

Produksi enzim pektinase fungi melalui fermentasi substrat padat limbah perkebunan untuk perbaikan oksidasi enzimatis dan peningkatan mutu teh CTC

Production of fungal pectinase enzyme through solid substrate fermentation of estate waste for improvement of enzymatic oxidation and increasing the quality of CTC tea

Tri Panji¹, Suharyanto¹, A. Shabri², D. Rohdiana², dan Yusianto³

1. Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia

2. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung

3. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia

Diajukan: 15 Januari 2015; direvisi: 4 Februari 2015; diterima: 17 Februari 2015

Abstrak

Enzim-enzim, terutama pektinase, berperan penting pada proses pengolahan teh yang menentukan kualitas dan tampilan warna teh hitam. Kendala utama yang dihadapi dalam aplikasi enzim dalam pengolahan pangan pada umumnya dan pada pengolahan teh hitam khususnya adalah harga enzim komersial yang relatif masih sangat mahal karena masih diimpor. Indonesia memiliki keanekaragaman fungi yang tinggi yang berpotensi sebagai penghasil enzim pektinase komersial. Untuk menekan biaya produksi, fermentasi dilakukan dengan menggunakan limbah padat perkebunan yang kaya kandungan pektin, seperti kulit buah kakao yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan mengembangkan teknologi produksi enzim pektinase dari fungi melalui fermentasi substrat padat untuk aplikasi pada pengolahan teh hitam CTC. Penelitian meliputi isolasi dan seleksi fungi unggul lokal penghasil enzim pektinase, optimasi produksi enzim dengan isolat fungi terpilih melalui fermentasi substrat padat menggunakan limbah kulit buah kakao, optimasi produksi meliputi optimasi waktu fermentasi dan komposisi substrat, cara ekstraksi enzim dari substrat hasil fermentasi, serta aplikasi ekstrak enzim pektinase pada proses pengo-

lahan teh hitam CTC dan uji citarasa teh hasil oksidasi enzimatis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa telah diperoleh isolat *Aspergillus niger* pada media pektinase screening agar medium (PSAM) yang mampu menghasilkan enzim pektinase pada media tumbuh campuran kulit buah kakao dan dedak dengan tambahan media pengaya. Kondisi optimum produksi pektinase diperoleh pada komposisi kulit buah kakao: dedak (80:20 b/b) ditambah media pengaya, dengan waktu inkubasi selama 9 hari, yang menghasilkan aktivitas pektinase 125 U/mL. Aplikasi pektinase pada oksidasi enzimatis teh CTC terbukti mampu menaikkan mutu citarasa teh, meskipun grade teh tidak berubah.

Kata kunci: enzim pektinase, fermentasi substrat-padat, optimasi produksi-enzim, oksidasi enzimatik, mutu teh-CTC

Abstract

Enzymes, especially pectinase, plays an important role in the processing of tea that determines the quality and the color appearance of black tea. The main obstacle encountered in the application of enzymes in

*food processing in general, and in particular in the processing of black tea is the price of commercial enzyme that are still very expensive, because it is still imported. Indonesia has a high fungal diversity that is potential as producer of commercial pectinase enzyme. To reduce the cost of production, fermentation was done using solid waste of plantation that rich of pectin content such as cocoa pod husk that has not been optimally utilized. The research aimed to develop the production technology for pectinase enzymes of fungi through solid substrate fermentation for applications in the processing of CTC black tea. Research includes the isolation and selection of local superior fungi producing enzymes pectinase, optimization of enzyme production by fungi isolates were selected through a solid substrate fermentation using cocoa pod husk waste, production optimization included optimization of fermentation time and substrate composition, enzyme extraction of fermented substrate, and application of pectinase enzyme extracts in the processing of CTC black tea and sensory test of fermented tea. The results showed that it has been obtained isolates of *Aspergillus niger* on Pectinase Screening Agar Medium (PSAM) which was capable of producing pectinase enzyme on growing media of mix cocoa pod husk and rice bran with additional of enrichment media. The optimum conditions of pectinase production was obtained in the composition of cacao pod husk: rice bran (80:20 w/w) plus enrichment media, the incubation time of 9 days, which produced pectinase activity of 125 U/mL. Applications of pectinase on enzymatic oxidation of CTC tea proved that it was capable of raising the quality of the tea flavor, though the tea graded did not change.*

