

Pengaruh Kombinasi Enzim Pektinesterase dan Poligalakturonase terhadap Klarifikasi Sari Buah Apel Varietas Manalagi

Effects of Pectinesterase and Polygalacturonase Enzyme Combination of Manalagi Apple Juice Clarification

Esti Widowati^{1*}, Rohula Utami¹, Bambang Sigit Amanto¹, Edwi Mahadjoeno², Agrizka Armunanta Putri¹

¹Program Studi Ilmu Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret,
Jl. Ir. Sutami 36 A, Ketingan, Jebres, Surakarta 57126, Indonesia

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret,
Jl. Ir. Sutami 36A, Ketingan, Jebres, Surakarta 57126, Indonesia

*Penulis korespondensi: Esti Widowati, *E-mail*: estiwidowati@staff.uns.ac.id; esti_widowati@yahoo.com

Tanggal submisi: 30 Januari 2019; Tanggal penerimaan: 23 Maret 2020

ABSTRAK

Apel merupakan buah yang mengandung banyak nutrisi, memiliki tingkat panen dan konsumsi yang tinggi. Salah satu varietas apel lokal di Indonesia yaitu Manalagi yang memiliki warna hijau kekuningan dan rasa yang manis, namun mudah busuk dan rusak. Oleh hal tersebut, mendorong masyarakat mengolahnya menjadi produk olahan sari buah apel manalagi untuk menaikkan nilai jual dan mempertahankan daya simpan. Akan tetapi, mempunyai masalah utama yaitu pencoklatan dan kekeruhan karena pektin. Kekeruhan karena pektin sangat sulit dihilangkan kecuali dengan depektinasi enzimatis. Enzim pektinase, pektinesterase (PE) dan poligalakturonase (PG) digunakan untuk menjernihkan sari buah apel karena akan mendegradasi substansi pektin menjadi fraksi lebih kecil. Klarifikasi sempurna sari buah apel hanya dapat terjadi dengan adanya enzim PG dan PE. Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor yaitu konsentrasi enzim (0,5% dan 1%) dan rasio PG:PE (1:5; 1:2; 1:1; 2:1; 5:1). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *two way* ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi berpengaruh terhadap nilai pH dan transmitansi. Rasio berpengaruh terhadap nilai Total Padatan Terlarut (TPT) dan transmitansi. Interaksi antara konsentrasi dan rasio berpengaruh terhadap nilai pH dan viskositas. Perlakuan terbaik hasil klarifikasi sari buah apel manalagi ada pada konsentrasi 0,5% dan rasio PG:PE 5:1.

Kata kunci: Apel; klarifikasi; enzim; pektinesterase; poligalakturonase

ABSTRACT

Apple is a fruit with numerous nutrient content alongised high levels of harvest and consumption. The Manalagi is one of the varieties grown in Indonesia, characterized by a yellowish green coloration, sweet taste, as well as easy rot and damage potentials. Hence, many people have encouraged the need to process raw samples into processed juice products. This practice raises the sale value and prolongs the shelflife. However, the apple juice have a major challenge of easy browning and turbidity, resulting from the pectin content. Furthermore, removal is harder due to turbity, exceptthrough enzymatic depectination, with the pectinase enzymes, particularly pektinesterase (PE) and polygalacturonase (PG). The presence of these materials in the juice mixture leads to inherent pectin degradation into smaller fractions and consequently ensures clarity. In addition, the research involved Completely Randomized Factorial Design (CRFD) with two factors, including enzyme concentration (0.5% and 1%) and PG:PE ratio (1: 5, 1: 2, 1: 1, 2: 1; 5 : 1). Therefore, the data obtained were analyzed using two way ANOVA with 5% significance level. The variance analysis result showed the effect of concentration on pH and transmittance value, while the ratio influences Total Soluble Solid (TSS) and transmittance value. In addition, both variables collectively

DOI: <http://doi.org/10.22146/agritech.43165>
ISSN 0216-0455 (Print), ISSN 2527-3825 (Online)

affect pH and viscosity values. The best treatment for manalagi apple juice clarification was obtained with 0.5% concentration samples and PG: PE ratio 5:1.

Keywords: Apple; clarification; enzyme; pectinesterase; polygalacturonase

PENDAHULUAN

Apel (*Malus sylvestris* Mill.) merupakan buah yang banyak dikonsumsi di banyak negara dan mengandung beberapa nutrisi seperti serat, mineral, vitamin dan antioksidan. Terdapat empat varietas apel lokal yang dikembangkan salah satunya yaitu apel Manalagi yang memiliki rasa yang manis, bentuk buah bulat, kecil, warna kulit hijau kekuningan dengan daging berwarna putih kekuningan, dan memiliki kandungan (per 100 g) protein 0,30 g, kalsium 6,00 mg, fosfor 10,00 mg, vitamin A 90,00 SI, vitamin C 5,00 mg, air 84% dan pektin 1,5%. Namun apel manalagi mudah busuk dan mudah rusak. Oleh sebab itu, mendorong masyarakat untuk mengolah buah apel manalagi menjadi produk olahan untuk menaikkan nilai jual sekaligus mempertahankan daya simpan salah satunya dengan pembuatan sari buah apel manalagi. Menurut Codex Stan 247 (2005), sari buah merupakan cairan yang tidak difermentasi tetapi dapat difermentasikan yang diperoleh dari bagian baik buah yang matang dan segar atau buah yang disimpan pada kondisi baik serta diolah dengan proses ekstraksi mekanik. Akan tetapi, pada pembuatan sari buah apel manalagi mempunyai masalah utama yaitu pencoklatan dan kekeruhan yang disebabkan oleh pektin. Selama ini, proses klarifikasi sari buah menggunakan agen klarifikasi, filtrasi, penyaringan vakum, dan ultrafiltrasi. Namun mempunyai kelemahan, yaitu terjadinya *fouling*, sedikitnya rendemen yang didapat, waktu pemrosesan lama, dan banyaknya sisa pemrosesan yang dibuang. Kekeruhan karena pektin sangat sulit dihilangkan kecuali dengan depektinasi enzimatis. Penggunaan enzim untuk klarifikasi mempunyai kelebihan yaitu dapat meningkatkan hasil rendemen, menghasilkan sari buah dengan warna yang lebih baik, menghilangkan pektin yang menyebabkan viskositas yang tidak dikehendaki, filtrasi lambat dan kenampakan keruh. Pektinase merupakan kelompok enzim yang mendegradasi substansi yang mengandung pektin menjadi fraksi lebih kecil sehingga mengakibatkan turunnya viskositas, mengurangi pembentukan gel serta meningkatkan konsentrasi sari buah (Screenath dkk., 1987). Termasuk dalam enzim pektinase yaitu pektinesterase (PE) dan poligalakturonase (PG) (Fogarty dkk., 1983). Kontrol dari enzim PE sangat penting untuk stabilitas koloid penyebab kekeruhan pada sari buah apel (Assis Lima and Oliviera, 2001). Sedangkan enzim PG akan menyebabkan pektin

