akesowan, A., Choonhahirun, A. (2013). Effect of Enzyme Treatment On Guava Juice Production Using Response Surface Methodology. *Journal Animal Plant Science*, 23 (1): 114-120.
- Aliaa, A.R.N., Mazlina, M.K.S., Taip, F.S. (2010). Impact of Commercial Pectolytic Enzymes on Selected Properties of White Dragon Fruit Juice. *The Institution of Engineers Journal*, 17 (4): 25-31.
- Arsad, P., Sukor, R., Wam Ibadullah, WZ., Mustapha, NA., Meor Hussin, AS. (2015). Effects of Enzymatic Treatment on Physicochemical Properties of Sugar Palm Fruit Juice. *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*, 5 (5): 308-312.
- Barcelon, E., Carreon, L., Guillermo, J., Jacob, E., Jocson, S., Panopio J. G., Rosalinas, S. (2015). Consumer Acceptability and Physico-chemical Content of Red Flesh Dragon Fruit Spread. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 9 (2): 18-21.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). (1994). *SNI 01-3544-1994 Sirup*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Farikha, I.N., Anam, C., Widowati, E. (2013). Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil Alami terhadap Karakteristik Fisikokimia Sari

- Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknosains Pangan*, 2 (1): 30-38.
- Hadiwijaya, H. (2014). Pengaruh Perbedaan Penambahan Gula terhadap Karakteristik Sirup Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Andalas, Padang. Repository Unand.
- Harvey, F.I.W., Januar, J., Kusmiati, A. (2009). Trend Produksi dan Prospek Pengembangan Komoditas Buah Naga di Kabupaten Jember. *Jurnal SEP*, 3 (2): 71-78.
- Ihsan, F., Wahyudi, A. (2010). Teknik Analisis Kadar Selulosa pada Buah Pepaya. *Buletin Teknik Pertanian*, 15 (1): 10-12.
- Jori, D.B., Pawar, A.V., Kudake, D.C. (2015). Multienzymatic Clarification of Blended Pineapple and Mango Pulp Using Response Surface Methodology. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 6 (1): 49-56.
- Kanmani, R., P. Vijayabaskar, dan S. Jayalakshmi. (2011). Sacharification of Banana-agro Waste and Clarification of Apple Juice by Cellulase Enzyme Produced from *Bacillus pumilis*. *World Applied Sciences Journal* 12(11): 2120-2128.
- Kothari, M.N., Kulkarni, J.A., Maid, P.M., Baig, M.M.V. (2013). Clarification of Apple Juice by Using Enzymes and Their Mixture. *World Research Journal of Biotechnology*, 1 (2): 29-31.
- Kristanto D. (2008). *Buah Naga, Pembudidayaan di Pot dan di Kebun*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Le, T.T., Nguyen, V.P.T., Lee V.V.M. (2012). Application of Cellulase Preparation to Guava Mash Treatment in Juice Processing: Optimization of Treatment Conditions by RSM. *Asian Journal of Food and Agro- Industry*, 5 (4): 284-291.
- Li, Q., Anthony. M., Coffman, Lu-Kwang Ju. 2015. Development of reproducible assays for polygalacturonase and pectinase. *Journal Enzyme and Microbial Technology* 72: 42-48.
- 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*, 3 (9): 9-18.
- Phuong, T.N.M. (2014). Application of Hydrolytic Enzymes for Improvement of Red Dragon Fruit Juice Processing. The School of Biotechnology, International University.
- Pinheiro, V.E., Desagiacomo, C.C.V., Michelin, M., Maller, A., Monteiro, L.M.O., Jorge, J.A., Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli. (2017). Neosartorya Glabra Polygalacturonase Produced from Fruit Peels as Inducers has the Potential for Application in Passion Fruit and Apple Juices. *Brazilian Journal of Food Technology*, ISSN 198 1-6723: 45-50.
- Pratama, S. B., Wijana, S., Febrianto, A. (2013). Studi Pembuatan Sirup Tamarillo (Kajian Perbandingan Buah dan Konsentrasi Gula. *Jurnal Industria* 1(3): 181-194.
- Pratomo. 2008. *Superioritas Jambu Biji dan Buah Naga*. <http://www.unika.ac.id/pasca/pmpt/?p=5>. (Diakses pada tanggal 12 Agustus 2020).
- Sasanto, W.H., Setyohadi, B.R. (2011). Pengaruh Varietas Apel (*Malus sylvestris*) dan Lama Fermentasi oleh Khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Perlakuan Pra-Pengolahan terhadap Karakteristik Sirup. *Jurnal Teknologi Pangan*, 12 (3): 771-775.
- Sharma, P. K., Chand, D. (2012). *Pseudomonas sp. Xilanase for Clarification of Mozambi and Orange Fruit Juice*. International Journal of Advancement in Research & Technology, 21 (1): 1-14.

- Sharma, H. P., Patel, H., Sharma, S. (2014). Enzymatic Extraction and Clarification of Juice From Various Fruits-A Review. *Trends in Post Harvest Technology*, 2(1), 1-14. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.977434>.
- Sinatari, H. M., Aminin, A.L.N., Sarjono, P.R. (2013). Pemurnian Selulase dari Isolat Kb Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *Chem Info* 1(1): 130-140.
- 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.
- Tu, Tao., Kun Meng., Yingguo Bai., Pengjun Shi., Huiying Luo., Yaru Wang., Peilong Yang., Yuhong Zhang., Wei Zhang dan Bin Yao. (2013). High-Yield Production of a Low-Temperature-Active Polygalacturonase for Papaya Juice Clarification. *Food Chemistry Journal*, 141 (3): 33-35.
- Utami, R., Widowati, E., Rahayu, A. (2015). Screening dan Karakterisasi Pektinesterase Sebagai Enzim Potensial dalam Klarifikasi Sari Buah Jeruk Keprok Garut (*Citrus nobilis* var. chrysocarpa). *Jurnal Agritechnology* 35 (4): 422-433.
- Vinjamuri, S. (2015). Optimization Studies on Enzymatic Clarification of Mixed Fruit Juices. *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology*, 5 (2): 22-25.
- Wahlstrom, R. (2014). Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Aqueous Ionic Liquids. VTT Technical Research Centre of Finland.
- Widowati, E., Utami, R., Nurhartadi, E., Putro, R. R. M. (2016). Screening and Characterization of Cellulose Enzyme in Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Juice Clarification. Proceeding. The Sixth Indonesian Biotechnology Conference: 397-403.
- Widowati, E., Utami, R., Khalistyatika, K. (2017). Screening and Characterization of Polygalacturonase as Potential Enzyme for keprok Garut orange (*Citrus nobilis* var chrysocarpa) Juice Clarification. *Journal of Physics: Conference of Series* 909 (1), 012088.
- Yin L, Lin H, Xiao Z. (2010). Purification and Characterization of a Cellulose from *Bacillus subtilis* YJ1. *J Marine Science Technol*, 18 (3): 43-46.