Keywords: *pectinase enzyme, solid-state fermentation, enzyme-production optimization, CTC-tea quality*

PENDAHULUAN

Enzim-enzim, terutama enzim hidrolitik, dalam jumlah kecil berperan penting pada proses perubahan kimia dan biokimia

selama proses oksidasi enzimatis teh yang menentukan aroma dan karakteristik teh hitam. Pektin yang dihasilkan selama pengolahan teh hitam dapat menghambat reaksi pencokelatan (*browning reaction*) yang dikatalisis oleh enzim polifenol oksidase. Terhambatnya reaksi pencokelatan tersebut berakibat pembentukan warna coklat dalam seduhan teh hitam menjadi lemah. Depektinasi pada pengolahan teh hitam diharapkan dapat meningkatkan kualitas warna seduhan seperti teh Darjeeling. Pektin yang merupakan senyawa berbentuk *mucilaginous*/berlendir dapat pula menghambat proses fermentasi kakao. Fermentasi biji kakao saat ini memerlukan waktu sekitar 105 jam. Waktu fermentasi yang terlalu panjang dapat menyebabkan kulit biji kakao menjadi tipis sehingga biji lebih mudah pecah dan cacat. Waktu fermentasi yang panjang dan keterbatasan jumlah peti fermentasi juga akan menyebabkan menumpuknya biji kakao yang tidak terfermentasi pada saat panen puncak. Di sisi lain, waktu fermentasi yang terlalu panjang juga akan menurunkan mutu citarasa biji kakao.

Pektin juga dapat mengganggu *curing* tembakau, kopi, dan serat rami atau jute. Enzim pektinase selama ini telah dikenal luas untuk klarifikasi dan depektinasi buah untuk memperoleh rendemen jus yang lebih banyak. Semua proses tersebut menunjukkan arti pentingnya enzim pektinase pada pengolahan produk perkebunan/pertanian (Han dkk, 2015; Demir dkk., 2001).

Enzim pektinase berdasarkan sifat katalitiknya pada substrat pektin dapat dikelompokkan menjadi dua golongan, yaitu enzim pektin depolimerase dan pektin esterase (Goodfrey & West, 1996). Enzim pektin depolimerase meliputi pektin liase (E.C 4.2.2.10) yang bersifat endo enzim dan

memotong rantai metil panjang secara acak pada ikatan beta sehingga menurunkan viskositas substrat. Enzim depolimerasi lainnya adalah poligalakturonase endo (endo-PG/E.C.3.2.1.15) maupun ekso (exo-PG/E.C.3.2.1.15) yang beraksi pada ikatan ester pada rantai poligalakturonat. Pektin esterase contohnya adalah pektin metil-esterase yang bekerja dengan memecah gugus metoksi dari pektin sehingga derajat polimerasi tidak terpengaruh dan tidak menyebabkan perubahan viskositas. Enzim pektinase dapat diperoleh dari kapang genus *Aspergillus* dan *Penicillium*. Enzim pektinase komersial selama ini masih diimpor dengan harga cukup mahal. Untuk mengatasi hal tersebut, riset enzim pektinase untuk aplikasi pada industri perkebunan akan dilakukan dengan melibatkan lintas Puslit/Balit di lingkungan PT Riset Perkebunan Nusantara (RPN).

Angayarkanni dkk. (2002) menunjukkan bahwa aplikasi pektinase dan selulase pada proses pengolahan teh hitam berpengaruh pada konsentrasi bahan terlarut teh hitam yang dihasilkan. Pengaruh pektinase lebih dominan dibandingkan selulase. Aplikasi pektinase pada pengolahan teh hitam ternyata juga meningkatkan kandungan theaflavin teh-jadi dibandingkan kontrol tanpa aplikasi enzim tersebut.

