

**APLIKASI ENZIM PEKTINESTERASE DAN POLIGALAKTURONASE
PADA KLARIFIKASI SARI BUAH JAMBU BIJI MERAH
(*Psidium guajava* L.)**

**Skripsi
Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pertanian
Di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret Surakarta**



**Oleh:
Anis Sinta Sa'adah
H0913013**

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2017**

SKRIPSI

**APLIKASI ENZIM PEKTINESTERASE DAN POLIGALAKTURONASE
PADA KLARIFIKASI SARI BUAH JAMBU BIJI MERAH
(*Psidium guajava* L.)**

**Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Anis Sinta Sa'adah
H0913013**

**Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 17 November 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
(derajat) Sarjana Teknologi Pertanian Program Studi Ilmu dan
Teknologi Pangan**

Susunan Dewan Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

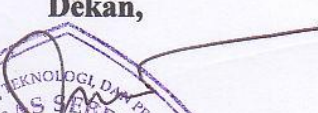

Esti Widowati, S.Si., M.P.
NIP. 198305052009122006


Adhitya Pitara Sanjaya, S.T.P., M.Sc.
NIP. 198711092015041003


Ardhea Mustika Sari, S.T.P., M.Sc.
NIP. 198405092014042001

Surakarta,

**Mengetahui,
Universitas Sebelas Maret
Fakultas Pertanian
Dekan,**


Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, M.S.
NIP. 195602251986011001



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul “**Aplikasi Enzim Pektinesterase dan Poligalakturonase pada Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.)**”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk mencapai gelar Sarjana Strata Satu (S-1) pada Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penyusunan Skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis Ibu Rumisih dan Bapak Moh. Kasban yang selalu memberikan dukungan baik moral maupun materiil, semangat, nasehat, cinta dan kasih sayang serta doa-doa yang tiada henti-hentinya dipanjatkan untuk kelancaran, keberhasilan, dan keberkahan penulis dalam melaksanakan, menyusun, dan menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, M.S. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ir. Bambang Sigit Amanto, M.Si. selaku Kepala Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
4. Esti Widowati, S.Si., M.P. selaku dosen Pembimbing Utama yang telah dengan senang hati dan sabar memberikan bimbingan, ilmu, saran, dan nasehat yang membangun bagi penulis.
5. Adhitya Pitara Sanjaya, S.T.P., M.Sc. selaku dosen Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar memberikan bimbingan, pengarahan, ilmu, saran, nasehat dan motivasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Ardhea Mustika Sari, S.T.P., M.Sc. selaku dosen Penguji yang memberikan saran yang membangun bagi penulis
7. Dwi Ishartani, S.T.P., M.Sc. selaku dosen Pembimbing Akademik selama menjalani perkuliahan di Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan bimbingan, dukungan, motivasi, dan saran bagi penulis.

