

B

iosaintifika

Berkala Ilmiah Biologi

Volume 1. No.2 September 2009

1. Efek Pemberian Minyak Ikan Lemuru dan Minyak Sawit dalam Pakan terhadap Kualitas Sperma Burung Puyuh
Wiwi Isnaeni, Wulan Christijanti, Nur Chanifah 97-103
2. Keanekaragaman Tumbuhan Paku (*Pteridophyta*) di Kawasan Cagar Alam Gebugan Kabupaten Semarang
Nugroho Eko Kartijono, Asep Maulana Yusuf 104-114
3. Jenis-Jenis Media yang Cocok bagi Imago Myrmeleon untuk Melakukan Oviposisi
Sri Ngabekti, Elia Dwi Astriyanti 115-120
4. Induksi Kalus Embriogenik dari Eksplan Daun Karika Dieng dengan Penambahan BA dan NAA
Enni Suwarsi Rahayu, Umi Imtihanah Fikriati 121-129
5. Pengaruh Getah Tanaman Patah Tulang Secara Topikal Terhadap Gambaran Histopatologis dan Ketebalan Lapisan Keratin Kulit
Nugrahaningsih W.H, Supriyanto, Lilis Astria Ika Luviana 130-137
- ✓ 6. Aktivitas Hepatoprotektor Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) pada Tikus yang Diinduksi Ccl₄
Aditya Marianti, Wulan Christijanti, Ari Yuniastuti 138-148
7. Kajian Awal Identifikasi Spesies, Populasi dan Habitat Ayam Hutan (*Gallus*) di Wana Wisata Penggaron Semarang
Bambang Priyono, Margareta Rahayuningsih 149-157
- ✓ 8. Pengaruh pH dan CaCl₂ terhadap Inaktivasi *Gaultherase* untuk Produksi *Gaultherin* dari Daun Gandapura
Ari Yuniastuti, Ani Andri Astuti 158-164
9. Pengaruh Ekstrak Sambiloto terhadap Pertumbuhan Kanker Mammae dan Mikroanatomi Ginjal Mencit Galur C3H
Endang Sugiarti 165-171
10. Modifikasi Metode Isolasi DNA Pisang dengan Teknik *Kitchen Preparation*
Tuti Widiyanti, Amin Retnoningsih, Sumiati 172-179

Biosaintifika	Vol. 1	No. 2	Hal 97-179	Semarang Sept. 2009	ISSN 2085-191X
---------------	--------	-------	------------	------------------------	----------------

Biosaintifika

Berkala Ilmiah Biologi

PENERBIT :

Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Gedung D6 Lantai 1 Jurusan Biologi FMIPA Unnes
Jl. Sekaran - Gunungpati Semarang 50229 Telp. & Faks. +62-24-8508033
Email : biosaintifika@yahoo.com

TERBIT PERTAMA TAHUN:
2009

KETUA PENYUNTING
Enni Suwarsi Rahayu

WAKIL KETUA PENYUNTING
Sri Mulyani Endang Susilowati

PENYUNTING AHLI
Amin Retnoningsih (Botani)
R. Susanti (Zoologi)
Nana Kariada (Lingkungan)
Retno Sri Iswari (Bioteknologi)

PENYUNTING PELAKSANA
Wiwi Isnaeni
Noor Aini Habibah
Andin Irsadi
Tyas Agung Pribadi
Dyah Rini Indriyanti

SEKRETARIAT
Muhammad Abdullah
Pramesti Dewi
Parmin

Biosaintifika Berkala Ilmiah Biologi mempublikasikan tulisan ilmiah dari hasil-hasil penelitian Biologi meliputi bidang botani, zoologi, lingkungan dan bioteknologi. Penyunting menerima tulisan yang belum pernah dipublikasikan dalam media lain dengan format penulisan seperti tercantum pada halaman belakang. Naskah akan ditelaah oleh Penyunting Ahli dan Penyunting Pelaksana.

Jurnal ini diterbitkan dua kali dalam setahun, setiap bulan Maret dan September.