tidak stabil, sehingga gugus hidrofilik (-OH) tidak dapat berikatan dengan air. Sehingga air dalam jus terlepas selama ekstraksi (Pedrolli dkk., 2009). Klarifikasi sari buah apel hanya dengan enzim PG atau PE saja belum dapat mengklarifikasi sempurna sari buah apel. Akan tetapi, pencampuran antara enzim PG dengan enzim PE dapat mengklarifikasi sempurna sari buah apel (Endo, 1965). Larutan pektin asli pada apel berbeda struktur dengan larutan pektin jeruk komersial, apel memiliki derajat esterifikasi 90%, sedangkan pektin jeruk komersial memiliki derajat esterifikasi 64% (Endo, 1965). Pada penelitian yang dilakukan oleh Endo (1965), diperoleh hasil untuk transmitansi dan viskositas dari sari buah apel paling baik pada rasio enzim PG dan PE sebesar 1:1. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui berapa konsentrasi enzim dan rasio enzim PG dan PE yang efektif untuk klarifikasi sari buah apel varietas manalagi. Penelitian ini mengaplikasikan enzim PG dari isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 (Widowati dkk., 2017) dan enzim PE dari isolat bakteri pektinolitik *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 (Utami dkk., 2015) dengan variasi konsentrasi campuran enzim 0,5% dan 1%, serta dengan variasi rasio PG:PE yaitu 1:5; 1:2; 1:1; 2:1; 5:1.

METODE PENELITIAN

Bahan

Apel varietas manalagi (Pasar Gede, Surakarta), enzim pektinesterase (*Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2), enzim poligalakturonase (*Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2), pektin *from apple pomace* 70-75% esterification yang diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, Amerika Serikat).

Alat

Juicer (Cosmos CJ-389), pH meter (Hanna Instrument), inkubator (Mettler), shaker inkubator (HYSC), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *hand refractometer* (ATC), dan viskometer (Otswald).

Metode

Pengujian klarifikasi sari buah apel manalagi, meliputi analisis pH dengan menggunakan pH meter. Batang probe pH dicelupkan ke dalam larutan yang akan diukur pH nya kemudian angka terlihat (Akesowan

dan Choonhahirun, 2013), total padatan terlarut dengan menggunakan *hand refractometer* dengan meneteskan sampel pada area uji *hand refractometer*. Hasil dapat dilihat pada skala tanda batas pengamatan (Modifikasi Sharma dan Chand, 2012), transmisi dengan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 600 nm (Modifikasi Sharma dan Chand, 2012), dan viskositas dengan menggunakan pipet ukur 10 ml. Cairan dihisap sampai tanda tera kemudian dihitung waktu aliran sari buah dengan *stopwatch*. Hasil waktu alir sari buah dibandingkan dengan waktu alir air pada pipet ukur. Viskositas cairan dihitung dengan Persamaan 1 (Modifikasi Giancolli, 1997).

$$\mu = \frac{t(2gr^2(\rho-\rho_0))}{gd} \quad (1)$$

Keterangan:

μ = viskositas
 d = jarak
 ρ = massa jenis bola
 ρ_0 = massa jenis fluida
 r = jari-jari bola
 g = gravitasi
 t = waktu

Pada penelitian ini, diperoleh hasil analisis klarifikasi sari buah apel manalagi dengan penambahan enzim poligalaturonase (PG) isolat bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a AR2 dan enzim pektinesterase (PE) isolat bakteri *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 dengan konsentrasi 0 %; 0,5 %; 1 % serta dengan perbandingan kedua enzim tersebut adalah 1:5; 1:2; 1:1; 2:1 dan 5:1, berdasarkan parameter pH, total padatan terlarut (TPT), transmisi, dan viskositas.

pH

Pengukuran nilai pH digunakan untuk mengetahui perubahan tingkat keasaman suatu produk (Winarno, 1986). Nilai pH sangat mempengaruhi sari buah, dengan penurunan pH dari 4,5 menjadi 3,0 dapat memperpanjang umur simpan sampai 3 kalinya (Sharma dkk., 2014). Menurut Poedjadi (1994),

perubahan pH lingkungan berpengaruh pada efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim-substrat. Pada pH optimum konformasi enzim sama dengan konformasi substrat sehingga pada pH optimum aktivitas enzim paling tinggi. Pengukuran pH penting untuk mengoptimalkan kondisi konformasi substrat dan enzim, serta mengetahui tingkat keasaman produk hasil klarifikasi.