8. Bapak dan Ibu Dosen, laboran dan seluruh staff program studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret atas segala ilmu dan bantuan selama masa perkuliahan.
9. Kakak-kakak dan adik-adik penulis mba Etik, mas Pipin, Tya dan Bunga serta saudara-saudara yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang selalu menghibu, memberikan dukungan, saran, cinta dan kasih sayang serta doa kepada penulis.
10. Partner penelitian skripsi Amaliya Syahiidah, yang selalu membantu, menemani dan sabar menghadapi penulis selama menjalani penelitian.
11. Tim Enzim paling kece yang dengan tulus menemani lembur, mendengar curhat, menemani ke perpustakaan, dan mau direpotkan Mifta Riandini, Fitriana Husnayaini, Lathiya, Dhita, Agriz, Ochim, Nunik, dan Khalida.
12. UKM Putra Jambu yang telah membantu penulis menyediakan bahan dan membagi ilmunya.
13. Sahabat Azaria Nurchasanah, Difani Afrila, dan Fathin Hana yang selalu ada disaat-saat genting untuk membantu, mendengarkan cerita, memberikan saran, dan menghibur penulis.
14. Teman Karapan Seblak: Fatma, Putri, Afifah, Afi, Hanin, Sifa, Aqrobu, Imah, dan Fitput terimakasih atas bantuan, doa dan semangatnya.
15. Teman-teman yang sangat membantu, menolong, menghibur, dan sungguh sabar Novi Pahlawaningrum, Luthfiyana Dian P, Ines Putri, Egidia Rana
16. Teman-teman ITP 2013 yang telah menjadi teman, sahabat, dan saudara yang luar biasa. ITP 2013 “Menggemparkan”.
17. Teman-teman KKN Pemenang Babas, Ina, Indah, Wulan, Farida, Andri, Astri, Adit, Umam, dan Deni yang telah menjadi keluarga kedua bagi penulis.
18. Keluarga Kos Cantik dan muda-mudi kelompok Sumber mba Zulfa, Yuli, dan lainnya yang telah menjadi teman, keluarga, sahabat, memberikan nasehat, semangat, dan dukungan kepada penulis.
19. Pak Lantip, Pak Har, Bu Ati, dan mba Nina laboran MIPA yang telah banyak membantu kelancaran penelitian penulis.

20. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis.

21. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini dan memberi dukungan, doa serta semangat bagi penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surakarta, 9 November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
RINGKASAN	xii
SUMMARY	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Jambu Biji Merah	6
2. Sari Buah	7
3. Pektin	9
4. Klarifikasi Sari Buah	13
5. Protein	14
6. Enzim	16
7. Enzim Pektinase	19
8. Enzim Pektinesterase	20
9. Enzim Poligalakturonase	22
B. Kerangka Berfikir	23
C. Hipotesis	23
BAB III. METODE PENELITIAN	24
A. Tempat dan Waktu Penelitian	24

B. Alat dan Bahan	24
1. Alat	24
2. Bahan	24
C. Tahapan Penelitian	26
1. Subkultur dan Proses Persiapan Starter Isolat Bacillus licheniformis strain KK2 dan AR2	26
2. Produksi Enzim Kasar Pektinesterase dan Poligalakturonase	27
3. Pemurnian Parsial Enzim Pektinesterase dan Poligalakturonase	28
4. Uji Aktivitas Enzim	30
a. Aktivitas Enzim Pektinesterase	30
b. Aktivitas Enzim Poligalakturonase	31
5. Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	33
6. Pengujian Sari Buah Terklarifikasi	35
a. pH	35
b. Total Padatan Terlarut (TPT)	35
c. Viskositas	35
d. Transmitansi	35
e. Rendemen	36
7. Metode Analisis	36
8. Rancangan Penelitian	36
BAB IV. PEMBAHASAN	38
A. pH	38
B. Total Padatan Terlarut (TPT)	42
C. Viskositas	46
D. Transmitansi.....	49
E. Rendemen	52
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran	55

DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Syarat Mutu Minuman Sari Buah Menurut SNI 3719:2014	8
Tabel 2.2 Klasifikasi Kelas Enzim	18
Tabel 3.1 Karakteristik Isolat Bakteri Pektinolitik yang Digunakan	25
Tabel 3.2 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> strain GD2a KK2 dan AR2 menggunakan <i>Haemocytometer</i>	26
Tabel 3.3 Jumlah dan Aktivitas Enzim Pektinesterase dan Poligalakturonase yang Dihasilkan	33
Tabel 3.4 Metode Analisis	36
Tabel 3.5 Rancangan Penelitian	37
Tabel 4.1 Hasil Analisis pH pada Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah.....	38
Tabel 4.2 Hasil Analisis Total Padatan Terlarut (^o Brix) pada Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	42
Tabel 4.3 Hasil Analisis Viskositas (cP) pada Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	46
Tabel 4.4 Hasil Analisis Transmittansi (%T) pada Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	50
Tabel 4.5 Hasil Analisis Rendemen (%) Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Jambu Biji Merah.....	6
Gambar 2.2 Struktur Dinding Sel Tanaman	9
Gambar 2.3 Struktur Molekul Asam α -galakturonat, Metil- α -galakturonat, dan Pektin	10
Gambar 2.4 Struktur Primer Pektin	11
Gambar 2.5 Kompleks Polimer Pektin.....	12
Gambar 2.6 Struktur Primer dan Sekunder Protein	15
Gambar 2.7 Struktur Tersier Enzim Endo-Poligalakturonase I dari <i>S. purpureum</i>	15
Gambar 2.8 Struktur Kuartener <i>1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate</i> <i>reductoisomerase</i>	15
Gambar 2.9. Bagian Sisi Aktif Enzim	16
Gambar 2.10 Model <i>Lock and Key</i>	17
Gambar 2.11 Model <i>Induced Fit</i>	17
Gambar 2.12 Mode Aksi Pektinase	20
Gambar 2.13 Interaksi Pektin dengan Ion Ca^{2+}	21
Gambar 2.14. Diagram Kerangka Berfikir	23
Gambar 3.1 Proses Persiapan Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> strain GD2a KK2 dan AR2	27
Gambar 3.2 Produksi Enzim Kasar Pektinesterase dan Poligalakturonase	28
Gambar 3.3 Pemurnian Parsial Pektinesterase dan Poligalakturonase	29
Gambar 3.4 Uji Aktivitas Enzim Pektinesterase	31
Gambar 3.5 Uji Aktivitas Enzim Poligalakturonase	32
Gambar 3.6 Proses Klarifikasi Sari Buah Jambu Biji Merah	34
Gambar 4.1 Reaksi De-esterifikasi oleh Enzim Pektinesterase	39
Gambar 4.2 Mekanisme Hidrolisis Enzim Poligalakturonase	40
Gambar 4.3 Struktur Ikatan pada <i>High Methoxyl Pectin</i> (HMP)	43
Gambar 4.4 Interaksi Hidrofobik pada Gugus Metoksil Pektin	44
Gambar 4.5 Struktur Asam D-galakronat	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bahan Produksi Enzim	64
Lampiran 2. Perhitungan Jumlah Sel Mikroba	64
Lampiran 3. Reagen Uji Aktivitas Enzim Pektinesterase	65
Lampiran 4. Reagen Uji Aktivitas Enzim Poligalakturonase	65
Lampiran 5. Tabel Konsentrasi Amonium Sulfat	66
Lampiran 6. Hasil Analisis Statistik <i>Two Way</i> ANOVA	67
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	72

**APLIKASI ENZIM PEKTINESTERASE DAN POLIGALAKTURONASE
PADA KLARIFIKASI SARI BUAH JAMBU BIJI MERAH
(*Psidium guajava* L.)**

**ANIS SINTA SA'ADAH
H0913013**

RINGKASAN

Jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) merupakan salah satu buah yang kaya akan kandungan nutrisi dan produksinya terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Peningkatan produksi jambu biji merah menyebabkan harga jual buah mengalami penurunan, selain itu jambu biji hanya memiliki umur simpan selama 3-6 hari pada suhu ruang dan rentan mengalami kerusakan. Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan mengolah jambu biji merah menjadi sari buah. Secara umum, sari buah jambu biji merah memiliki karakteristik yang sangat kental, keruh, dan tidak stabil atau dapat mengalami pemisahan menjadi dua fase. Masalah-masalah tersebut salah satunya disebabkan oleh polisakarida kompleks yaitu pektin. Hasil analisis kadar pektin dalam jambu biji merah sebesar 1,048%. Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan sari buah jambu biji tersebut adalah dengan cara klarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim pektinesterase (PE) dan poligalakturonase (PG) untuk meningkatkan kualitas dari sari buah jambu biji merah.