Pengaruh pH dan CaCl₂ terhadap Inaktivasi *Gaultherase* untuk Produksi *Gaultherin* dari Daun Gandapura

(The Influence of pH and CaCl₂ on Inactivation *Gaultherase* Enzyme for The *Gaultherin* Production of Gandapura Leaf)

Ari Yuniastuti^{1,2)} dan Ani Andri Astuti¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang
Jalan Raya Sekaran Gunungpati Semarang 50229

²⁾Penulis untuk korespondensi, e-mail ari_yuniastuti@yahoo.co.id

Abstract

This study aimed to determine the effect of acidity level, CaCl₂ and the interaction of both on *gaultherase* inactivation toward the *gaultherin* production of *gandapura* leaves. The treatment was the combination of acidity level (i.e acidity level of 7, 8 and 9) and concentration of CaCl₂ addition (i.e 10%, 15%, 20% and 25%). Each treatment combination was replicated three times. Each treatment obtained 10 grams of *gandapura* leaves and 100 ml of 90% ethanol, which being blended for 15 minutes by 5500 rpm speed an followed by 10.000g/10 minutes centrifugation. Supernatan was moved in a bottle for flacon levels *gaultherin* analyzed using High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (HPLC-MS). *Gaultherin* levels were analyzed by using two-way factorial anova and followed by Duncan multiple range test. The results confirms that acidity level, CaCl₂ and interaction of both affect *gaultherase* enzyme inactivation.

Keyword: *gaultherase* enzyme, *gandapura*

Pendahuluan

Gandapura dikenal dengan nama *indian wintergreen*. Di Indonesia *gandapura* tumbuh di pegunungan di pulau Jawa dan Sumatra pada ketinggian 1300-3000 m dari permukaan laut. Daun *gandapura* merupakan penghasil minyak *gandapura* yang memiliki kandungan metil-salisilat tinggi, dan sebagian besar salisilat berada dalam bentuk aktif disebut *gaultherin*. *Gaultherin* memiliki sifat sebagai bahan terbaik aspirin natural, anti kanker, *anti inflammatory* dan *cardiopulmonary*. Sebagai aspirin natural, *gaultherin* memiliki daya sembuh yang sama namun memiliki efek

negatif yang minimal dibanding aspirin sintetis. Saat ini, aspirin (*acetylsalicylic acid*) merupakan obat yang paling banyak dikonsumsi oleh penduduk dunia karena sifat dan fungsinya sebagai anti piretik, *anti inflammatory* dan analgesik (Ribnicky *et al.* 2002).

Gaultherin dapat ditemukan pada sel-sel tanaman dalam jumlah tinggi. Indikator adanya *gaultherin* adalah jika jumlah salisilat yang dikandung oleh suatu tanaman juga tinggi. Ini dapat dimengerti karena *gaultherin* merupakan derivat utama dari salisilat. *Gaultherin* dapat diperoleh dari tanaman lain

selain gandapura, tetapi *gaultherin* yang dikandung oleh tanaman gandapura relatif lebih banyak dibandingkan dengan tanaman lain (Ribnicky & Poulev 2003).

Kesulitan yang dialami dalam proses pengambilan *gaultherin* adalah saat proses ekstraksi. Rusaknya jaringan akan menghidrolisis *gaultherin* menjadi metil-salisilat dan disakarida oleh enzim *gaultherase*. Untuk mengatasi hal itu, perlu inaktivasi *gaultherase* saat ekstraksi.

Aktivitas enzimatik yang berperan penting dalam menghidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat adalah enzim *gaultherase* (Ribnicky & Poulev 2003). Enzim *gaultherase* merupakan jenis enzim *hidrolase* golongan *glikosidase*, yang memiliki aktivitas optimum disekitar pH larutan asam lemah. Pada kondisi bioekstraksi basa lemah menyebabkan enzim *gaultherase* mengalami *unfolding*, sehingga enzim inaktif dan akibatnya akan mereduksi reaksi hidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat yang dikatalisis oleh enzim *gaultherase* (Hartati Indah 24 Maret 2009, komunikasi pribadi).