Aplikasi enzim dalam pengolahan teh telah dilakukan sejak lebih dari 15 tahun lalu (Jain & Takeo, 1984; Sanderson & Coggon, 1977). Namun sampai saat ini, perkembangan riset tersebut masih sangat terbatas. Konversi pucuk teh menjadi teh-jadi yang siap dikonsumsi adalah akibat dari kerja enzim yang terdapat di dalam bahan baku (Sanderson, 1972).

Teh yang berasal dari India Selatan memiliki kualitas yang kurang baik meski-

pun banyak upaya telah dilakukan pada produksi dan pengolahan. Peningkatan karakteristik cairan dan *appearance* teh hitam akan meningkatkan stabilitas harga dan kepuasan konsumen domestik maupun asing. Total padatan terlarut dan bahan-bahan lain dapat ditingkatkan dengan melarutkan komponen dinding sel dan bahan baku yang pada gilirannya akan memperbaiki mutu teh-jadi.

Senyawaan pektin merupakan komponen struktur penting dari lamela tengah dan dinding sel primer pada tanaman tingkat tinggi. Selulosa yang merupakan polimer linear dari glukosa adalah penyusun utama dinding sel. Senyawaan karbohidrat yang dapat terhidrolisis ini merupakan derivat gula yang dapat terhidrolisis oleh enzim pendegradasi dinding sel, antara lain pektinase and selulase, yang akan berpengaruh kepada total ekstrak bahan larut-air (Demir dkk., 2001; Angayarkanni dkk., 2002).

Hasil penelitian Murugesan dkk. (2002) menunjukkan bahwa terdapat perbaikan *total liquor color* (TLC) dan theaflavin (TF) pada peningkatan aplikasi pektinase dari 0,4 menjadi 0,6 g per kg pucuk teh yang telah digiling. Meskipun demikian, tidak terdapat perbedaan nyata antara aplikasi pektinase pada kedua konsentrasi tersebut. Dengan demikian, konsentrasi optimum pektinase adalah 0,4 g pektinase per kg pucuk yang telah digiling. Nilai pH seduhan teh tidak dipengaruhi oleh aplikasi enzim tersebut, namun penurunan kandungan serat kasar dapat diamati secara nyata. Pektinase mendekomposisi pektin yang terdapat pada dinding sel sampai jumlah tertentu (Zeng dkk.,1993). Ramasamy & Lamp (1958) dan Dev Choudhury & Bajaj (1984) melaporkan bahwa senyawaan pektin mempengaruhi oksidasi enzimatis teh

melalui interaksi dengan pektin metil esterase.

Beberapa paten tentang aplikasi enzim pektinase pada pengolahan teh hitam untuk perbaikan mutu teh telah ditemukan antara lain oleh Tsai (1983), sehingga perlu dilakukan penelaahan metode aplikasi pektinase untuk pengolahan teh hitam agar tidak diklaim oleh pemegang paten serta jika dimungkinkan dapat diperoleh metode-metode baru yang dapat dipatenkan bersama antara Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI) dan Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung.

Penelitian bertujuan untuk mengembangkan teknologi produksi enzim pektinase *food grade* dari fungi lokal yang efisien dan murah menggunakan media limbah padat perkebunan dan menetapkan teknik penggunaan enzim pektinase pada pengolahan teh hitam CTC untuk peningkatan mutu cita rasa.

BAHAN DAN METODE

Bahan untuk isolasi fungi dan khamir adalah buah-buah tropis masak optimal yang banyak mengandung pektin (pisang, manggis, kakao, dan lain sebagainya) dan hasil samping perkebunan seperti lendir dari fermentasi biji kakao dan buah kopi. Substrat kaya kandungan karbohidrat khususnya pektin dari sumber yang murah seperti kulit buah kakao dengan tambahan nutrisi tertentu akan digunakan untuk fermentasi substrat padat.