Konsentrasi enzim berpengaruh terhadap pH sari buah apel manalagi ($p < 0,05$). Berdasarkan Tabel 1, pH pada konsentrasi 0,5% (3,87) dan 1% (3,89) lebih rendah dari kontrol (3,90). pH pada konsentrasi 1% (3,89) lebih tinggi daripada 0,5% (3,87). Prinsip kerja PG yaitu menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik pada pektin. Reaksi enzimatik tersebut menghasilkan asam karboksilat dan asam galakturonat sehingga pH menurun (Pedrolli dkk., 2009). Enzim PE bekerja dengan mendemetoksilasi sebagian pektin dan melepas beberapa gugus bebas asam galakturonat bermuatan negatif sehingga dapat menurunkan pH sari buah (Wong, 1995).

pH pada konsentrasi 1% yang lebih tinggi daripada 0,5% tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yamasaki (1964), pH akan semakin menurun seiring dengan penambahan konsentrasi enzim. pH sari buah apel penambahan enzim konsentrasi 0,05% dan 0,1% (3,49) lebih tinggi daripada konsentrasi lebih banyak yaitu 0,2% dan 0,4%. (3,45). Tetapi penelitian tersebut sesuai dengan Muthoharoh (2015) pH sari buah naga super merah konsentrasi PG 0,09 % (4,03) memiliki pH lebih rendah daripada 0,1 % (4,06). Hal tersebut diduga karena reaksi penguraian enzim sudah mencapai kecepatan maksimalnya sehingga dengan penambahan konsentrasi enzim yang lebih banyak tidak menghasilkan nilai yang lebih baik (Winarno, 1986).

Rasio PG:PE tidak berpengaruh terhadap pH sari buah apel manalagi ($p > 0,05$). Hal ini diduga karena aktivitas enzim PG dan PE pada penelitian ini belum cukup menurunkan pH sari buah apel manalagi. Endo dalam penelitiannya (1964) menjelaskan, klarifikasi

Tabel 1. Hasil analisis klarifikasi sari buah apel manalagi terhadap parameter pH

Konsentrasi	Rasio PG:PE					Rata-rata
	1:5	1:2	1:1	2:1	5:1	
0 %	3,90±0,01	3,90±0,01	3,90±0,01	3,90±0,01	3,90±0,01	3,90 ^B ±0,01
0,5%	3,87±0,01	3,86±0,02	3,87±0,00	3,88±0,02	3,88±0,01	3,87 ^A ±0,01
1%	3,89±0,01	3,89±0,01	3,89±0,01	3,88±0,02	3,88±0,01	3,89 ^B ±0,01
Rerata	3,88±0,01	3,88±0,02	3,88±0,01	3,88±0,01	3,88±0,01	

Keterangan: sig. konsentrasi = 0,001; sig. rasio = 0,867; sig. konsentrasi*rasio = 0,030; *R squared* = 0,611. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

sari buah apel lebih bergantung kepada aktivitas masing-masing enzim PG dan PE serta pektin alami pada sari buah apel dibandingkan dengan rasio PG:PE. Aktivitas enzim pada penelitian ini (PG 0,0194 u/mL; PE 1,0945 u/mL) lebih rendah daripada aktivitas enzim pada penelitian Endo (1965) (endoPG-III 2,560 u/mL; PE-I 1,840 u/mL). Aktivitas enzim tersebut dapat mempengaruhi nilai pH sehingga tidak terpengaruh oleh rasio enzim yang berbeda.

Interaksi antara konsentrasi dan rasio PG:PE berpengaruh terhadap pH sari buah apel manalagi ($p < 0,05$). Hal tersebut sama dengan penelitian dari Akesowan dkk. (2013), enzim pektinase (PE dan PG) dapat menghidrolisis pektin pada buah jambu. Reaksi enzimatik tersebut akan menghasilkan asam karboksilat dan asam galakturonat sehingga pH sari buah turun. Penurunan pH sari buah setelah ditambahkan enzim yang tidak berbeda jauh dengan pH buah asalnya menandakan bahwa rasa sari buah hasil klarifikasi tidak berbeda dengan sari buah pada umumnya.

Total Padatan Terlarut (TPT)

Total padatan terlarut (TPT) menunjukkan bahan-bahan yang terlarut dalam larutan (Farikha dkk., 2013) yang dinyatakan dalam °Brix, yaitu skala berdasarkan persentase (berat) sukrosa dalam larutan. Dalam Perdagangan Internasional, TPT digunakan untuk membedakan jenis sari buah (Andriani, 2008). Nilai °Brix yang semakin tinggi menandakan sukrosa dalam sari buah meningkat. Nilai °Brix yang rendah menandakan pektinase telah mendegradasi pektin menjadi gula reduksi lebih sederhana (Widowati dkk., 2017). Pengukuran TPT dapat mengindikasikan tingkat penguraian pektin pada sari buah.

Konsentrasi enzim tidak berpengaruh terhadap nilai TPT ($p > 0,05$). Hasil TPT yang ditunjukkan pada Tabel 2 yaitu antara 13,5-12,0°Brix yang berbeda dengan penelitian dari Iriani (2005), semakin tinggi penambahan konsentrasi pektinase, tingkat degradasi pektin akan semakin tinggi sehingga menyebabkan TPT menurun.

Hasil penelitian tersebut serupa penelitian dari Zeni dkk. (2013) klarifikasi sari buah persik menggunakan PE konsentrasi 0,01%, 0,05%, 0,1%, dan 0,5% tidak berpengaruh terhadap TPT (13,0°Brix). Hal ini diduga karena aktivitas enzim yang digunakan pada penelitian ini masih rendah (PG 0,0194u/mL; PE 1,0945u/mL) sehingga belum dapat mendegradasi seluruh pektin pada sari buah apel manalagi menjadi senyawa yang lebih sederhana. TPT yang menurun disebabkan terdegradasinya senyawa kompleks menjadi senyawa lebih sederhana dengan dilakukan penambahan enzim (Iriani, 2005). Selain itu, pH sari buah apel manalagi (3,89) tidak sesuai dengan pH optimal (6,5) dan stabil enzim PG dan PE bekerja sehingga pemecahan pektin belum maksimal. pH stabil enzim PG adalah 4-7, sedangkan PE 3-8.