Berdasarkan metode yang digunakan oleh Ribnicky *et al.* (2003), untuk memperoleh *gaultherin* dari jaringan tumbuhan *Gaultheria procumbens*, kurang lebih hanya sebanyak 5 mg per gram berat daun gandapura yang diperoleh jika menggunakan *drying agent* berupa CaCl_2 dengan konsentrasi tidak lebih dari 5%, dengan syarat jika jaringan tumbuhan yang digunakan dalam keadaan masih segar dan pada saat mengekstraksi dengan ditambahkan *drying agent* yang berfungsi untuk mengurangi kemungkinan hidrolisis *gaultherin*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap inaktivasi enzim *gaultherase* untuk produksi *gaultherin* dari daun gandapura, pengaruh CaCl_2 terhadap inaktivasi enzim *gaultherase* untuk produksi *gaultherin* dari daun gandapura, dan interaksi pengaruh antara pH dan CaCl_2 terhadap inaktivasi enzim *gaultherase* untuk produksi *gaultherin* dari daun gandapura.

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Universitas Negeri Semarang dan di Desa Sikunang Kecamatan Kejajar Kabupaten Wonosobo selama 2 bulan. Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3 X 4. Faktor pertama adalah pH terdiri atas 3 taraf yaitu pH 7, 8 dan 9, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi CaCl_2 terdiri atas 4 taraf yaitu 10%, 15%, 20% dan 25%. Desain rancangan penelitian ditunjukkan pada Tabel 1.

Alat yang digunakan adalah blender buah dengan kecepatan 5500 rpm, 220V; sentrifuse (Centurion), neraca analitis, dengan tingkat ketelitian 0,1 gram, termos, indikator pH yang memiliki skala 0 sampai 14, tingkat ketelitian 0,1, corong gelas, pipet tetes, untuk membantu dalam pengukuran pH larutan dan buffer pH, botol flakon, untuk menampung hasil ekstraksi, *beaker glass* (Pyrex), ukuran 250 ml, untuk menampung hasil ekstraksi *gaultherin*, tabung reaksi, gelas ukur (Pyrex), ukuran 10 ml dan 100 ml, pengaduk, dan kromatografi gas (HPLC-MS). Bahan yang digunakan adalah daun gandapura jenis *Gaultheria fragrantissima* yang masih segar berwarna hijau, solvent (etanol 90 %), NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, dan CaCl_2 .

Metode ekstraksi *gaultherin* dari gandapura pada penelitian ini dimodifikasi dari metode ekstraksi *gaultherin* dari *United States Patent*. Modifikasi dilakukan pada penambahan CaCl_2 yang dimodifikasi jumlah konsentrasinya dan penambahan kondisi pH larutan ekstraksi.

Proses ekstraksi *gaultherin* dibagi menjadi 3 kelompok (H1, H2 dan H3), masing-masing kelompok terdiri dari 4 sub-kelompok (K1, K2, K3 dan K4), dan setiap sub-kelompok terdiri dari 3 ulangan. Kelompok H1 dengan pH 7, kelompok H2 dengan pH 8 dan kelompok H3 dengan pH 9. Sub kelompok K1 dengan ditambahkan CaCl_2 10%, sub kelompok K2 ditambahkan CaCl_2 15%, sub kelompok K3 ditambahkan CaCl_2 20% dan

sub kelompok K4 ditambahkan CaCl₂ 25%. Setiap sub kelompok ditambahkan 10 gr daun gandapura dan 100 ml etanol 90%, kemudian diblender selama 15 menit dengan kecepatan 5500 rpm. Selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 10.000 g/10 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam botol flakon untuk dianalisa kadar gaultherinnya dengan menggunakan kromatografi cair (HPLC-MS).