Isolasi dan penapisan fungi atau khamir penghasil pektinase

Isolasi fungi dilakukan menurut Khairnar dkk. (2009) yaitu menggunakan

media mengandung pektin sebagai satu-satunya sumber karbon atau pectinase screening agar medium (PSAM) dengan komposisi (g/l): diammonium orthophosphate (3), KH_2PO_4 (2), K_2HPO_4 (3), MgSO_4 (0,1), pektin (1,0), dan agar (25).

Cuplikan sampel ditanam langsung pada cawan petri berisi media PSAM tersebut dan diinkubasikan pada suhu ruang (27-30°C) selama 7-10 hari. Pada akhir inkubasi, kultur diwarnai dengan larutan iodine 50 ml. Fungi penghasil pektinase dengan aktivitas yang kuat akan menghasilkan zone hidrolisis disekitar koloni yang membentuk zona terang. Fungi terpilih di subkultur dalam media PDA miring sampai digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Fermentasi substrat padat

Substrat untuk fermentasi mengandung kulit buah kakao kering yang sudah dihaluskan (100 mesh) dan dicampur dengan dedak dengan perbandingan berat 2:8, 4:6, 6:4, 8:2. Fermentasi substrat padat (*solid-state fermentation/SSF*) dilakukan dalam labu erlenmeyer 250 ml flask berisi substrat 100 g substrat steril (120°C/40min) diinokulasi dengan 10 ml aliquots suspensi spora fungi (sekitar $\times 10^7$ spore/g substrat kering) yang berasal dari kultur agar miring umur 7 hari yang disuspensikan dengan aquades dan beberapa tetes Tween 80. Setelah diinokulasi, larutan nutrisi dengan komposisi 0,1% NH_4NO_3 ; 0,1% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; dan 0,1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ditambahkan sebanyak 10 ml pada setiap labu. Kadar air akhir diatur hingga mencapai kurang lebih 67%. Kultur diinkubasikan pada suhu 30°C selama 15 hari dengan pengamatan aktivitas enzim yang dihasilkan setiap 3 hari.

Pemanenan enzim

Pemanenan enzim dilakukan setiap hari sampai dengan inkubasi hari ke-7. Bahan terfermentasi dalam satu erlenmeyer ditambahkan 100 ml aquades kemudian dikocok selama 40 menit. Kultur filtrat kemudian disaring menggunakan kain belacu dengan bantuan pompa vakum. Supernatan yang diperoleh dikumpulkan kemudian disentrifugasi dengan mesin sentrifugal pada suhu 10°C pada 10.000xg selama 15 menit.

Ekstrak enzim kasar diperoleh dengan cara sentrifugasi kultur filtrat pada 10.000 rpm selama 10 min pada suhu 27°C. Supernatan dikumpulkan untuk pengujian lebih lanjut. Pemurnian parsial dilakukan dengan cara mendinginkan supernatant pada suhu 4°C selama 30 menit kemudian ditambahkan etanol dingin 3x volume dan diamkan selama selama 15 menit. Presipitat disentrifugasi 5.000 rpm selama 10 min dan endapan yang diperoleh dilarutkan dalam aquades untuk pengujian lebih lanjut.

Pengukuran aktivitas pektinase (*enzyme assay*)

Pengukuran aktivitas pektinase dilakukan dengan substrat pektin menurut *Sigma quality control test procedure for enzymatic assay of pectinase* (1997). Metode penentuan aktivitas pektinase tersebut berdasarkan analisis iodometri terhadap asam galakturonat yang dihasilkan dari hidrolisis asam poligalakturonat oleh enzim pektinase.

Fraksinasi ammonium sulfat

Amonium sulfat dengan konsentrasi 40%, 50%, 65%, dan 70% digunakan untuk presipitasi ekstrak enzim kasar bebas sel.

