

## PERANAN AKTIVITAS ENZIM $\beta$ -GLUKOSIDASE PADA PEMBENTUKAN FLAVOR VANILA SELAMA PROSES CURING

Dwi Setyaningsih<sup>1)</sup>

Maggy Thenawidjaya<sup>2)</sup>, Anton Apriyantono<sup>2)</sup>, Ika Mariska<sup>2)</sup>

Ekstrak vanilla alami adalah satu *flavouring agent* yang paling mahal diindustri dan merupakan flavor yang terpopuler di dunia. Indonesia mengekspor kira-kira setengah dari kebutuhan vanilla dunia. Akan tetapi kualitas aroma dan flavor vanilla Indonesia kurang disukai dibanding Bourbon sehingga harganya hanya setengah dari vanilla Malagasy tersebut. Hal ini tidak sesuai dengan potensi sebenarnya, karena rendahnya kualitas ini disebabkan oleh pemanenan yang belum matang dan proses *curing* yang kurang sempurna.

Flavor vanilla terutama dihasilkan oleh transformasi enzimatis yang terjadi selama *curing* dari buah vanilla mentah yang tidak memiliki flavor. Enzim yang berperan penting adalah  $\beta$ -Glukosidase yang menghidrolisis senyawa glikosida menjadi aglikon yang memiliki aktivitas flavor. Rendahnya kualitas flavor vanilla Indonesia diduga terjadi karena tidak semua senyawa glikosida terhidrolisis menjadi aglikon, disebabkan rendahnya aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari peranan aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase pada pembentukan flavor vanilla yang ditimbulkan oleh hidrolisis senyawa glikosida selama proses curing. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mengukur aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase dan kadar vanillin selama proses curing, mempelajari kemampuan enzim  $\beta$ -Glukosidase dalam menghidrolisis senyawa glikosida yang diisolasi dari vanilla segar dan cured, serta mempelajari pengaruh peningkatan aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase terhadap kadar vanillin. Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai dasar untuk menentukan kondisi optimum yang diperlukan untuk memperoleh kualitas flavor vanilla cured yang lebih baik.

Peranan aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase pada pembentukan flavor vanilla adalah dalam menghidrolisis senyawa glikosida selama proses *curing*. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan terhadap buah vanilla yang dicuring dengan metode pelayuan pemanasan (*scalding*) dan penyayatan (*scrathing*). Dijumpai aktivitas enzim yang lebih tinggi pada metode pemanasan dan kualitas vanilla cured yang lebih baik. Selama proses curing, aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase pada ampas lebih tinggi dibanding enzim yang terlarut. Aktivitas enzim ampas dijumpai sampai pengeringan hari ke-5, sementara pada filtrat hanya dijumpai pada tahap sebelum pemeraman (hari ke-0). Kadar vanilla terus meningkat selama proses curing meskipun aktivitas enzim telah terhenti.

Penambahan deterjen pada saat ekstraksi meningkatkan aktivitas total ekstrak enzim  $\beta$ -Glukosidase, namun tidak mempengaruhi aktivitas spesifik. Suhu optimum kerja enzim adalah 40°C. Aktivitas enzim mulai menurun setelah 50 menit pada suhu 40°C.

<sup>1)</sup>Ketua Peneliti (Staf Pengajar Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas-IPB); <sup>2)</sup>Anggota Peneliti

Pada suhu 60°C, 20 menit, aktivitas enzim yang tersisa hanya 25%. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh nilai pH pelarut dengan nilai optimum pada kisaran 5.5-6.0.

Adanya ion logam  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  akan menghambat aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase, sedangkan ion  $\text{Na}^+$  tidak berpengaruh. Senyawa pengkelat seperti EDTA memberikan efek penghambatan dan konsentrasi 1 Mm telah menghambat 50% aktivitas. Asam askorbat juga menghambat aktivitas enzim.

Kemampuan enzim  $\beta$ -Glukosidase vanilla menghidrolisis senyawa glikosida dianalisis menggunakan senyawa glikosida yang diisolasi dari vanilla segar dan cured. Enzim endogenus vanilla mampu menghasilkan senyawa aglikon volatil yang lebih bervariasi dibanding enzim emulsion. Enzim vanilla menghasilkan kadar vanillin 50% dibanding emulsion, sementara pemanasan suhu 60°C hanya menghasilkan 1.3%.

Komposisi senyawa yang terdeteksi menurut golongannya adalah asam (7), aldehid alifatik (4), alkohol alifatik (6), ester alifatik (18), alkana (9), alkanon (3), amin (3), lacton (1) dan senyawa turunan benzen yang terdiri dari benzen aldehid (3), benzen (3), benzene ester (3), benzene keton (2), benzene ether (2), benzene alkohol dan fenol (26), serta unknown (12).

Penambahan aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase dari kapang diduga dapat mempercepat hidrolisis senyawa glikosida vanilla. Kapang yang dipilih adalah *Aspergillus niger* yang memiliki aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase lebih tinggi dibanding *A. oryzae*. Karakteristik enzim  $\beta$ -Glukosidase dari *A. niger* adalah suhu optimum 60°C. stabilitas panas sangat baik pada suhu 50-60°C karena tetap stabil sampai 60 menit inkubasi dan pH optimum 4-5.

Inkubasi homogen vanilla dilakukan selama 48 jam menggunakan shaker dan diamati setiap 6 jam. Enzim kapang menghasilkan aktivitas dan kadar vanilla yang lebih tinggi dibanding enzim emulsion dan enzim vanilla, demikian pula dengan kadar gula. Penggunaan enzim kapang mampu menghidrolisis semua glukovanillin setelah 48 jam.

Senyawa yang dapat berperan sebagai activator enzim  $\beta$ -Glukosidase vanilla adalah dithiothreitol (DTT) dan sistein pada konsentrasi 0.001-0.01%, serta butanol 0.3%. Senyawa ini digunakan dalam perendaman buah vanilla sebelum pelayuan dengan panas untuk meningkatkan aktivitas enzimnya. Pelayuan dilakukan pada suhu 40°C selama 30 menit.

Perlakukan perendaman dalam butanol 0.3% dan sistein 0.001 selama 2 jam (A2) dan perendaman dalam dithiothreitoal 0.001% dan sistein 0.001% selama 1 jam (B1) menghasilkan aktivitas enzim, kadar vanillin dan kadar gula yang lebih tinggi dibanding kontrol. Aktivitas enzim tidak dijumpai lagi pada pengamatan sesudah pelayuan (k-3).

Kadar gula dan kadar vanillin pada perlakuan B1 telah mencapai maksimum pada pengamatan ke-3, kemungkinan hidrolisis glukovanillin telah berlangsung sempurna pada tahap ini. Pembentukan vanillin diduga terjadi melalui jalur hidrolisis, namun adanya kenaikan kadar vanillin dan kadar gula meskipun aktivitas enzim  $\beta$ -Glukosidase telah hilang kemungkinan disebabkan oleh imbas dari adanya aktivitas

enzim lain seperti protease dan peroksidase yang aktivitasnya relatif tinggi dan stabil selama proses *curing*. Masih perlu penelitian lebih lanjut untuk menjawab pertanyaan ini.