Pada proses inaktivasi enzim *gaultherase* dari gandapura, pengumpulan data dilakukan dengan menentukan yield berupa *gaultherin* dengan HPLC MS. Analisis data yang digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pH dan konsentrasi CaCl₂ terhadap produksi *gaultherin* dari daun gandapura adalah analisis ANAVA dua jalan pola faktorial. Jika hasil uji signifikan, perbedaan pengaruh antar taraf perlakuan dianalisis dengan uji jarak ganda duncan dengan tingkat kepercayaan 95% (Gomez dan Gomez 1995).

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Rerata kadar *gaultherin* dari daun gandapura pada perlakuan pH dan konsentrasi CaCl₂ disajikan pada Tabel 2, yang memperlihatkan bahwa kadar *gaultherin* dari daun gandapura pada berbagai pH dan CaCl₂. Perlakuan pada pH 9 dengan konsentrasi CaCl₂ 25% menunjukkan rata-rata kadar *gaultherin* yang paling tinggi, sedangkan

perlakuan pada pH 7 dengan konsentrasi CaCl₂ 10% menunjukkan rata-rata kadar *gaultherin* yang paling kecil.

Hasil analisis anava dua arah pola faktorial menunjukkan bahwa faktor pH, CaCl₂ dan interaksi pH dan CaCl₂ berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap kadar *gaultherin* dari daun gandapura (Tabel 3). Berdasarkan uji Duncan diketahui bahwa pH 9 mengakibatkan kadar *gaultherin* yang paling tinggi dengan rata-rata 13.44 (Tabel 4), konsentrasi CaCl₂ 25% mengakibatkan kadar *gaultherin* yang paling tinggi dengan rata-rata 13.10 (Tabel 5), sedangkan interaksi pH 9 dan kadar CaCl₂ sebesar 25% memperoleh kadar *gaultherin* yang paling tinggi dengan rata-rata sebesar 15.57 (Tabel 6).

Faktor pH mempengaruhi proses inaktivasi enzim *gaultherase* untuk produksi *gaultherin* dari daun gandapura. Kondisi optimum bioekstraksi inaktivasi enzim *gaultherase* tercapai pada pH 9 dengan kadar senyawa *gaultherin* rata-rata sebesar 13.44. Pada kondisi bioekstraksi pH 9 enzim *gaultherase* mengalami *unfolding* yang lebih optimal dibandingkan pada kondisi pH 7 dan 8, akibatnya akan mereduksi reaksi hidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat dan disakarida yang dikatalisis oleh enzim *gaultherase*.

Enzim yang berperan dalam proses hidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat

Tabel 1. Desain rancangan penelitian acak lengkap dengan dua faktor (3x4) dan 3 ulangan

pH (H)	Konsentrasi CaCl ₂ (K)			
	K1 (10%)	K2 (15%)	K3 (20%)	K4 (25%)
H1 (7)	H1K1 ₁	H1K2 ₁	H1K3 ₁	H1K4 ₁
	H1K1 ₂	H1K2 ₂	H1K3 ₂	H1K4 ₂
	H1K1 ₃	H1K2 ₃	H1K3 ₃	H1K4 ₃
H2 (8)	H2K1 ₁	H2K2 ₁	H2K3 ₁	H2K4 ₁
	H2K1 ₂	H2K2 ₂	H2K3 ₂	H2K4 ₂
	H2K1 ₃	H2K2 ₃	H2K3 ₃	H2K4 ₃
H3 (9)	H3K1 ₁	H3K2 ₁	H3K3 ₁	H3K4 ₁
	H3K1 ₂	H3K2 ₂	H3K3 ₂	H3K4 ₂
	H3K1 ₃	H3K2 ₃	H3K3 ₃	H3K4 ₃

Tabel 2. Rata-rata kadar *gaultherin* dari daun gandapura akibat perlakuan pH dan konsentrasi CaCl_2