Larutan kemudian disimpan semalam dalam kulkas dengan suhu 4°C, kemudian disentrifugasi pada 12.000xg selama 15 menit. Setiap pellet yang diperoleh dilarutkan dalam larutan buffer asetat pH 6. Enzim dimurnikan dengan kromatografi kolom penukar ion (*ion exchange column chromatography*) yang berisi DEAE selulosa. Aktivitas pektinase dari setiap fraksi larutan ditetapkan untuk memperoleh fraksi dengan aktivitas pektinase tertinggi. Cara penyiapan kolom adalah sebagai berikut 2,5 g DEAE selulosa ditambahkan 12 ml larutan buffer Tris HCl 0,05 M dan butiran-butiran dibiarkan mengembang selama 30 menit. Bagian bawah syringe dipadatkan dengan *glass wool*. Matriks dituang ke dalam kolom syringe sampai ketinggian 7,5 cm dan dibiarkan mengendap. Kondisi matrik dalam kolom dipertahankan pada pH 8,0 dan tidak kering dengan membasahi matrik menggunakan buffer. Fraksi enzim dengan aktivitas tertinggi dikumpulkan dan dikering bekukan dengan *freeze dryer*.

Aplikasi pektinase

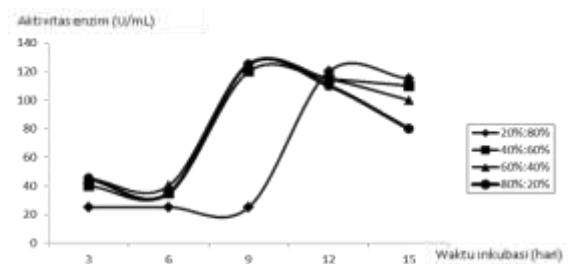
Enzim pektinase dengan aktivitas sekitar 5.000 unit/g dilarutkan dalam aquadest dengan tiga konsentrasi, yaitu nol (aquades saja sebagai kontrol); 0,2; 0,4; dan 0,6 g/25 ml aquades. Kemudian setiap larutan disemprotkan secara merata pada 1 kg cacahan daun teh yang keluar dari mesin CTC atau dari rotorvane. Setelah dibiarkan terfermentasi dalam waktu tertentu sesuai dengan SOP dari pabrik tempat pengambilan sampel, serbuk teh tersebut kemudian dipanaskan di atas uap air pada suhu 97-105°C selama 5 menit untuk menghentikan aktivitas enzim (Murugesan dkk., 2002). Kegiatan dilakukan dengan tiga kali ulang-

an. Serbuk teh kemudian dikeringkan hingga kadar air sekitar 5% dan dievaluasi menurut standar mutu teh, meliputi antara lain warna air seduhan dan citarasa (uji organoleptik). Kondisi terbaik aplikasi pektinase ini selanjutnya diujicobakan pada skala produksi pada tahun berikutnya dan hasilnya diteliti dengan cara pengambilan sampel, kemudian dilakukan evaluasi mutu meliputi warna air seduhan dan uji organoleptik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa telah diperoleh isolat *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* pada media *pectinase screening agar medium* (PSAM) yang mampu menghasilkan enzim pektinase pada media tumbuh berupa campuran kulit buah kakao dan dedak. Kondisi optimum produksi enzim pektinase *A. niger* diperoleh pada komposisi substrat padat berupa 100 g campuran kulit buah kakao: dedak pada perbandingan 60:40 atau 80:20 dengan tambahan media pengkaya berupa larutan nutrisi dengan komposisi 0,1% NH_4NO_3 ; 0,1% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; dan 0,1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang ditambahkan sebanyak 10 ml pada setiap labu. Waktu fermentasi optimum pada media tersebut dicapai selama 9 hari (Gambar 1). Cairan yang dihasilkan dari fermentasi sebanyak 50 ml per 10 g media padat yang mengandung enzim pektinase dengan aktivitas 125 U/ml. Dengan demikian, untuk menghasilkan

5.000 unit aktivitas pektinase guna aplikasi pada fermentasi teh CTC diperkirakan diperlukan media fermentasi padat sekitar 8 g. Pada fermentasi dengan 1 kg substrat padat dapat dihasilkan 625.000 unit aktivitas pektinase yang dapat digunakan untuk mempercepat fermentasi 312,5 kg teh CTC ataupun 312,5 kg biji kakao segar.



