

## Pengaruh Ion-ion Logam terhadap Aktivitas Pektinase dari *Aspergillus niger* pada Penjernihan Sari Buah Jambu

Dian P. Anggraini<sup>1)\*</sup>, Anna Roosdiana<sup>1)</sup>, Sasangka Prasetyawan<sup>1)</sup>, Diah Mardiana<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Program Pasca Sarjana Kimia, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran No.1 Malang, 65123

Diterima 25 Februari 2013, direvisi 15 April 2013

### ABSTRAK

Enzim pektinase dapat digunakan pada penjernihan berbagai jenis minuman sari buah, namun kinerjanya dapat dipengaruhi oleh ion-ion logam yang terkandung dalam buah-buahan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis inhibisi ion logam  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase dari *Aspergillus niger* dan potensinya pada penjernihan sari buah jambu. Uji aktivitas dilakukan pada pH 5, temperatur 50°C selama 55menit dengan konsentrasi masing-masing ion 2–10mM. Kadar asam galakturonat, sebagai produk hidrolisis substrat pektin, digunakan sebagai dasar penentuan aktivitas dan dianalisis secara spektrofotometri visibel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mulai konsentrasi 4mM ion  $Zn^{2+}$ ;  $Mg^{2+}$  menjadi inhibitor untuk aktivitas pektinase sedangkan untuk ion  $Ca^{2+}$  mulai konsentrasi 6mM. Nilai  $K_i$  untuk ion logam  $Zn^{2+}$ ;  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  saat konsentrasi 6mM berturut-turut adalah 176,99; 326,09 dan 280,37mM. Pektinase dari *Aspergillus niger* mampu mengurangi kadar pektin dari sari buah jambu sebesar 18%.

**Kata kunci:** pektinase, *Aspergillus niger*,  $K_i$ , asam galakturonat, penjernihan.

### ABSTRACT

Pectinase can be used on various fruit juices clarification, however the activities can be affected by their metal ions content. The purpose of this study was to determine the type of metal ions inhibition i.e.  $Zn^{2+}$ ;  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  on the pectinase activity of *Aspergillus niger*, and its potential application in guava juice clarification. Activity assays performed at pH 5, temperature 50°C during 55minutes and each ion concentration were 2-10 mM. Galacturonic acid concentration, as the product of pectin substrate hydrolysis, used as the basis for determining its activity and analyzed by visible spectrophotometry. The results showed that the ions concentration of  $Zn^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  more than 4 mM were inhibitor for pectinase activity while  $Ca^{2+}$  ion concentration was 6mM.  $K_i$  values for the metal ions  $Zn^{2+}$ ;  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  at concentrations of 6mM were 176.99; 326.09 and 280.37 mM respectively. Pectinase from *Aspergillus niger* were able to reduce 18% of pectin of guava juice.

**Key word:** pectinase, *Aspergillus niger*,  $K_i$ , galacturonic acid, clarification.

### PENDAHULUAN

Di alam, mikroorganisme mempunyai potensi besar dalam menghasilkan banyak jenis enzim yang dapat digunakan secara

komersial. Pektinase adalah salah satu enzim penting dalam bioteknologi yang dapat diaplikasikan dalam ekstraksi dan penjernihan sari buah [1].

Pektinase mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis senyawa pektin menghasilkan asam galakturonat [2]. Enzim ini berperan dalam pemecahan ikatan glikosidik dari rantai panjang karbon. Sisi aktif dari pektinase atau

-----  
\*Corresponding author :  
E-mail: dpuspita4@gmail.com

poligalakturonase yaitu residu asam amino aspartat dan histidin. Enzim pektinase dapat diisolasi dari *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma sp.* dll [3]. Sedangkan bakteri yang dapat menghasilkan pektinase adalah *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus* [4]. Dalam penelitian ini digunakan *Aspergillus niger* strain lokal.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat [5] sehingga diperlukan optimasi untuk setiap variabel tersebut. Dalam proses penjernihan sari buah, ion-ion logam yang terkandung dalam buah berpengaruh terhadap aktivitas pektinase. Ion logam yang terkandung dalam buah jambu diantaranya adalah magnesium, kalsium dan seng. Kandungan magnesium dalam jambu biji 22 mg/100g. Kandungan kalsium dan seng berturut-turut adalah 18 mg/100g dan 0,23 mg/100g [6].