CaCl ₂	pH		
	7	8	9
10%	6.42	10.55	11.50
	6.62	10.78	11.62
	6.58	10.63	11.47
Rerata	6.54 ± 0.086	10.65 ± 0.095	11.53 ± 0.064
15%	6.85	11.87	12.10
	6.94	11.86	12.20
	6.78	11.85	12.46
Rerata	6.86 ± 0.065	11.86 ± 0.008	12.25 ± 0.151
20%	7.57	12.75	14.45
	7.50	12.68	14.22
	7.40	12.72	14.56
Rerata	7.49 ± 0.069	12.72 ± 0.028	14.41 ± 0.358
25%	10.60	13.20	15.50
	10.58	13.15	15.80
	10.46	13.18	15.40
Rerata	10.55 ± 0.061	13.18 ± 0.02	15.57 ± 0.17

adalah *gaultherase*. *Gaultherase* yang terdapat pada tanaman *Gaultheria fragrantissima* merupakan enzim hidrolase sub kelas *glikosidase*, memiliki aktivitas optimum pada pH asam lemah (Sadikin 2002), sehingga pada kondisi bioekstraksi pH netral sampai basa lemah enzim *gaultherase* mengalami *unfolding* karena enzim *gaultherase* berada pada kondisi pH yang tidak optimum untuk mengkatalisis *gaultherin*, akibatnya akan mereduksi reaksi hidrolisis *gaultherin*, sehingga produksi *gaultherin* yang diperoleh

tinggi.

Kondisi optimum bioekstraksi inaktivasi enzim tercapai pada pH 9 dengan kadar senyawa aktif *gaultherin* sebesar 13.44%. Dalam penelitian ini, semakin besar pH ekstraksi, akan meningkatkan kadar senyawa *gaultherin*. Namun demikian, berdasarkan hasil penelitian Yuniastuti *et al.* (2008) peningkatan pH lebih dari 9 yaitu pada pH 10 menunjukkan bahwa kadar senyawa *gaultherin* dari daun gandapura mengalami penurunan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa

Tabel 3. Ringkasan hasil ANAVA dua arah pola faktorial pada kadar *gaultherin**)

Sumber Keragaman (SK)	Derajat kebebasan (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Fh	Ft 5%
pH	2	203.80	101.904	7838.46*	3.40
CaCl ₂	3	63.94	21.316	1639.23*	3.01
Interaksi	6	8.99	1.499	114.61*	2.51
Galat	24	0.32	0.013		
Total	35	277.07	7.916		

*) Berpengaruh signifikan pada taraf signifikansi 5%

gaultherase merupakan jenis enzim hidrolase, yang memiliki aktivitas optimum disekitar pH

gaultherin diperoleh pada konsentrasi CaCl_2 25% dengan rata-rata kadar *gaultherin* yang

Tabel 4. Hasil uji Duncan kadar *gaultherin* dari daun gandapura akibat perlakuan pH*

pH	Rata-rata kadar <i>gaultherin</i>	UJGD 5% $R_{p(0.05)}$
7	13.44 ^a	-
8	12.10 ^b	0,19
9	7.86 ^c	0,20

* Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda berarti berbeda signifikan pada taraf signifikansi 5%

larutan asam lemah. Oleh karenanya, pada kondisi bioekstraksi basa lemah menyebabkan enzim *gaultherase* mengalami *unfolding*, akibatnya akan mereduksi reaksi hidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat yang dikatalisis oleh enzim *gaultherase*.

Rangkaian asam amino pada enzim *gaultherase* membentuk susunan tiga dimensi yang spesifik (struktur tersier) memiliki bagian sisi aktif, yaitu bagian yang bertanggung jawab terhadap aktivitas katalitik enzim. Enzim *gaultherase* yang berada pada kondisi di luar pH optimum, menyebabkan bagian sisi aktif enzim *gaultherase* mengalami *unfolding*,

diperoleh sebesar 13.10. Meningkatnya konsentrasi CaCl_2 menyebabkan perolehan *gaultherin* semakin besar, terutama dengan penambahan CaCl_2 . Hal ini dapat dijelaskan bahwa CaCl_2 berfungsi sebagai pengering secara osmosis, yaitu proses pengambilan air dari larutan berkonsentrasi tinggi dibatasi membran semipermeabel. Air dari larutan encer akan mendifusi melalui membran ke larutan yang lebih tinggi konsentrasinya terus-menerus hingga tercapai keadaan setimbang. Mengingat sifat membran semipermeabel yang hanya dapat dilewati air dan senyawa dengan berat molekul kecil maka solut tidak dapat