Rasio PG:PE berpengaruh terhadap TPT ($p < 0,05$). TPT paling rendah terdapat pada rasio PG:PE 5:1. Semakin kecil PG ditambahkan, TPT semakin tinggi. Hal tersebut tidak sesuai dengan penelitian dari Endo (1965), rasio PG:PE 1:1 nilai pektin larut yang semakin rendah akan menyebabkan klarifikasi semakin tinggi. PG menghidrolisis pektin pada ikatan α -1,4-glikosidik, membentuk D-galakturonat sehingga hidrolisis pektin pada fraksi terlarut akan menjadikan pektin mempunyai molekul lebih kecil dan akan menyebabkan fraksi terlarut berkurang dan menurunkan TPT sari buah (Pedrolli dkk., 2009). PE menghidrolisis metil ester pektin (R-COO-CH₃) menghasilkan gugus karboksil bebas (R-COO⁻), ion H⁺ dan metanol (CH₃OH) (Whitaker, 1984). Hasil dari pemutusan enzim tersebut dapat menurunkan nilai TPT sari buah. Senyawa pektin dipecah pektinase menjadi senyawa lebih sederhana dan menyebabkan penurunan TPT (Satriana dkk., 2014).

Interaksi antara konsentrasi dan rasio PG:PE tidak berpengaruh terhadap TPT ($p > 0,05$). Hal ini karena aktivitas enzim PG dan PE pada penelitian ini belum cukup. Endo dalam penelitiannya (1964) menjelaskan klarifikasi pada sari buah apel bergantung pada aktivitas masing-masing enzim PG dan PE dan pektin alami pada

Tabel 2. Hasil analisis klarifikasi sari buah apel manalagi terhadap parameter total padatan terlarut

Konsentrasi	Rasio PG:PE					Rata-rata
	1:5	1:2	1:1	2:1	5:1	
0 %	13,5±0,00	13,5±0,00	13,5±0,00	13,5±0,00	13,5±0,00	13,5±0,00
0,5%	12,8±0,10	12,8±0,29	12,5±0,50	11,2±1,25	11,0±0,85	12,1±1,03
1%	12,5±0,52	12,6±0,65	12,2±0,79	11,2±1,34	11,0±1,19	12,0±1,15
Rerata	12,5 ^{bc} ±0,52	12,6 ^{bc} ±0,65	12,2 ^{abc} ±0,79	11,2 ^{ab} ±1,34	11,0 ^a ±1,18	

Keterangan: sig. konsentrasi = 0,374; sig. rasio = 0,030; sig. konsentrasi*rasio = 0,966; R squared = 0,480. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

sari buah apel sendiri. Aktivitas enzim pada penelitian ini (PG 0,0194 u/mL; PE 1,0945 u/mL) lebih rendah daripada aktivitas enzim pada penelitian Endo (1965) (endoPG-III 2,560 u/mL; PE-I 1,840 u/mL). Aktivitas enzim tersebut dapat mempengaruhi nilai TPT sehingga tidak terpengaruh oleh interaksi konsentrasi dan rasio enzim.

Kontrol dari aktivitas PE sangat krusial untuk stabilitas sari buah apel keruh. Klarifikasi yang tidak dikehendaki dipengaruhi oleh demetilasi pektin oleh PE yang menghasilkan pektin asam dengan derajat esterifikasi rendah, yang dapat berikatan silang dengan kation polivalen seperti kalsium, membentuk presipitat, atau menjadi target untuk PG (Niu, 2009). Masih adanya kotoran yang melayang pada sari buah apel manalagi diduga karena masih kurangnya aktifitas enzim untuk klarifikasi sehingga pektin belum terdegradasi seluruhnya.

Transmitansi

Transmitansi merupakan perbandingan antara intensitas cahaya yang dilewatkan oleh sampel dibandingkan dengan intensitas cahaya yang dilewatkan pada sampel referensi. Nilai transmitansi diturunkan dari absorbansi dengan persamaan $A = -\log T$ (Timuda, 2010). Sari buah jernih (transmitansi tinggi) merupakan faktor penting pengambilan keputusan konsumen membeli. Konsentrasi pektin tinggi merupakan masalah utama pada pemrosesan sari buah jernih (Sharma dkk., 2014). Penggunaan enzim akan meningkatkan laju klarifikasi yang menyebabkan partikel beragregat menjadi partikel lebih besar dan mengendap (Sin dkk., 2006). Transmitansi menjadi salah satu parameter untuk mengetahui tingkat kecerahan dari kenampakan klarifikasi sari buah. Semakin tinggi %T, semakin rendah kekeruhan atau semakin tinggi kecerahan (Sharma dkk., 2014).

Konsentrasi enzim berpengaruh terhadap transmitansi sari buah apel manalagi ($p = <0,05$).

Dari hasil didapatkan nilai transmitansi (Tabel 3) konsentrasi 0,5% (23,0%T) dan 1% (21,2%T) lebih tinggi daripada kontrol (20,2%T). Pada penambahan enzim konsentrasi 0,5% (23,0%T) transmitansi lebih besar daripada konsentrasi 1% (21,2%T). Endo (1965) menyebutkan, semakin banyak konsentrasi enzim PG dan PE pada sari buah apel akan meningkatkan nilai transmitansi (98%) pada awal waktu. Tetapi hasil akhir nilai transmitansi semua konsentrasi akan sama, dengan semakin bertambahnya waktu klarifikasi. Hal tersebut diduga karena reaksi penguraian enzim sudah mencapai kecepatan maksimalnya sehingga dengan penambahan konsentrasi enzim yang lebih banyak tidak menghasilkan nilai yang lebih baik (Winarno, 1986).