Adanya ion logam dapat mempengaruhi sisi aktif enzim dan kestabilan molekul protein, sehingga pada konsentrasi tinggi ion logam dapat mempengaruhi ikatan dan substrat. Dengan demikian ion logam dapat bertindak sebagai aktivator atau inhibitor. Pada konsentrasi 0-30 mM logam alkali seperti  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  dapat meningkatkan aktivitas pektinase [7]. Akan tetapi pada penelitian Banu *et al* [8], menyatakan bahwa ion-ion logam dapat mempengaruhi kerja katalitik enzim. Penambahan 5 mM ion logam  $Mg^{2+}$  yang ditambahkan pada uji aktivitas pektinase yang diproduksi oleh *Penicillium chrysogenum* dapat menghambat aktivitas pektinase sebesar 21,2%.

Kinetika enzim ditentukan pada kondisi optimum. Kinetika enzim, berupa parameter  $K_M$  dan  $V_{maks}$ . Dengan mengetahui nilai tersebut, selanjutnya dapat ditentukan konstanta inhibisi ( $K_I$ ) terhadap aktivitas enzim dengan adanya ion logam yang bertindak sebagai inhibitor.

Berdasarkan karakteristik enzim tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk menentukan parameter kinetika enzim yaitu

harga  $V_{maks}$ ,  $K_M$  dan  $K_I$ , serta dapat diaplikasikan dalam penjernihan sari buah jambu.

## METODE PENELITIAN

**Bahan.** Kultur murni *Aspergillus niger* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

**Metode.** Pengamatan dilakukan terhadap enzim pektinase dengan penambahan ion  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas pektinase. Aktivitas pektinase diperoleh dari perhitungan kadar gula pereduksi dengan menggunakan metode DNS.

Kemudian ditentukan nilai  $V_m$  dan  $K_M$  dengan memvariasi konsentrasi substrat dari 0,1-0,5%. Sedangkan, untuk penentuan harga  $K_I$ , dilakukan dengan penambahan ion-ion logam ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) 6mM. Kadar gula pereduksi dari penjernihan sari buah diukur dengan spektrofotometer dengan metode DNS.

**Penentuan aktivitas pektinase.** Penentuan aktivitas enzim pektinase dilakukan dengan cara menguji larutan uji yang terdiri dari substrat pektin 0,5% (b/v), larutan buffer asetat pH 5. Selanjutnya pada tabung 1 ditambahkan enzim pektinase. Campuran ini diinkubasi pada 50°C selama 55 menit. Kemudian ditambahkan 2 mL reagent DNS yang selanjutnya dipanaskan selama 15 menit, didinginkan hingga suhu kamar. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Untuk blanko disiapkan dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan enzim pektinase.

Untuk melihat besarnya satu unit aktivitas enzim tersebut digunakan persamaan sebagai berikut:

$$AE = \frac{x \cdot V \cdot f_i}{p \cdot q} \quad (1)$$

dimana :

AE = aktifitas enzim (U. mL<sup>-1</sup>)

$x$  = konsentrasi gula pereduksi ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )  
 $V$  = volume total sampel percobaan tiap tabung (mL)  
 $q$  = waktu reaksi (menit)  
 $p$  = volum ekstrak kasar pektinase (mL)  
 $fp$  = faktor pengenceran