Tabel 5. Hasil uji Duncan data kadar *gaultherin* dari daun gandapura akibat perlakuan CaCl_2 *

kadar CaCl_2	Rata-rata kadar <i>gaultherin</i>	UJGD 5% $R_{p(0.05)}$
10	13.10 ^a	-
15	11.54 ^b	0,19
20	10.32 ^c	0,20
25	7.39 ^d	0,20

* Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda berarti berbeda signifikan pada taraf signifikansi 5%

sehingga sisi aktif enzim tidak dapat mengikat *gaultherin* dan menghidrolisa *gaultherin* menjadi metil salisilat dan disakarida (Bugg 2004)

CaCl_2 berpengaruh signifikan pada proses inaktivasi enzim *gaultherase* untuk produksi *gaultherin* dari daun gandapura. Hasil yang paling optimal untuk kadar

mendifusi melalui membran ke arah sebaliknya. Bilapun ada solut yang mendifusi, perpindahan massa yang terjadi sangat lambat, sehingga perpindahan massa utama yang terjadi pada proses ini adalah perpindahan massa air ke larutan yang konsentrasinya tinggi (Ponting & Green 1966). Akibatnya kemungkinan terjadinya reaksi hidrolisis *gaultherin* menjadi

Tabel 6. Hasil uji Duncan data kadar *gaultherin* dari daun gandapura tiap kombinasi taraf perlakuan pH dan CaCl₂ *

Interaksi pH dan CaCl ₂	Rata-rata kadar <i>gaultherin</i>	UJGD 5% R _{p(0.05)}
H3K4	15.57 ^a	-
H3K3	14.41 ^b	0,19
H2K4	13.18 ^c	0,20
H2K3	12.72 ^d	0,20
H3K2	12.25 ^e	0,20
H2K2	11.86 ^f	0,20
H3K1	11.53 ^g	0,21
H2K1	10.65 ^h	0,21
H1K4	10.55 ^h	0,21
H1K3	7.49 ⁱ	0,22
H1K2	6.86 ^j	0,22
H1K1	6.54 ^k	0,22

Keterangan :

* Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda berarti berbeda signifikan pada taraf signifikansi 5%

metil salisilat dan disakarida relatif rendah.

Perpindahan massa air melalui membran semipermeabel dapat berlangsung karena adanya beda potensial kimia antara kedua larutan tersebut, dimana potensial kimia air di larutan encer lebih tinggi daripada potensial kimia air di larutan dengan konsentrasi tinggi. Fenomena ini dikenal dengan peristiwa osmosis (Cheryan & Nichols 1992). Potensial kimia merupakan fungsi konsentrasi, temperatur dan tekanan. Jika pada kondisi isothermal, maka potensial kimia hanya dipengaruhi oleh konsentrasi dan tekanan saja. Meningkatnya konsentrasi solut akan menurunkan potensial kimia solven (Lewicki & Lenart 1995).

Jenis drying agent CaCl₂ memiliki kapasitas tinggi untuk mengeluarkan air dari fase organik dibandingkan dengan jenis *drying agent* yang lain seperti sodium sulfat dan gelatin (Yuniastuti *et al.* 2008). CaCl₂ lebih efektif digunakan sebagai pengering secara osmosis dalam proses inaktivasi enzim *gaultherase* daun gandapura dibandingkan jenis *drying agent* yang lain. Dengan penambahan CaCl₂ pada bioekstraksi *gaultherin* dari daun gandapura dapat

mempengaruhi proses inaktivasi enzim *gaultherase*, karena CaCl₂ berfungsi untuk mengikat, mengurangi maupun menghilangkan kandungan air larutan bioekstraksi, sehingga mengurangi hidrolisis *gaultherin* oleh enzim *gaultherase* (Ribnicky 2003).