Kerja PG yaitu memutus ikatan poligalakturonat (α -1,4-glikosidik) sehingga molekul poligalakturonat berubah menjadi asam galakturonat (D-galakturonat). Pektin (zat penyebab kekeruhan) terdegradasi lebih kecil sehingga kecerahan (transmitansi) sari buah meningkat (Pedrolli dkk., 2009). PE akan mengde-esterifikasi gugus metil rangka asam galakturonat pektin, sehingga membentuk bagian bermuatan negatif yang akan membentuk kompleks dengan Ca^{2+} , menghasilkan gel pektat Ca^{2+} yang akan berpresipitasi dan menjernihkan sari buah sehingga nilai transmitansi meningkat (Sharma dkk., 2014).

Rasio PG:PE berpengaruh terhadap transmitansi sari buah apel manalagi ($p < 0,05$). Nilai transmitansi tertinggi terdapat pada rasio PG:PE 5:1 (23,2%T). Dari penelitian didapatkan hasil semakin sedikit enzim PG ditambahkan, nilai transmitansi semakin rendah. Hal tersebut sesuai penelitian Endo (1965), semakin tinggi rasio PG:PE (125:1) nilai transmitansi semakin tinggi (92%). Rasio PG:PE (1:5), nilai transmitansi paling rendah (3%T). PG memutus ikatan poligalakturonat (α -1,4-glikosidik) sehingga molekul poligalakturonat berubah menjadi asam galakturonat (D-galakturonat). Pektin (zat penyebab kekeruhan) akan terdegradasi

Tabel 3. Hasil analisis klarifikasi sari buah apel manalagi terhadap parameter transmitansi

Konsentrasi	Rasio PG:PE					Rata-rata
	1:5	1:2	1:1	2:1	5:1	
0 %	20,2±0,35	20,2±0,35	20,2±0,35	20,2±0,35	20,2±0,35	20,2 ^A ±0,35
0,5%	21,6±0,32	22,5±0,95	21,8±0,21	23,9±0,75	24,3±0,35	23,0 ^B ±1,11
1%	20,5±0,15	20,7±0,47	21,0±0,32	21,9±0,38	22,1±0,17	21,2 ^C ±0,71
Rerata	21,1 ^b ±0,64	21,6 ^{bc} ±1,21	21,4 ^c ±1,01	22,9 ^d ±1,24	23,2 ^d ±1,23	

Keterangan: *sig.* konsentrasi = 0,000; *sig.* rasio = 0,000; *sig.* konsentrasi*rasio = 0,344; *R squared* = 0,916. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

menjadi lebih kecil sehingga kecerahan (transmitansi) sari buah meningkat (Pedrolli dkk., 2009). PE mengkatalisis hidrolisis pektin pada sari buah jeruk menjadi asam pektat dan metanol. Ikatan silang asam pektat dan ion kalsium meningkatkan berat molekul pektin, mengurangi kelarutan pektin sehingga terjadi flokulasi yang menyebabkan hilangnya kekeruhan pada sari buah dan terjadi klarifikasi spontan, sehingga transmitansi pada sari buah meningkat (sari buah menjadi jernih) (Ingallinera dkk., 2005; Utami dkk., 2015).

Interaksi antara konsentrasi dan rasio PG:PE, tidak berpengaruh terhadap nilai transmitansi sari buah apel manalagi ($p = >0,05$). Hal tersebut sesuai penelitian Endo (1965), penambahan campuran enzim konsentrasi dan rasio berbeda awalnya (menit ke 15) mempunyai hasil berbeda, (konsentrasi lebih banyak menghasilkan nilai transmitansi lebih tinggi). Tetapi pada akhir waktu (menit ke 50) proses klarifikasi, nilai transmitansi dengan konsentrasi dan rasio enzim berbeda menghasilkan nilai transmitansi sama (98%).

Pencoklatan apel manalagi merupakan hasil pencoklatan enzimatik dan non enzimatik. Pencoklatan enzimatik disebabkan polifenol oksidase yang mengkatalisis oksidasi komponen fenolik (Niu, 2009). Pencoklatan enzimatik dapat diatasi dengan *blanching* yang akan menginaktivasi polifenol oksidase. Tetapi pencoklatan sari buah apel masih terjadi, dan dibandingkan sari buah apel *rome beauty*, sari buah apel manalagi cenderung memiliki warna lebih coklat walaupun sudah dilakukan *blanching*. Menurut O'beirne (1989), warna coklat pada apel yang disebabkan non enzimatis akan mempunyai warna lebih coklat seiring dengan penurunan pH. Tetapi *rome beauty* memiliki pH (3,2) lebih rendah daripada manalagi (3,9), dan apel manalagi memiliki warna lebih coklat daripada pada *rome beauty*. Hal tersebut dapat diakibatkan adanya kandungan gula pereduksi dan gliserin yang tinggi pada apel manalagi serta kandungan asam askorbat pada apel manalagi lebih rendah. Pencoklatan signifikan

dapat terjadi ketika gula pereduksi dan gliserin ada. Serta adanya asam askorbat berperan pada pencoklatan (O'beirne, 1989).

Viskositas

Viskositas (kekentalan) menggambarkan besarnya hambatan suatu cairan terhadap aliran. Cairan yang lebih kental mempunyai nilai viskositas lebih besar dibandingkan dengan cairan encer (Muchtadi dkk., 2011). Viskositas menjadi salah satu parameter penting pada hasil klarifikasi sari buah karena semakin viskositas berkurang, semakin encer cairan, sehingga dapat meningkatkan hasil rendemen sari buah. Viskositas semakin kecil akan mudah difiltasi sehingga rendemen sari buah meningkat. Pektin berpengaruh terhadap viskositas karena merupakan polisakarida terlarut dan memiliki kapasitas ikat air tinggi sehingga viskositas tinggi. Penambahan pektinase dapat menurunkan viskositas sari buah dan memperbanyak rendemen karena enzim menghidrolisis protopektin dan pektin menjadi rantai lebih pendek serta kapasitas daya ikat air berkurang (Sato dkk., 2006).

