
PENGEMBANGAN BIOEKSTRAKTOR INAKTIVASI ENZIM GAULTHERASE UNTUK PRODUKSI GAULTHERIN DARI GANDAPURA (*GAULTHERIA FRAGRANTISSIMA*)

Mohammad Endy Y, Indah Hartati, Endah Lestari, Tandang Patria Tama, Devita Hardianti

Jurusan Teknik Kimia PSD III Teknik, UNDIP Semarang
Jl. Prof Sudarto SH, Pedalangan Tembalang, Semarang 50239
Email: de3nda_mop4@yahoo.co.id

Abstrak

Gandapura terkenal sebagai penghasil minyak atsiri. Komponen Gandapura yang bernilai ekonomis tinggi adalah salisilatnya. Sebagian besar dari salisilat total bersifat aktif dan biasa disebut gaultherin. Gaultherin merupakan konjugasi dari metil salisilat dan disakarida. Gaultherin memiliki banyak kegunaan di bidang farmasi yaitu dapat mencegah kanker, inflammatory, cardiopulmonary dan sebagai natural aspirin yang baik. Akan tetapi untuk memproduksi gaultherin dari gandapura tidaklah mudah. Produksi gaultherin dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Namun, selama proses ekstraksi jaringan tanaman gandapura akan rusak dan menyebabkan reaksi hidrolisa yang dikatalisis oleh enzim gaultherase yang terdapat pada tanaman itu sendiri. Reaksi ini akan menyebabkan komponen dari gaultherin yaitu metil salisilat terlepas. Cara untuk mengekstrak gaultherin pada kondisi yang relatif baik adalah dengan menggunakan pelarut alkohol (alcoholic solvent extraction). Oleh karenanya, pada penelitian ini digunakan alat bioekstraktor. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap produksi gaultherin dari gandapura dengan proses inaktivasi enzim gaultherase melalui ekstraksi dengan pelarut alkohol. Variabel tetap yang digunakan meliputi: rasio pelarut-umpan, pH, kecepatan putar pengaduk, kecepatan putar pisau pencacah, waktu ekstraksi dan suhu peengering. Sedangkan variable berubah yang digunakan adalah jenis drying agent berupa kalsium klorida dan konsentrasi etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perolehan gaultherin untuk kondisi yang relatif baik tercapai pada konsentrasi etanol sebesar 90%.

Kata kunci: *Gaultherin, Gaulterase, Alkohol, Bioekstraktor*

Pendahuluan

Gandapura merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri. Tanaman gandapura dapat tumbuh pada dataran tinggi, 1300-3300 meter dpl (Hernani, 2004). Kandungan gandapura yang menjadikannya sebagai penghasil minyak atsiri adalah jumlah salisilat total yang cukup tinggi. Dimana sebagian besar dari salisilat total bersifat aktif dan disebut Gaultherin.

Akan sangat menguntungkan, apabila kita dapat mengekstrak Gaultherin secara optimal karena Gaultherin berfungsi sebagai anti kanker, natural aspirin, anti inflammatory dan cardiopulmonary. Menurut estimasi, konsumsi aspirin dunia mencapai 20-50 juta pounds pertahun (Barat, 1998). Oleh karenanya, diperkirakan kebutuhan industri farmasi dunia terhadap gaultherin akan meningkat pada tahun-tahun mendatang.

Namun, sampai saat ini belum ada metode pengambilan gaultherin yang efektif dari tanaman gandapura. Kesulitan yang dialami dalam proses pengambilan gaultherin adalah kenyataan bahwa selama proses ekstraksi, dengan rusaknya jaringan, maka gaultherin akan dengan segera terhidrolisa menjadi komponen-komponen individualnya yaitu metil salisilat dan disakarida. Proses hidrolisa tersebut diyakini dikatalisasi oleh enzim yang terdapat dalam tanaman itu sendiri yaitu gaultherase (Waters, 1931).

Beberapa metode pengambilan gaultherin yang pernah dilakukan antara lain pada tahun 1928, diketahui bahwa gaultherin yang terdapat pada *Gaultheria procumbens* hanya dapat diekstrak menggunakan air panas dan penambahan kalsium karbonat. Proses ini diikuti dengan beberapa rangkaian ekstraksi menggunakan pelarut. Rangkaian ekstraksi tersebut menggunakan pelarut berupa asetik ester hidrat pada suhu 100⁰C. Proses tersebut menghasilkan yield akhir 4 g/kg daun segar (Bridel dan Gillon, 1928). Yield yang kecil terutama disebabkan oleh gaultherin yang terkandung dalam *Gaultheria procumbens* telah terhidrolisa oleh gaultherase.