Hasil analisis data dengan uji Anava dua arah menunjukkan bahwa, interaksi antara pH dan CaCl₂ berpengaruh signifikan terhadap kadar *gaultherin*. Hasil yang paling optimal diperoleh pada perlakuan H3K4 (pH 9 dan konsentrasi CaCl₂ 25%) dengan rata-rata kadar *gaultherin* sebesar 15.57 dan kadar *gaultherin* paling rendah pada perlakuan H1K1 (pH 7 dan konsentrasi CaCl₂ 10%) dengan rata-rata sebesar 6.54.

Pada hasil penelitian ini diketahui bahwa produksi *gaultherin* paling tinggi dicapai pada kondisi bioekstraksi pH 9 dan konsentrasi CaCl₂ 25% dengan perolehan *gaultherin* rata-rata sebesar 15.57. Pada pH 9 bentuk tiga dimensi enzim *gaultherase* mengalami denaturasi, sehingga sisi aktif enzim *gaultherase* tidak dapat menghidrolisis *gaultherin*. Pada saat yang bersamaan konsentrasi CaCl₂ 25% pada larutan menyebabkan peningkatan terjadinya peristiwa

Tabel 6. Hasil uji Duncan data kadar *gaultherin* dari daun gandapura tiap kombinasi taraf perlakuan pH dan CaCl₂ *

Interaksi pH dan CaCl ₂	Rata-rata kadar <i>gaultherin</i>	UJGD 5% R _{p(0.05)}
H3K4	15.57 ^a	-
H3K3	14.41 ^b	0,19
H2K4	13.18 ^c	0,20
H2K3	12.72 ^d	0,20
H3K2	12.25 ^e	0,20
H2K2	11.86 ^f	0,20
H3K1	11.53 ^g	0,21
H2K1	10.65 ^h	0,21
H1K4	10.55 ^h	0,21
H1K3	7.49 ⁱ	0,22
H1K2	6.86 ^j	0,22
H1K1	6.54 ^k	0,22

Keterangan :

* Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda berarti berbeda signifikan pada taraf signifikansi 5%

metil salisilat dan disakarida relatif rendah.

Perpindahan massa air melalui membran semipermeabel dapat berlangsung karena adanya beda potensial kimia antara kedua larutan tersebut, dimana potensial kimia air di larutan encer lebih tinggi daripada potensial kimia air di larutan dengan konsentrasi tinggi. Fenomena ini dikenal dengan peristiwa osmosis (Cheryan & Nichols 1992). Potensial kimia merupakan fungsi konsentrasi, temperatur dan tekanan. Jika pada kondisi isothermal, maka potensial kimia hanya dipengaruhi oleh konsentrasi dan tekanan saja. Meningkatnya konsentrasi solut akan menurunkan potensial kimia solven (Lewicki & Lenart 1995).

Jenis drying agent CaCl₂ memiliki kapasitas tinggi untuk mengeluarkan air dari fase organik dibandingkan dengan jenis *drying agent* yang lain seperti sodium sulfat dan gelatin (Yuniastuti *et al.* 2008). CaCl₂ lebih efektif digunakan sebagai pengering secara osmosis dalam proses inaktivasi enzim *gaultherase* daun gandapura dibandingkan jenis *drying agent* yang lain. Dengan penambahan CaCl₂ pada bioekstraksi *gaultherin* dari daun gandapura dapat

mempengaruhi proses inaktivasi enzim *gaultherase*, karena CaCl₂ berfungsi untuk mengikat, mengurangi maupun menghilangkan kandungan air larutan bioekstraksi, sehingga mengurangi hidrolisis *gaultherin* oleh enzim *gaultherase* (Ribnicky 2003).

Hasil analisis data dengan uji Anava dua arah menunjukkan bahwa, interaksi antara pH dan CaCl₂ berpengaruh signifikan terhadap kadar *gaultherin*. Hasil yang paling optimal diperoleh pada perlakuan H3K4 (pH 9 dan konsentrasi CaCl₂ 25%) dengan rata-rata kadar *gaultherin* sebesar 15.57 dan kadar *gaultherin* paling rendah pada perlakuan H1K1 (pH 7 dan konsentrasi CaCl₂ 10%) dengan rata-rata sebesar 6.54.