Konsentrasi enzim tidak berpengaruh terhadap viskositas ($p = >0,05$). Berdasarkan Tabel 4, viskositas pada penelitian berkisar antara 0,13-0,09 cP. Hal tidak ini sesuai penelitian Joshi dkk., (2010), pada penambahan PE konsentrasi 0,5% viskositas 1,03cP, dan 1% viskositasnya 0,97cP. Menurut Sun dkk., 2006, enzim pektinase menghidrolisis pektin menjadi asam galakturonat sehingga kapasitas ikat air menurun. Hal tersebut mengakibatkan air bebas dilepaskan pada sistem menjadikan menurunnya viskositas sari buah (Lee dkk., 2006). Enzim pada konsentrasi awal belum menghidrolisis pektin sehingga air yang diikat belum sempurna yang mengakibatkan viskositas tidak berbeda satu sama lain. pH pada sari buah apel manalagi (3,89) tidak sesuai dengan pH optimal (6,5) dan stabil enzim PG dan PE bekerja sehingga pemecahan pektin belum maksimal. pH stabil enzim PG adalah 4-7, sedangkan enzim PE 3-8.

Tabel 4. Hasil analisis klarifikasi sari buah apel manalagi terhadap parameter viskositas

Konsentrasi	Rasio PG:PE					Rata-rata
	1:5	1:2	1:1	2:1	5:1	
0 %	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01
0,5%	0,09±0,01	0,11±0,01	0,09±0,01	0,09±0,00	0,09±0,00	0,09±0,01
1%	0,09±0,01	0,09±0,00	0,10±0,00	0,10±0,01	0,09±0,00	0,09±0,01
Rerata	0,09±0,01	0,10±0,02	0,10±0,00	0,09±0,01	0,09±0,00	

Keterangan: *sig.* konsentrasi = 0,555; *sig.* rasio = 0,234; *sig.* konsentrasi*rasio = 0, 008; *R squared* = 0,800. Notasi huruf besar dan kecil yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$

Rasio PG:PE tidak berpengaruh terhadap viskositas sari buah apel manalagi ($p = >0,05$). Kisaran viskositas pada penelitian antara 0,10-0,09 cP. Hal tersebut tidak sesuai penelitian Endo (1965), viskositas sari buah apel didapatkan hasil paling rendah rasio PG:PE 1:1 (1,23), paling tinggi yaitu dengan rasio PG lebih banyak daripada PE (2,18). Hal tersebut karena klarifikasi sari buah apel lebih bergantung aktifitas enzim PG dan PE daripada rasio keduanya, serta jenis sari apel itu sendiri. Aktifitas enzim endo-PG sebesar 2,560 u/mL dan PE sebesar 1,840 u/mL (Endo, 1965). Dalam penelitian aktifitas PG 0,0194 u/mL dan PE 1,0945 u/mL. PG menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik pada pektin menghasilkan D-galakturonat (Pedrolli dkk., 2009). Hidrolisis pektin menjadi rantai lebih pendek akan menurunkan TPT kemudian viskositas akan menurun. PE memecah pektin menjadi senyawa lebih sederhana, metil ester pektin (R-COO-CH₃) yang menghasilkan gugus karboksil bebas (R-COO⁻), ion H⁺ dan metanol (CH₃OH), sehingga TPT turun dan menyebabkan viskositas sari buah turun (Whitaker, 1984).

Selain itu, adanya kandungan pati yang tinggi pada apel (15%) menurut Sorrivias (2006) juga menjadi penyebab keruhnya sari buah apel yang tidak dapat ditangani oleh pektinase. Sehingga penggunaan enzim amilase perlu dilakukan karena amilase akan mendegradasi pati yang dapat berkontribusi pada terbentuknya endapan keruh setelah pembotolan dengan beragregat diantara pektin itu sendiri atau dengan membentuk kompleks protein-pati.

Interaksi antara konsentrasi dan rasio PG:PE berpengaruh terhadap viskositas sari buah apel manalagi ($p = 0,008 < 0,05$). Menurut Yamasaki dkk., (1967), nilai viskositas klarifikasi sari buah apel semakin menurun. Penambahan PE akan menurunkan viskositas secara perlahan, setelah penambahan endo-PG, penurunan viskositas cenderung lebih cepat. Pada penelitian Endo dkk., (1965), hanya dengan endo-PG atau PE saja tidak dapat mengklarifikasi sari buah apel, tetapi kombinasi keduanya dapat mengklarifikasi. Viskositas sari buah apel menurun dari 2,00 cP menjadi 1,2 cP. Klarifikasi pada sari buah apel, pektin mengikat partikel penghambat dan akan mengubahnya menjadi zat lebih kecil dengan kerja dari endo-PG dan PE.

Pektin sari buah apel mempunyai kandungan metoksil tinggi dan membentuk suspensi koloidal yang relatif stabil. PE akan mendemetoksilasi sebagian pektin dan melepas beberapa gugus bebas asam galakturonat yang bermuatan negatif. Asam tersebut akan berkombinasi dengan kation kuat kompleks (Ca²⁺) membentuk gumpalan yang setelahnya akan mengendap atau kation lemah (protein) untuk membentuk awan

terhidrasi lebih stabil. Jika aktivitas PG juga terdapat dalam sistem, rantai panjang pektin akan rusak dan viskositas sari buah akan menurun. Aktifitas PG juga mempengaruhi distribusi dari kompleks pektin-protein, membuatnya beragregat menjadi partikel lebih besar sehingga akan jatuh membentuk endapan. Kombinasi antara PG dan PE diperlukan karena PG tidak akan menyerang metoksil pektin asli pada apel (Wong, 1995).