**Pengaruh penambahan ion  $\text{Zn}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Substrat pektin 0,5% (b/v) dimasukkan ke dalam 6 tabung reaksi (kecuali tabung 1). Tiap tabung (tabung 1-6) ditambahkan pektinase, buffer asetat pH 5 dan 1 mL air bebas reduktor. Selanjutnya masing-masing tabung (tabung 2-6) ditambahkan 1 ml  $\text{ZnCl}_2$  2-10 mM. Untuk menyamakan volume larutan pada tabung 1 ditambahkan 2 mL akuades. Kemudian semua tabung reaksi tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 55 menit. Selanjutnya, ditambahkan 2 mL reagen DNS dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 15 menit. Selanjutnya, didinginkan dalam air es sehingga mencapai suhu kamar. Kemudian diukur kadar gula pereduksinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada pajang gelombang 540 nm.

**Pengaruh penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Untuk mengetahui pengaruh penambahan ion  $\text{Mg}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase, cara yang dilakukan sama seperti pada penambahan ion  $\text{Zn}^{2+}$ . Dalam hal ini,  $\text{MgCl}_2$  yang ditambahkan sebanyak 1 mL dengan variasi konsentrasi 2-10 mM.

**Pengaruh penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Untuk mengetahui pengaruh penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase, cara yang dilakukan sama seperti pada penambahan ion  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$ . Dalam hal ini,  $\text{CaCl}_2$  yang ditambahkan sebanyak 1 mL dengan variasi konsentrasi 2-10 mM.

**Penentuan  $V_m$ ,  $K_M$ , dan  $K_i$ .** Untuk penentuan nilai  $V_{maks}$  dan  $K_M$  dilakukan dengan menguji aktivitas pektinase dengan cara membuat variasi konsentrasi pektin 0,1-0,5% (b/v). Sedangkan untuk menentukan Harga konstanta inhibisi ( $K_i$ ) ditentukan dengan menguji aktivitas pektinase dengan

cara membuat variasi konsentrasi substrat pektin 0,1- 0,5% (b/v) dengan penambahan ion logam ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan  $\text{Ca}^{2+}$ ) 6 mM.

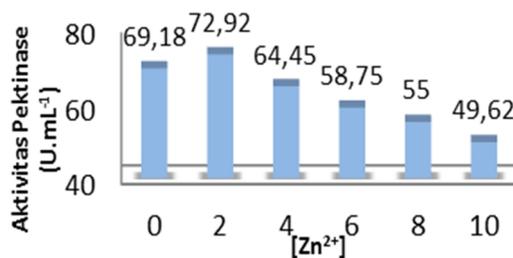
## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Penentuan aktivitas pektinase.** Aktivitas pektinase didefinisikan sebagai banyaknya gula pereduksi yang dihasilkan oleh 1 mL enzim dalam waktu satu menit. Pada fraksi 40-80% mempunyai aktivitas tertinggi, karena dengan adanya fraksinasi menggunakan ammonium sulfat protein akan mengendap berdasarkan berat molekulnya. Sehingga, kadar protein pada fraksi 40-80% menurun. Sedangkan pada ekstrak kasar, aktivitasnya jauh lebih rendah karena adanya protein enzim selain pektinase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*.

**Tabel 1.** Aktivitas Pektinase berbagai fraksi..

Fraksi	Aktivitas Enzim (U. mL <sup>-1</sup> )
Ekstrak kasar	70,5
0-40%	74,2
40-80%	79,8
80-100%	77,0

**Pengaruh penambahan ion  $\text{Zn}^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Hasil penelitian yang diperoleh adalah sebagai berikut :



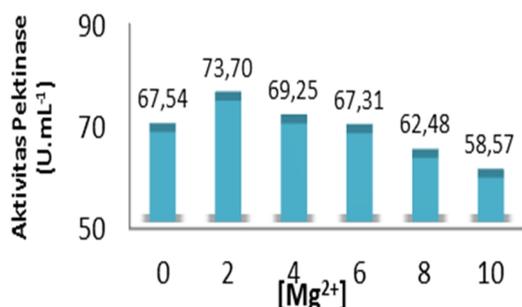
**Gambar 1.** Aktivitas pektinase pada variasi konsentrasi  $\text{Zn}^{2+}$ .