Penelitian ini mengaplikasikan enzim PE dari isolat *B. licheniformis* strain GD2a KK2 dengan konsentrasi 0%; 0,5%; 1,0%; 1,5% dan enzim PG *B. licheniformis* strain GD2a AR2 dengan konsentrasi 0%; 0,05%; 0,1%; 0,15%, inkubasi suhu 55 °C selama 120 menit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh masing-masing enzim pektinesterase, poligalakturonase, dan kombinasinya pada klarifikasi sari buah jambu biji merah pada parameter uji pH, total padatan terlarut (TPT), viskositas, transmitansi, dan rendemen. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL-F) dengan tiga kali ulangan sampel dan analisis menggunakan uji *Two Way* ANNOVA dengan $\alpha=0,05$.

Penambahan masing-masing enzim pektinesterase dan poligalakturonase dari *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 dan AR2, dan kombinasinya secara umum dapat menurunkan pH dan viskositas serta meningkatkan TPT, transmitansi, dan rendemen dari sari buah jambu biji merah hasil klarifikasi. Konsentrasi terbaik yang digunakan dalam klarifikasi sari buah jambu biji merah adalah dengan penambahan enzim pektinesterase 1,5% dan poligalakturonase 0,15%. Karakteristik pH, TPT, viskositas, transmitansi, dan rendemen dari sari buah jambu biji merah hasil klarifikasi berdasarkan konsentrasi terbaik berturut-turut sebesar $4,10 \pm 0,01$; $8,47 \pm 0,58$ °Brix; $39,06 \pm 1,07$ cP; $0,57 \pm 0,06$ %T; dan $74,59 \pm 0,99$ %.

Kata kunci: *jambu biji merah, klarifikasi sari buah, pektin, pektinesterase, poliglakturonase*

APPLICATION OF PECTINESTERASE AND POLYGALACTURONASE ENZYMES ON GUAVA (*Psidium guajava* L.) JUICE CLARIFICATION

ANIS SINTA SA'ADAH
H0913013

SUMMARY

Red Guava (*Psidium guajava* L.) is one of the most high nutrient fruit and the production increase every year. The increase of production make the price of red guava decrease, moreover the shelf life of guava fruit only 3-6 days at room temperature and perishable. One of the way to solve this problem is by making guava juice. In general, the characteristic of red guava juice were viscous, cloudy, and unstable or the juice will separated into two phases. The problems were caused by a complex of polysaccharide named pectin, and the contain of pectin in red guava was 1.048%. One of the way to solve the unstable guava juice were by enzymatic clarification using pectinesterase (PE) and polygalacturonase (PG) enzymes to improve the quality of red guava juice.

This study were treated guava juice with PE enzyme from *B. licheniformis* strain GD2a KK2 concentration 0%; 0.5%; 1.0%; 1.5% and PG enzyme from *B. licheniformis* strain GD2a AR2 concentration 0%; 0.05%; 0.1%; 0.15% at 55 °C for 120 minutes. The purpose of this study was to observed the effect of each pectinesterase dan polygalacturonase enzymes, and its combination on the clarification of red guava juice with the parameters are pH, total soluble solid (TSS), viscosity, transmittance, and yield of clarified red guava juice. This research used Completely Randomized Factorial Design (CRFD) with three repetition of sample and analysis using Two Way ANNOVA with $\alpha = 0,05$.

The result showed that addition of each pectinesterase and polygalacturonase enzymes from *Bacillus licheniformis* strain GD2a KK2 and AR2, and its combination can decrease pH and viscosity value, and also increasing the value of total soluble solid (TSS), transmittance, and yield of clarified red guava juice. The best concentration in this research was the clarification of red guava juice with the addition of 1.5% pectinesterase and 0.15% polygalacturonase enzymes. Based on the best concentration, the characteristics of pH, TSS, viscosity, transmittance, and yield of clarified red guava juice, respectively $4,10 \pm 0,01$; 8.47 ± 0.58 °Brix; 39.06 ± 1.07 cP; 0.57 ± 0.06 %T; and $74.59 \pm 0.99\%$.

Keywords: *clarified juice, pectin, pectinesterase, polygalacturonase, red guava.*