Tabel 1. Konsentrasi salisilat pada beberapa tanaman

Spesies Tanaman	Salisilat bebas (ug/mg FW)	Salisilat Total (ug/mg FW)
English Thyme	0,81	31,63
Lemon Thyme	1,55	42,32
French Thyme	0,33	13,26
Lavender	0,28	6,14
Rosemary	0,58	3,84
Gandapura	19,0	5770
Rice M 201	1,4	9,5

Polev dkk pada tahun 1998 menyatakan bahwa aktivitas gaultherase terhambat dengan penambahan senyawa polar. Diyakini bahwa alkohol dapat menghambat aktivitas gaultherase. Beberapa jenis senyawa kimia lain juga dapat menimbulkan akibat yang sama seperti halnya alkohol, antara lain methylene clorida, acetonitril maupun air panas.

Alternatif yang ditawarkan pada proses produksi gaultherin dari tanaman gandapura adalah proses produksi gaultherin melalui teknologi penginaktifan enzim gaultherase dan proses ekstraksi menggunakan ekstraktor inaktivasi enzim dengan pelarut alkohol (*alcoholic solvent extraction*). **Proses inaktivasi enzim menggunakan pelarut beralkohol memiliki keunggulan**, karena dapat meringkas tiga tahapan proses sekaligus, yaitu proses inaktivasi enzim gaultherase, proses ekstraksi, dan proses dehidrasi osmosis (Hartati, dkk., 2008; Yuniastuti, dkk., 2008). Oleh karenanya, perolehan yield diharapkan akan meningkat.

Rancangan proses produksi gaultherin sebagai salah satu upaya diversifikasi produk dan pengembangan tanaman obat saat ini belum tersedia. Oleh karenanya, perlu dikaji pengembangan proses inaktivasi enzim gaultherase dengan menggunakan ekstraktor inaktivasi enzimatis (*alcoholic solvent*), agar diperoleh produk gaultherin dengan yield yang tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap produksi gaultherin dari gandapura dengan proses inaktivasi enzim gaultherase melalui ekstraksi dengan pelarut alkohol. Data teknis hasil penelitian diharapkan dapat diaplikasikan oleh kelompok-kelompok tani penghasil gandapura. Oleh karenanya, produksi gaultherin dapat menjadi salah satu opsi diversifikasi produk dari tanaman gandapura. Harapannya, dengan memproduksi gaultherin dapat meningkatkan nilai ekonomis industri gandapura dan berakibat positif bagi kelompok tani penghasil gandapura.

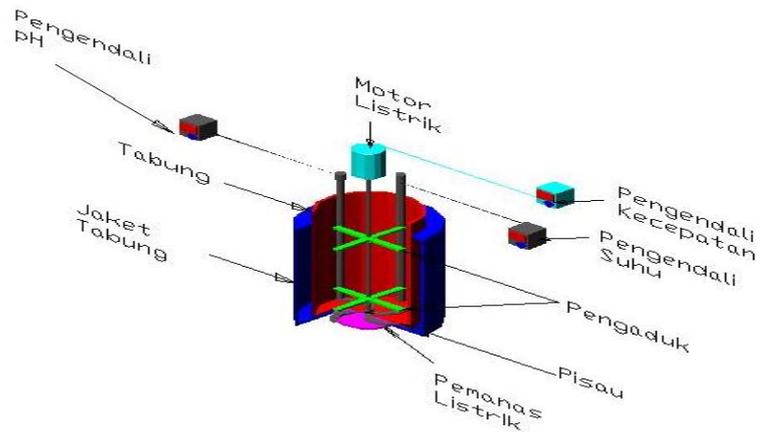
Metodologi

Alat Bioekstraktor Ekstraktor

Ekstraktor inaktivasi enzimatis merupakan multi fungsi, yaitu mampu meringkas tiga tahapan proses dalam satu alat, yaitu proses inaktivasi enzim, proses ekstraksi gaultherin dan proses dehidrasi osmosis. Ekstraktor berupa tangki berpengaduk yang dilengkapi dengan blade/pisau pencacah seperti halnya pada blender.