Gambar 1 memperlihatkan aktivitas pektinase semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi  $\text{Zn}^{2+}$ . Pada konsentrasi 2 mM ion  $\text{Zn}^{2+}$  dapat meningkatkan aktivitas pektinase. Sedangkan,

untuk konsentrasi yang lebih tinggi yakni 4-10 mM menurunkan aktivitas pektinase. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ion  $Zn^{2+}$  dapat bertindak sebagai aktivator maupun inhibitor. Penurunan aktivitas pektinase terjadi, dimungkinkan karena dengan bertambahnya konsentrasi ion  $Zn^{2+}$ , maka R-COO- dari asam aspartat yang merupakan sisi aktif pektinase akan cenderung berikatan dengan  $Zn^{2+}$ . Selain itu, ukuran molekul juga berpengaruh dalam proses pembentukan kompleks ES, dalam hal ini ion  $Zn^{2+}$  memiliki ukuran molekul yang lebih kecil dibandingkan dengan substrat. Dengan meningkatnya konsentrasi ion  $Zn^{2+}$ , pektinase yang seharusnya memutus ikatan  $\alpha$ -(1,4)-Glukosida akan cenderung berikatan dengan ion  $Zn^{2+}$ , sehingga jumlah kompleks ES yang terbentuk akan berkurang. Pada kondisi ini, kemampuan enzim untuk menghidrolisis substrat menjadi berkurang yang ditunjukkan dengan aktivitasnya yang menurun.

Berdasarkan analisa statistik dengan RAL menunjukkan bahwa penambahan  $Zn^{2+}$  berpengaruh terhadap aktivitas pektinase yang ditunjukkan dengan  $F_{hitung} > F_{tabel}$ . Untuk mengetahui perbedaan perlakuan pada masing-masing konsentrasi  $Zn^{2+}$ , dilakukan uji BNT 5% dimana dengan penambahan ion  $Zn^{2+}$  memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim.

**Pengaruh penambahan ion  $Mg^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Gambar 2. menunjukkan bahwa penambahan ion  $Mg^{2+}$  berpengaruh terhadap aktivitas pektinase dan ion  $Mg^{2+}$  dapat bertindak sebagai aktivator maupun inhibitor.



**Gambar 2.** Aktivitas pektinase pada variasi konsentrasi ion  $Mg^{2+}$ .

Dari Gambar 2, dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 2 mM ion  $Mg^{2+}$  berfungsi meningkatkan aktivitas pektinase (aktivator) yang berperan dalam pembentukan kompleks enzim dengan substrat. Ion  $Mg^{2+}$  merupakan asam lewis yang mempunyai peran yang sama seperti ion  $H^+$  pada asam aspartat, dimana ion  $Mg^{2+}$  menarik pasangan elektron bebas dari atom O yang digunakan untuk membentuk ikatan glikosida, selanjutnya terjadi proses hidrolisis oleh adanya  $H_2O$  yang menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan enzim dengan substrat dan terbentuklah monomer gula pereduksi.

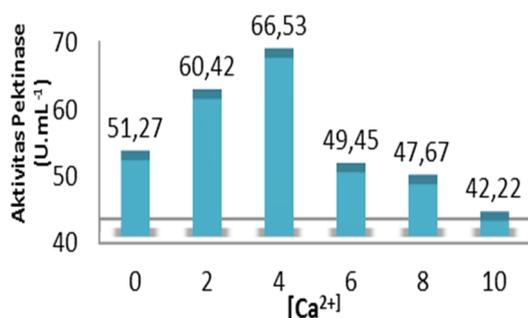
Pada penelitian ini penambahan konsentrasi 2 mM, ion  $Mg^{2+}$  mempunyai jumlah yang sama dengan jumlah elektron bebas yang mampu diikat pada reaksi enzimatis pektinase dengan pektin, sehingga aktivitas yang dihasilkan merupakan aktivitas tertinggi. Selain itu ion  $Mg^{2+}$  mempunyai sifat sebagai stabilisator panas yaitu menstabilkan keadaan transisi pada reaksi enzim dengan substrat.