GAMBAR 1

Produksi enzim pektinase pada variasi komposisi substrat (% kulit buah kakao : % dedak) dan variasi waktu inkubasi (hari).

Pemurnian pektinase melalui fraksinasi dengan amonium sulfat 50% dan 70%

Hasil fraksinasi enzim pektinase dengan amonium sulfat 50% menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibanding dengan hasil fraksinasi dengan amonium sulfat 70% (Tabel 1). Aktivitas pektinase tertinggi sebesar 140 U/ml diperoleh pada fraksi kelima dari fraksinasi dengan amonium sulfat 50%. Peningkatan aktivitas pektinase ini relatif kecil mengingat enzim kasar yang dihasilkan pada kondisi optimum memiliki aktivitas sebesar 125 U/ml. Fraksinasi dengan ammonium sulfat 70% justru menurunkan aktivitas pektinase yang diduga disebabkan proses denaturasi atau pengendapan enzim ini.

TABEL 1

Aktivitas enzim pektinase hasil fraksinasi dengan amonium sulfat 50% dan 70%

Fraksi	Aktivitas enzim (Unit/mL)	
	Fraksinasi (NH ₄) ₂ SO ₄	
	50%	70%
1	135	35
2	120	55
3	115	60
4	115	55
5	140	95
6	125	50
7	130	45

Aplikasi pektinase pada fermentasi teh

Aplikasi pektinase pada fermentasi teh CTC dilakukan dengan cara mencampurkan larutan enzim pektinase pada teh yang diolah menggunakan *miniplant* pengolah teh CTC milik Pusat Penelitian Teh dan Kina. Teh yang telah dilayukan kemudian digiling agar serupa dengan kondisi teh CTC sebelum mulai fermentasi. Dosis yang digunakan adalah dosis optimum, yaitu 2000 unit aktivitas per kg teh yang telah dilayukan (Marugesan dkk., 2002).

Hasil pengujian aktivitas enzim pektinase yang telah disiapkan di BPBPI dalam bentuk ekstrak cair menunjukkan bahwa aktivitas larutan enzim yang telah difraksinasi ini sebesar 140 U/mL. Dengan demikian, untuk setiap kg teh ditambahkan 14,3 ml larutan enzim pektinase atau 42,9 ml (dibulatkan menjadi 43 ml) untuk 3 kg daun teh. Untuk enzim dalam bentuk serbuk dengan aktivitas 1.125 U/g digunakan serbuk enzim sebanyak 1,78 g per kg daun teh atau 5,3 g untuk 3 kg daun teh. Enzim ini dilarutkan dalam 43 ml aquades. Fermentasi dilakukan terhadap masing-masing 3 kg teh yang telah dicacah dengan rotorvane dengan tiga perlakuan, termasuk satu kon-

trol dan tanpa ulangan (3x3x1 kg) masing-masing adalah berupa: 1) penambahan ekstrak enzim cair (Ec), 2) penambahan enzim serbuk yang kemudian dilarutkan (Ep), dan 3) tanpa penambahan enzim (Eo) sebagai kontrol.

Pelaksanaan teknis penelitian adalah sebagai berikut. Sebanyak 10 kg pucuk daun teh yang telah dilayukan (kadar air 55%, sedangkan kadar air pucuk teh segar/awal 77%) digiling dengan rotorvane, kemudian dibagi dalam tiga kelompok, masing-masing 3 kg. Kemudian setiap kelompok dihamparkan dalam nampan aluminium berkapasitas sekitar 7 kg dengan ketebalan tumpukan sekitar 2 cm. Nampan I sebagai kontrol tanpa perlakuan enzim, nampan II disemprot 43 ml larutan enzim pektinase cair yang telah dimurnikan melalui fraksinasi kolom (aktivitas enzim 140 U/ml), dan nampan III disemprot 43 ml larutan enzim pektinase hasil pelarutan 5,3 g serbuk enzim (aktivitas 112,5U/0,1g). Setiap serbuk daun teh difermentasi selama 110-1.120 menit pada suhu kamar (24⁰C) dengan kelembapan 90%. Percobaan dilakukan tanpa ulangan. Setelah fermentasi, teh dikeringkan dengan menggunakan mesin pengering tipe rak yang dilengkapi blower dengan pemanas listrik pada suhu pengeringan 90-100⁰C selama 30 menit. Setelah kering, teh diayak dengan ayakan 14 mesh, kemudian dimaturasi selama 2 minggu untuk kestabilan cita rasa. Uji cita rasa juga dilakukan untuk teh yang tidak dimaturasi.