Pada hasil penelitian ini diketahui bahwa produksi *gaultherin* paling tinggi dicapai pada kondisi bioekstraksi pH 9 dan konsentrasi CaCl₂ 25% dengan perolehan *gaultherin* rata-rata sebesar 15.57. Pada pH 9 bentuk tiga dimensi enzim *gaultherase* mengalami denaturasi, sehingga sisi aktif enzim *gaultherase* tidak dapat menghidrolisis *gaultherin*. Pada saat yang bersamaan konsentrasi CaCl₂ 25% pada larutan menyebabkan peningkatan terjadinya peristiwa

osmosis yaitu perpindahan massa air larutan yang berkonsentrasi tinggi tersebut. Kondisi larutan yang berkonsentrasi tinggi ini akan dapat mereduksi (meniadakan) reaksi hidrolisis *gaultherin* menjadi metil salisilat dan disakarida. Jadi pada kondisi bioekstraksi interaksi pH 9 dan konsentrasi CaCl_2 25% dapat diperoleh produksi *gaultherin* yang lebih tinggi.

Produksi *gaultherin* dari daun gandapura dapat ditingkatkan dengan peningkatan pH ekstraksi dan penambahan CaCl_2 pada konsentrasi tertentu. Peningkatan pH ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas enzim *gaultherase*. Pada kondisi bioekstraksi pH netral sampai basa lemah menyebabkan struktur tiga dimensi enzim *gaultherase* mengalami denaturasi, dan pada kondisi diluar pH optimum yaitu pH asam lemah, *gaultherin* tidak dapat menempel dengan tepat di bagian sisi aktif enzim *gaultherase* sehingga proses katalisis tidak berjalan optimum (Sadikin 2002). Pada penambahan CaCl_2 konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% dapat mempengaruhi inaktivasi enzim *gaultherase*, karena CaCl_2 berfungsi untuk mengikat, mengurangi maupun menghilangkan kandungan air dalam larutan bioekstraksi, sehingga mengurangi hidrolisis *gaultherin* oleh enzim *gaultherase* (Ribnicky 2003).

Penutup

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pH, konsentrasi CaCl_2 dan interaksi keduanya berpengaruh terhadap inaktivasi enzim *gaultherase* atau meningkatkan produksi *gaultherin*. Interaksi pH 9 dan konsentrasi CaCl_2 25% mengakibatkan in-aktivasi enzim *gaultherase* yang paling optimal.

Daftar Pustaka

- Bugg TDH. 2004. *Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry*. Edisi Kedua. New York: Blackwell Publishing.
- Cheryan & Nichols. 1992. Drying of Enzymes: Enzyme Retention During Drying of a Single Droplet. *Chemical Engineering Science* 47(1):177-183.
- Gomez & Gomez. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Edisi Kedua. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Lewicki & Lenart. 1995. *Biochemical Engineering Fundamentals*. United States of America: McGraw-Hill Book Company..
- Ponting JH. & Green D. 1966. *Perry's Chemical Engineers Handbook*, 6th edition, New York: Mc Graw Hill.
- Ribnicky, David M, Poulev, Alexander A, Raskin & Ilya. 2002. Recovery of *Gaultherin* from Plants. *On line at <http://www.freepatentsonline.com/>* (accessed 31 Agustus 2008).
- Ribnicky & Poulev. 2003. The determination of Salicylates in *Gaultheria sp* for Use as a Natural Aspirin Alternative. *Journal of Nutraceuticals* 5 (6):65-79.
- Sadikin M. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika.
- Yuniastuti A, Yulianto ME & Hartati I. 2008. Pengembangan Produksi *Gaultherin* dari Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) melalui Proses Inaktivasi Enzimatis, Laporan Penelitian. Litbang Departemen Pertanian.