Sedangkan pada konsentrasi 4-10 mM ion  $Mg^{2+}$  mengalami penurunan aktivitas pektinase. Hal ini dikarenakan ion  $Mg^{2+}$  tidak lagi menarik pasangan elektron bebas pada reaksi enzimatis pektinase dengan pektin akan tetapi mengikat sisi aktif pektinase sehingga menghalangi pektin berikatan dengan pektinase dan akibatnya aktivitas pektinase semakin menurun. Berdasarkan uji statistika dengan RAL menunjukkan bahwa penambahan ion  $Mg^{2+}$  berpengaruh terhadap aktivitas pektinase, dengan nilai F hitung  $> F_{tabel_{0,05}}$ .

**Pengaruh penambahan ion  $Ca^{2+}$  terhadap aktivitas pektinase.** Berdasarkan gambar 3, aktivitas pektinase berubah dengan penambahan ion  $Ca^{2+}$  pada sampel. Penambahan ion  $Ca^{2+}$  pada konsentrasi rendah yakni 2 dan 4mM meningkatkan aktivitas pektinase. Namun pada konsentrasi 6-10 mM ion  $Ca^{2+}$  menurunkan aktivitas pektinase.

Ion  $Ca^{2+}$  dapat bersifat sebagai aktivator dan inhibitor pada kondisi tertentu dalam reaksi katalitik yang sama. Ion  $Ca^{2+}$  pada konsentrasi 2 dan 4mM berperan sebagai

aktivator pektinase karena dapat meningkatkan aktivitasnya. Kemungkinan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dapat berperan sebagai aktivator enzim dalam pembentukan intermediet enzim-substrat (ES).



**Gambar 3.** Aktivitas pektinase pada variasi konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$ .

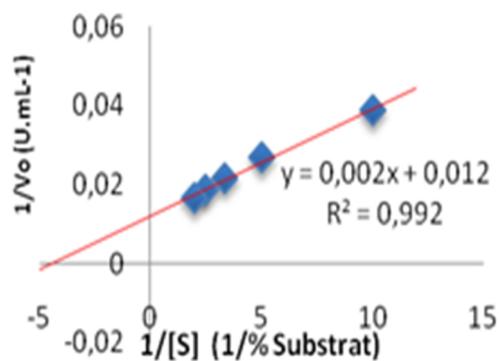
Hal ini karena ion  $\text{Ca}^{2+}$  merupakan logam yang berperan sebagai asam lewis (aseptor elektron) seperti halnya ion  $\text{H}^+$  dari gugus –COOH asam aspartat yang mempermudah penyerangan ion karboksilat dari asam aspartat terhadap atom C1 yang mengikat atom O pada ikatan glikosidik polimer pektin. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  ini akan terikat pada dua sisi enzim dari rantai samping asam aspartat. Ion  $\text{Ca}^{2+}$  akan menerima pasangan elektron bebas atom O, selanjutnya terjadi hidrolisis oleh  $\text{H}_2\text{O}$  yang menyebabkan ikatan glikosidik polimer pektin terputus dan terbentuk gula pereduksi (asam galakturonat) yang merupakan monomer dari pektin.