Penentuan Perlakuan Terbaik

Pada klarifikasi sari buah apel manalagi, penambahan konsentrasi dan rasio PG:PE menunjukkan interaksi yang berbeda-beda untuk tiap parameter uji. Pada parameter pH, konsentrasi enzim berpengaruh terhadap pH, dengan nilai pH terendah pada konsentrasi 0,5% (3,87), rasio PG:PE tidak berpengaruh terhadap pH dan interaksi keduanya berpengaruh. Rasio PG:PE berpengaruh terhadap TPT, dengan nilai TPT terendah ada pada rasio PG:PE 5:1 (11,0 °Brix). Konsentrasi enzim dan interaksi antara keduanya tidak berpengaruh terhadap TPT. Konsentrasi enzim dan rasio PG:PE berpengaruh terhadap transmitansi, dengan nilai tertinggi transmitansi ada pada konsentrasi 0,5% (23%T) dan rasio PG:PE 5:1 (23,2%T). Interaksi keduanya tidak berpengaruh pada transmitansi. Konsentrasi enzim dan rasio PG:PE tidak berpengaruh terhadap viskositas, tetapi interaksi keduanya berpengaruh terhadap viskositas.

Berdasarkan analisis pH, TPT, transmitansi dan viskositas menunjukkan bahwa sampel dengan perlakuan terpilih ialah penambahan enzim dengan konsentrasi 0,5% dan rasio PG:PE 5:1. Perlakuan ini ditunjukkan dengan nilai pH (3,883) yang menurun dari kontrol (3,895) dan masih masuk pada pH sari buah apel pada umumnya (3,0-4,5). TPT menurun terendah (10,967 °Brix) dari sampel kontrol (13,500 °Brix), transmitansi yang meningkat (24,300 %T) dari sampel kontrol (20,250 %T) dan viskositas yang menurun (0,086 cP) dari sampel kontrol (0,134 cP).

KESIMPULAN

Konsentrasi dan interaksi antara konsentrasi dan rasio berpengaruh terhadap nilai pH, sedangkan rasio tidak berpengaruh. Konsentrasi berpengaruh terhadap nilai TPT, sedangkan rasio dan interaksi antara konsentrasi dan rasio tidak berpengaruh. Konsentrasi dan rasio berpengaruh terhadap nilai transmitansi, tetapi interaksi antara konsentrasi dan rasio tidak berpengaruh terhadap nilai transmitansi. Konsentrasi dan rasio tidak berpengaruh terhadap nilai viskositas, tetapi interaksi antara konsentrasi dan rasio berpengaruh terhadap

nilai viskositas. Penambahan enzim dengan perlakuan konsentrasi dan rasio PG:PE dapat menurunkan nilai pH, TPT, viskositas, dan menaikkan nilai transmitansi. Konsentrasi terbaik hasil klarifikasi sari buah apel manalagi terdapat pada sampel dengan konsentrasi 0,5% dan rasio terbaik ada pada rasio enzim poligalakturonase dan enzim pektinesterase 5:1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Direktorat Jendral Perguruan Tinggi Tahun 2017-2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Akesowan, A & Choonhahirun, A. (2013). Effect of Enzyme Treatment On Guava Juice Production Using Response Surface Methodology. *J. Anim.Plant.Sci*, 23(1), 114-120
- Andriani, D. (2008). *Formulasi Sari Buah Jeruk Pontianak (Citrus nobilis var. microcarpa) dengan Aplikasi Metode Lye Peeling Sebagai Upaya Penghilangan Rasa Pahit pada Sari Buah Jeruk*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Assis, D. S. A., Lima, D. C., & De Faria Oliviera, O. M. M. (2001). Activity of Pectinmethylesterase, Pectin Content and Vitamin C in Acerola Fruit at Various Stages of Fruit Development. *Food Chemistry*, 74(2), 133–137. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00104-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00104-2).
- Codex Stan 247. (2005). *General Standard for Fruit Juices and Nectars*. Codex Alimentarius.
- Endo, A. (1964). Studies on Pectolytic Enzymes of Molds – Part VII. Turbidity of Apple Juice Clarification and Its Application to Determination of Enzyme Activity. *Agricultural and Biological Chemistry*, 28 (4), 234-238.
- Endo, A. (1965). Studies on Pectolytic Enzymes of Molds - Part XV. Effect of pH and Some Chemical Agents on the Clarification of Apple Juice. *Agricultural and Biological Chemistry*, 29(3), 222-228. <https://doi.org/10.1080/00021369.1965.10858373>.
- Endo, A. (1965). Studies on Pectolytic Enzymes of Molds - Part XVI. Mechanism of Enzymatic Clarification of Apple Juice. *Agricultural and Biological Chemistry*, 29(3), 229-233.
- Endo, A. (1965). Studies on Pectolytic Enzymes of Molds – Part XIII. Clarification of Apple Juice by The Joint Action of Purified Pectolytic Enzymes. *Agricultural and Biological Chemistry*, 29(2), 129-136. <http://doi.org/10.1080/00021369.1965.1085835>.
- Endo, A. (1965). Studies on Pectolytic Enzymes of Molds – Part XIV. Properties of Pectin in Apple Juice. *Agricultural and Biological Chemistry*, 29(2), 137-143. <http://doi.org/10.1080/00021369.1965.1085835>.
- Farikha, I. N., Anam, C., & Widowati, E. (2012). 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.
- Fogarty, W.M., & Kelly, C.T. (1983). *Pectic Enzymes*, In: *Microbial Enzymes and Biotechnology*. W.M. Fogarty, (Ed.) (pp. 131-182). Applied Science Publishers.
- Ingallinera, B., Riccardo, N. B., Spagna, G., Palmeri, R., & Todaro, A. (2005). Effects of Thermal Treatments on Pectinesterase Activity Determined in Blood Oranges Juices. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(2-3), 258–263. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.08.041>.
- Joshi, V.K., Mukesh, P., & Rana, N. (2011). Purification and Characterization of Pectinase Produced from Apple Pomace and Evaluation of Its Efficacy in Fruit Juice Extraction and Clarification. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(2), 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.biotech.2008.07.1866>.
- Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., & Baharin, B. S. (2006). Optimizing Conditions For Enzymatic Clarification of Banana Juice Using Response Surface Methodology (RSM). *Journal Food Engineering*, 73 (1), 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2005.01.005>.
- Muchtadi, T. R., Sugiyono, & Ayustaningwarno, F. (2011). *Ilmu Pengetahuan Bahan*. Bandung: Alfabeta.
- Muthoharoh. (2015). *Penggunaan Enzim Poligalakturonase dan Gelatin dalam Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah (Hylocereus costaricensis)*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Niu, S., Xu, Z., Fang, Y., Zhang, L., Yang, Y., Liao, X., & Hu, X. (2010). Comparative Study on Cloudy Apple Juice Qualities from Apple Slices Treated by High Pressure Carbon Dioxide and Mild Heat. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 11(1), 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.09.002>.
- O'berne, D. (1986). Effect of pH on Nonenzymic Browning during Storage in Apple Juice Concentrate Prepared from Bramley's Seedling Apples. *Journal of Food Science*, 51(4). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb11238.x>.
- 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. <https://doi.org/10.2174/187407070090301009>.
- Poedjiadi, A. (1994). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Sato, A. C. K., Sanjine ´z-Argandona, E. J., & Cunha, R. L. (2006). Original article: The Effect of Addition of Calcium and Processing Temperature on The Quality of Guava in Syrup. *International Journal of Food Science and*