Sampel teh diambil masing-masing sebanyak 200 g untuk uji cita rasa. Sebanyak 5,6 g diseduh dalam 280 ml air panas dan didiamkan selama 6 menit, kemudian dilakukan uji cita rasa. Mutu cita rasa teh diuji dengan cara *sensory test* (uji inderawi)

meliputi kenampakan teh kering (bentuk/kekeritingan partikel, keseragaman partikel, ukuran partikel, warna partikel, kebersihan partikel), air seduhan (meliputi warna air seduhan, warna, dan ampas), dan ampas (warna, keseragaman).

Dari hasil tersebut terlihat bahwa penggunaan sediaan enzim serbuk yang kemudian dilarutkan tidak mampu meningkatkan mutu cita rasa teh CTC, sedangkan penggunaan sediaan enzim cair mampu meningkatkan mutu rasa teh. Oleh sebab itu, untuk percobaan selanjutnya digunakan sediaan enzim cair. Hasil percobaan menunjukkan bahwa penggunaan enzim pektinase cair mampu meningkatkan rasa dan aroma teh tetapi tampilan warna agak kurang. Meskipun peningkatan rasa dan aroma teh meningkat yang dapat meningkatkan premium harga, kondisi ini diperkirakan tidak mempengaruhi komposisi antargrade karena sistem klasifikasi grade ditentukan oleh banyak faktor.



a. Penggilingan daun teh yang telah dilayukan dengan mesin rotorvane



b. Aplikasi larutan enzim pektinase dengan penyemprotan



c. Fermentasi teh dengan pemberian uap air



d. Uji citarasa teh yang dihasilkan dengan penambahan enzim pektinase cair, enzim pektinase padat yang dilarutkan, dan kontrol (tanpa enzim)

GAMBAR 2

Aplikasi enzim pektinase untuk perbaikan mutu citarasa teh CTC.

TABEL 2

Hasil uji inderawi pengolahan teh dengan penambahan sediaan enzim pektinase dalam bentuk larutan dan serbuk yang dilarutkan, dibandingkan dengan kontrol

No.	Sampel teh	Kenampakan teh kering	Air seduhan			Ampas	Keterangan
			warna	rasa	aroma		
1	Kontrol	c	2	37	3	2	Kemerahan, cukup cerah Cerah +, Kuat -, pahit -
2	Enzim serbuk	c	2	37	3	2	Kemerahan, kusam Cerah +, Kuat +, Pahit -
3	Enzim cair	c	2	39	3	2	Kemerahan, cukup cerah Cerah +, Kuat -, pahit

Keterangan:

Teh hitam yang menggunakan enzim cair memiliki rasa yang sedikit lebih kuat (strength)

TABEL 3

Hasil uji inderawi pengolahan teh dengan penambahan enzim pektinase cair dibandingkan dengan kontrol tanpa enzim pektinase

No.	Jenis	Kenampakan	Air seduhan			Ampas	Keterangan
			warna	rasa	aroma		
1	Pengolahan + enzim pektinase	D	2	35	3	c	Kemerahan, kusam Cerah +, Kuat +, Pahit -
2	Pengolahan tanpa enzim pektinase	D	3	33	2	c	Kemerahan, cukup cerah Cerah +, Kuat -, pahit -