Ikatan  $\text{Ca}^{2+}$  dengan sisi aktif pektinase tersebut sulit digambarkan dalam mekanisme reaksi. Ikatan  $\text{Ca}^{2+}$  dengan sisi aktif enzim ini dapat memantapkan struktur enzim sehingga pektinase dapat berfungsi secara maksimal dalam proses hidrolisis pektin menjadi asam galakturonat. Selain itu, ion  $\text{Ca}^{2+}$  juga berperan sebagai stabilisator yakni membantu menstabilkan keadaan transisi pada reaksi antara enzim dengan substrat sehingga kompleks enzim substrat yang terbentuk tidak terurai kembali menjadi enzim dan substrat tetapi cenderung bereaksi ke kanan membentuk produk gula pereduksi (asam galakturonat) [9]. Penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  sebagai aktivator memberikan peningkatan

aktivitas tertinggi pada konsentrasi 4 mM yakni mencapai  $66,5 \text{ U.mL}^{-1}$  jika dibandingkan aktivitas pektinase tanpa penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$ .

Berdasarkan analisa statistik rancangan acak lengkap (RAL) dengan uji F menunjukkan bahwa penambahan variasi konsentrasi konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  berpengaruh terhadap aktivitas pektinase.

**Penentuan  $V_m$ ,  $K_M$ , dan  $K_I$ .** Hubungan antara konsentrasi substrat dengan aktivitas dapat digunakan untuk menentukan konstanta kinetika enzimatis pektinase meliputi  $K_m$ , dan  $V_m$  dengan menggunakan persamaan *Lineweaver-burk* ( $1/V_o$  dengan  $1/[S]$ ).

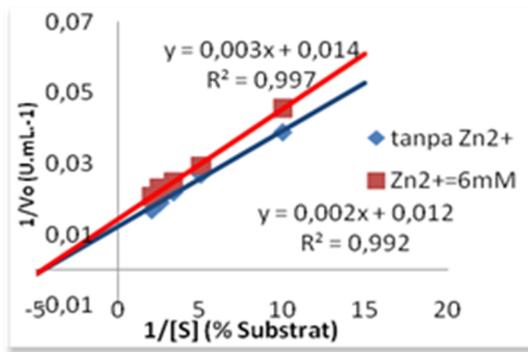


**Gambar 4.** Hubungan antara  $1/V_o$  dengan  $1/[S]$ .

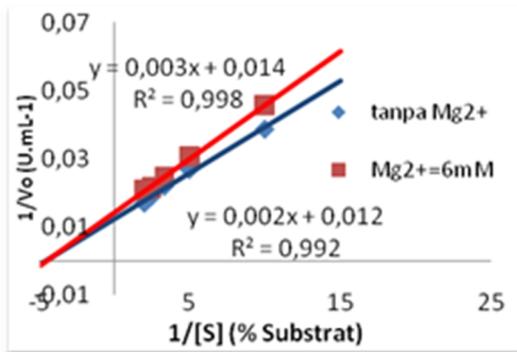
Persamaan garis yang diperoleh dari grafik hubungan  $1/V_o$  dengan  $1/[S]$  pada Gambar 4 adalah  $y = 0,0027x + 0,0123$ . Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan *Lineweaver-burk* diperoleh  $V_m = 81,3 \text{ U.mL}^{-1}$ , dan  $K_M = 0,22\%$ .

Selain konsentrasi substrat, enzim juga dipengaruhi oleh adanya zat lain berupa aktivator ataupun inhibitor, penambahan ion yang meliputi  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Ca}^{2+}$  pada variasi konsentrasi 4- 10 mM menyebabkan aktivitas enzim menurun sehingga perlu diketahui jenis inhibisi ion  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Ca}^{2+}$  tersebut dengan mengetahui konstanta inhibisinya ( $K_I$ ). Konstanta inhibisi ( $K_I$ ) merupakan konstanta yang menggambarkan kesetimbangan disosiasi kompleks enzim inhibitor (EI). Jika nilai  $K_I$  besar, maka enzim memiliki afinitas yang rendah terhadap inhibitor, sehingga kompleks EI tidak stabil dan cenderung terurai

menjadi enzim (E) dan inhibitor (I). Sebaliknya jika  $K_i$  kecil, maka inhibitor memiliki afinitas yang tinggi terhadap enzim. Sehingga inhibitor akan terikat dengan kuat pada enzim yang mengakibatkan konformasi enzim berubah dan tidak sesuai dengan konformasi substrat sehingga tidak terbentuk kompleks enzim substrat yang akan bereaksi lebih lanjut untuk membentuk produk gula pereduksi yakni asam galakturonat.