- Technology*, 41(4), 417–424. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01088.x>.
- Satriana, A. R., & Prasetyawan, S. (2014). Pengaruh Ion Kalsium (Ca²⁺) Terhadap Aktivitas Pektinase Hasil Isolasi dari *Bacillus firmus*. *Kimia Student Journal*, 2(1), 345-350.
- Screenath, H. K., Nanjundaswamy, A. M., & Sreekantiah, K. R. (1987). Effect of Various Cellulases and Pectinases on Viscosity Reduction of Mango Pulp. *Journal of Food Science*, 52(1): 1-2. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb14016.x>.
- 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>.
- Sharma, P. K., & Chand, D. (2012). *Pseudomonas* sp. Xilanase for Clarification of Mozambi and Orange Fruit Juice. *International Journal of Advancement in Research & Technology* 1(2).
- Sin, H. N., Yusof, S., Hamid, N. S. A., & Rahman, R. A. (2006). Optimization of Enzymatic Clarification of Sapodilla Juice Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Engineering*, 73(4), 313-319. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2005.01.031>.
- Sorrivas, V., Genovese, D. B., & Lozano, J. E. (2006). Effect of Pectinolytic and Amylolytic Enzymes on Apple Juice Turbidity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(2), 118-133. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2006.00054.x>.
- 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 Agritech*, 35(4), 422-433. <http://doi.org/10.22146/agritech.9326>.
- Whitaker, J. R. (1984). Pectic substances, pectic enzymes and haze formation in fruit juices. *Enzyme and Microbial Technology*, 6(8), 341–349. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(84\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0141-0229(84)90046-2).
- Widowati, E., Parnanto, N. H. R & Muthoharoh. (2020). Pengaruh Enzim Poligalakturonase dan Gelatin dalam Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah (*Hylocereus coticaricensis*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 13(1), 56-69. <https://doi.org/10.20961/jthp.v13i1.40950>.
- Widowati, E., Utami, R., Nurhartadi, E., Andriani, M. A. M., & Wigati, A. W. (2014). Produksi dan Karakterisasi Enzim Pektinase oleh Bakteri Pektinolitik dalam Klarifikasi Jus Jeruk Manis (*Citrus cinensis*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(1). <https://doi.org/10.17728/jatp.38>.
- Widowati, E., Utami, R., & Kalistiyatika, K. (2017). Screening and Characterization of Polygalacturonase as Potential Enzyme for Keprok Garut Orange (*Citrus nobilis* Var. Chrysocarpa) Juice Clarification. *Journal of Physics. Conference Series*, 909(1), 1-10. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/909/1/012088>.
- Winarno, F. G. (1986). *Enzim Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wong, D. W. S. (1995). *Food Enzyme: Structure and Mechanism*. London: Chapman and Hall.
- Yamasaki, M., Akiko K., Shang-Young C., & Arima, K. (1967). Pectic Enzymes in The Clarification of Apple Juice – Part II. The Mechanism of Clarification. *Journal Agricultural and Biological Chemistry*, 31(5), 552-560. <http://doi.org/10.1080/00021369.1967.1085884>.
- Yamasaki, M., Yasui, T., & Arima, K. (1964). Pectic Enzymes in the Clarification of Apple Juice – Part I. Study on the Clarification Reaction in a Simplified Model. *Journal Agricultural and Biological Chemistry*, 28(11), 779-787. <https://doi.org/10.10080/00021369.1964.1085830>.
- Zeni, J., Gomes, J., Ambroszini, É., Toniazzo, G., Oliveira, D. D., dan Valduga, E. (2013). Experimental Design Applied to The Optimization and Partial Characterization of Pectin-Methyl-Esterase from A Newly Isolated *Penicillium brasilianum*. *African Journal of Biotechnology*, 12(40), 5886-5896. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-8913201402536>.