KESIMPULAN

Telah diperoleh isolat fungi *Aspergillus niger* penghasil pektinase dan telah diperoleh kondisi optimum produksi pektinase, yaitu pada komposisi kulit buah kakao: dedak (80:20 b/b) ditambah media pengaya, dengan waktu inkubasi selama 9 hari yang menghasilkan aktivitas pektinase 125 U/mL. Enzim pektinase *A. niger* dalam bentuk sediaan enzim cair mampu menaikkan kualitas rasa dan aroma teh CTC yang memungkinkan perolehan premium harga meskipun tidak mengubah proporsi grade teh yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Angayarkanni, J.; M. Palaniswamy; S. Murugesan; K. Swaminathan. 2002. Improvement of tea leaves fermentation with *Aspergillus* spp. pectinase. *J. Bioscience and Bioeng* 94(4): 299-303.
- Demir, N.; J. Acar; K. Sarioglu; M. Mutlu. 2001. The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3: Immobilized pectinase for mash treatment. *Journal of Food Engineering* 47(4): 275-280.
- Dev Chowdhury, M.N. dan K.L. Bajaj. 1984, Chemical nature of pectic substances in tea shoots and their effect polyphenol oxidase activity. *Two and a Bud* 31: 59-65.
- Goodfrey, T. dan S. West. 1996. *Industrial Enzymology*. Edisi kedua. Hampshire, UK: McMillan Press.
- Han, Y.Y.; J. Li; B. Wang; J. Xu; J. Zeng. 2015. Improved enzymatic hydrolysis of tobacco stalk by steam explosion and thread rolling pretreatments. *Cellulose Chem Technol*. 49(2): 181-185.
- Jain, C. dan T. Takeo. 1984. A Review. The enzymes of tea and their role in tea making. *J. Food Biochem* 8: 243-279.
- Khairnar, Y.; V. Krishna; A. Boraste; N. Gupta; S. Trivedi; P. Patil; G. Gupta; M. Gupta; A. Jhadav; A. Mujapara; B. Joshi; dan D. Mishra. 2009. Study of pectinase production in submerged fermentation using different strains of *Aspergillus Niger*. *International Journal of Microbiology Research* 1(2): 13-17.

- Martin, N; S.R. de Souza; R. da Silva; dan E. Gomes. 2004. Pectinase production by fungal strains in solid-state fermentation using agro-industrial bioproduct. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47 (5): 813-819.
- Murugesan, G. S.; J. Angayarkanni; dan K. Swaminathan. 2002. Effect of tea fungal enzymes on the quality of black tea. *Food Chemistry* 79(4): 411-417.
- Ramasamy, S. 1986. Improving tea quality in South India. *Proc.28th Conf. Bull.* 41: 12-18.
- Ramasamy, M.S. dan J. Lamb. 1958. Studies on the fermentation of Ceylon tea. X. Pectic enzymes in tea leaf. *J. Sci. Food Agric.* 9: 46-51.
- Ramasamy, V.; A.R. Rajendiran; dan K. Raju. 1993. To add or not to add? *UPASI Tea Sci. Dep. Bull.* 46: 132-143.
- Sanderson, G.W. 1972. Chemistry of tea and tea manufacturing. *Dalam Recent Advances in Biochemistry.* (ed.) V.C. Runeckles 5: 247.
- Sanderson, G.W. dan P. Coggon. 1977. Use of enzymes in the manufacture of black tea and instant tea. *Dalam Enzymes in food and beverage processing* (eds.). R.L. Ory dan A.J. St. Angelo, h.12-26. *ACS Symposium Series.*
- Sigma. 1997. Quality control test procedure:Enzymatic assay of pectinase EC 3.2.1.15, 1-4.
- Tsai, Chee-hway. 1983. Enzymatic treatment of black tea leaf. The Procter & Gamble Company (Cincinnati, OH). *United States Patent* 4639375. Appl. No 06/522878, 08/12/1983.
- Zeng, X.; S. Tan; dan Z. Lou. 1993. Study on application of enzymes to improve the quality of instant tea. *Paper presented at International Symposium on tea and human health.* TRA Calcutta, h.1-7.