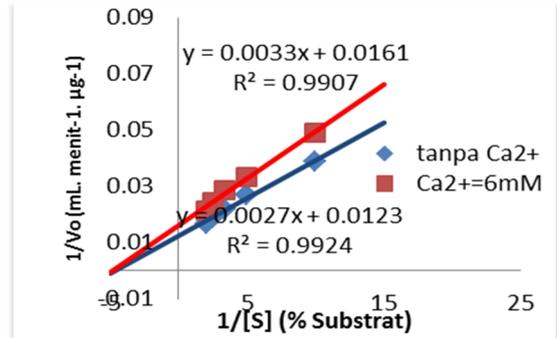


Gambar 5. Hubungan antara  $1/V_o$  dengan  $1/[S]$  dengan adanya inhibisi.



Gambar 6. Hubungan antara  $1/V_o$  dengan  $1/[S]$  dengan adanya inhibisi.

Pada Gambar 5, terlihat bahwa pada pektinase dengan penambahan ion  $Zn^{2+}$  konsentrasi 6 mM, diperoleh intersep sebesar 0,0146 dan slope 0,0031, sehingga nilai  $V_m$  sebesar  $68,5 \mu\text{g. mL}^{-1} \cdot \text{menit}^{-1}$  dan  $K_M$  sebesar 0,21%. Sedangkan intersep untuk ion  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  (Gambar 6 dan 7) berturut-turut 0,0144; 0,0161, dan slope untuk  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  adalah 0,0031 dan 0,0033.



Gambar 7. Hubungan antara  $1/V_o$  dengan  $1/[S]$  dengan adanya inhibisi.

Apabila dibandingkan dengan nilai  $V_m$  dan  $K_M$  pektinase tanpa penambahan ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ), mempunyai nilai  $K_M$  yang hampir sama tetapi nilai  $V_m$  berbeda dimana  $V_m$  pektinase tanpa penambahan ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) lebih besar dibandingkan dengan penambahan ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) 6 mM. Pada Gambar 5, 6 dan 7 dapat diketahui bahwa jenis inhibisi ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) adalah inhibisi non-kompetitif. Pada kondisi ini ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) tidak berperan membantu sisi aktif enzim sebagai aseptor elektron karena kemampuan sisi aktif enzim untuk mengikat ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) terbatas. Ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) berikatan dengan sisi lain (allosterik) selain sisi aktif enzim membentuk kompleks enzim-inhibitor (EI). Hal ini menyebabkan konformasi enzim berubah (EI), sehingga mengurangi kapasitas enzim yang aktif yang akan berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat.

Penambahan konsentrasi ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) yang semakin meningkat, mengakibatkan konformasi enzim-substrat menjadi tidak optimal karena enzim telah jenuh dengan ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) sehingga ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) tidak terikat lagi dengan sisi aktif enzim. Akan tetapi ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) terikat pada sisi lain enzim selain sisi aktifnya yakni pada sisi allosterik (pengaturan) enzim. Enzim (pektinase) bersifat fleksibel (dapat berubah bentuk). Menurut teori fleksibilitas enzim, adanya inhibitor

yakni ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) yang terikat pada sisi allosterik enzim akan menekan keberadaan gugus aktif enzim sehingga konformasi enzim tidak sesuai dengan substrat. Akibatnya enzim tidak dapat berikatan dengan substrat dan pembentukan produk asam galakturonat terhambat sehingga aktivitas pektinase menurun.

Ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) sebagai inhibitor non-kompetitif selain terikat pada sisi allosterik enzim bebas, kemungkinan juga dapat terikat pada saat enzim berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat-inhibitor (ESI). Hal ini mengakibatkan baik kompleks EI dan ESI tidak aktif. Karena inhibitor tidak dapat dilawan dengan peningkatan konsentrasi substrat, sehingga pembentukan asam galakturonat menjadi terhambat dan kecepatan reaksi ( $V_m$ ) berubah. Namun, karena substrat masih dapat mengikat enzim,  $K_M$  tetap sama.

Dengan membandingkan kedua persamaan *Lineweaver-burk* maka diperoleh harga konstanta inhibisinya ( $K_I$ ). Nilai  $K_I$  dari hasil perhitungan untuk ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) berturut-turut sebesar 176,99; 326,09 dan 280,37mM. Dengan mengetahui harga  $K_I$ , kadar gula pereduksi dari sari buah jambu tanpa dan dengan pektinase sebesar 108.95381 and 128.67  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

### KESIMPULAN

Aktivitas pektinase tertinggi pada fraksi 40-80% sebesar 79,80 ( $\text{U. mL}^{-1}$ ). Penambahan ion  $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  berpengaruh terhadap aktivitas pektinase. Ion-ion tersebut dapat bertindak sebagai aktivator maupun inhibitor. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan *Lineweaver-burk* diperoleh  $V_m = 81, \text{U. mL}^{-1}$ , dan  $K_M = 0,22\%$ . Nilai  $K_I$  dari hasil perhitungan untuk ion ( $Zn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ ) berturut-turut sebesar 176,99; 326,09 dan 280,37, dengan jenis inhibisi non-kompetitif. Pektinase dari *Aspergillus niger* mampu mengurangi kadar pektin dari sari buah jambu sebesar 18%.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rai P., Majumdar G. C., Gupta S. D. and De S. (2004), Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology, *J. Food Eng.*, **64**,397-403.
- [2] Jayani, R. S., S. Saxena, dan R. Gupta, (2005), Microbial Pectinolytic Enzymes: A Review, *Process Biochemistry.*, **40**, 2931-2944
- [3] Kumar Joshi,V., Parmar.M., dan Rana S. (2006), *Pectin Esterase Production from Apple Pomace in Solid-State and Submerged Fermentations*, original scientific paper.
- [4] Odeniyi, O. A., A. A. Onilude, dan M. A. Ayodele (2009), Production Characteristic And Properties Of Cellulase/Polygalacturonase By *Bacillus coagulans* Strain From A Fermenting Palm-Fruit Industrial Residue, *African Journal of Microbiology Research.*, Vol. 3(8) pp, 407-417 ISSN 1996-0808.
- [5] Winarno, F.G. (2002), *Enzim Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [6] Surahman, D. N. (2004), *Kajian Analisa Kandungan Vitamin dan Mineral Pada Buah-buahan Tropis dan Sayuran di Toyama Prefecture Japan*, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.
- [7] Banu, A. R., M. K. Devi, G. R. Gnanaprabhal, B. V. Pradeep, dan M. Palaniswamy (2010), Production and Characterization of Pectinase Enzyme from *Penicillium chrysogenum*, *Indian Journal of Science and Technology*, Vol. 3 No. 4, ISSN: 0974-6846.
- [8] Adejuwon, A. O., dan P. O. Olutiola, (2007), Pectin Lyase Activity In Culture Of *Penicillium* species, *Journal of Plant Sciences* 2, **3**, 347-352 ISSN 1816-4951.
- [9] Lehninger, L.A. (2004), *Dasar-dasar Biokimia*, Jil.1, Alih Bahasa, Maggy Thenawidjaja, Erlangga, Jakarta.