Bahan Penelitian

Bahan baku yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan bunga tanaman gandapura yang akan diperoleh dari KT Rukun di Desa Sikunang Wonosobo. Bahan lain yang diperlukan adalah bahan kimia yang digunakan sebagai solvent, pH buffer, drying agent dan bahan untuk keperluan analisa kadar gaultherin menggunakan HPLC-MS.



Gambar 1. Alat bioekstraktor inaktivasi enzimatis

Alat Penelitian

Peralatan utama yang dipakai pada penelitian ini adalah ekstraktor inaktivasi enzim, alat filtrasi dan oven. Alat lain yang diperlukan adalah alat penentuan kadar asam salisilat, centrifuge dan heater.

Variabel Percobaan

Variabel tetap yang digunakan adalah rasio solvent-umpan 10:1, pH larutan dijaga 8, kecepatan putar pengaduk ditentukan 75 rpm, kecepatan putar pisau pencacah 125 rpm, waktu ekstraksi 60 menit, dan suhu peengeringan produk 80^o. Sedangkan variable berubah yang digunakan adalah jenis drying agent yaitu kalsium klorida dan konsentrasi etanol 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%.

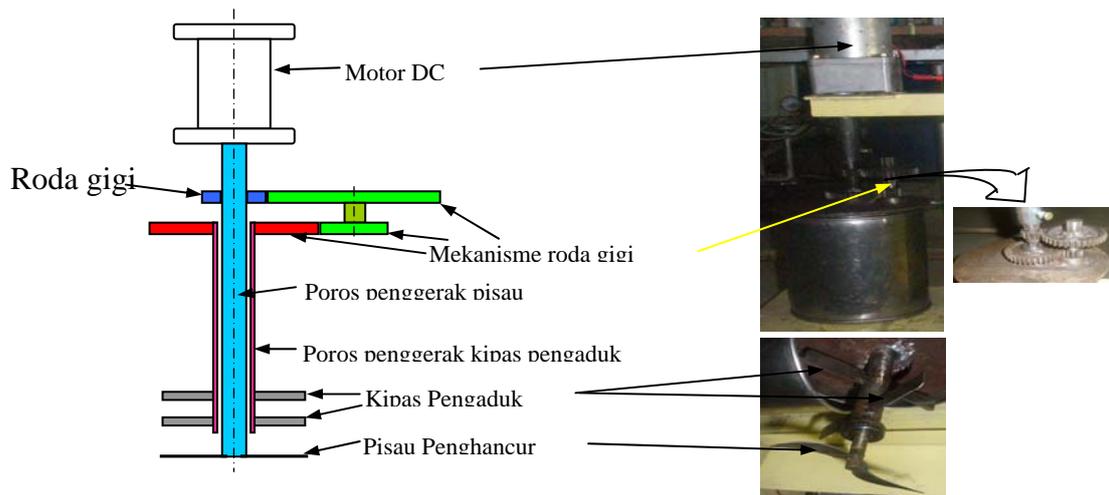
Prosedur Percobaan

Pada percobaan ini, daun dan bunga tanaman gandapura dibekukan menggunakan es atau nitrogen cair. Ekstraksi dilakukan dalam ekstraktor inaktivasi enzim dengan etanol sebagai solvent. Ekstraktor dilengkapi blade atau pisau pencacah dibagian bawah. Rasio solvent: umpan 10:1. Etanol yang ditambahkan adalah etanol dengan konsentrasi 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%. pH larutan dijaga pada pH 8 menggunakan buffer pH. Kecepatan putar pengaduk dan kecepatan putar pisau pencacah masing masing 75 dan 125 rpm. Drying agent ditambahkan sesuai dengan variabel percobaan. Ekstraksi dilangsungkan selama 60 menit. Padatan kemudian dipisahkan dari ekstrak menggunakan filter atau centrifuge. Ekstrak yang telah terpisah dari padatannya kemudian ditambahkan dengan bahan kimia atau dipanaskan guna menghilangkan solvent. Hasil ekstraksi kemudian dianalisa kandungan gaultherinnya dengan alat HPLC-MS.

Hasil dan Pembahasan

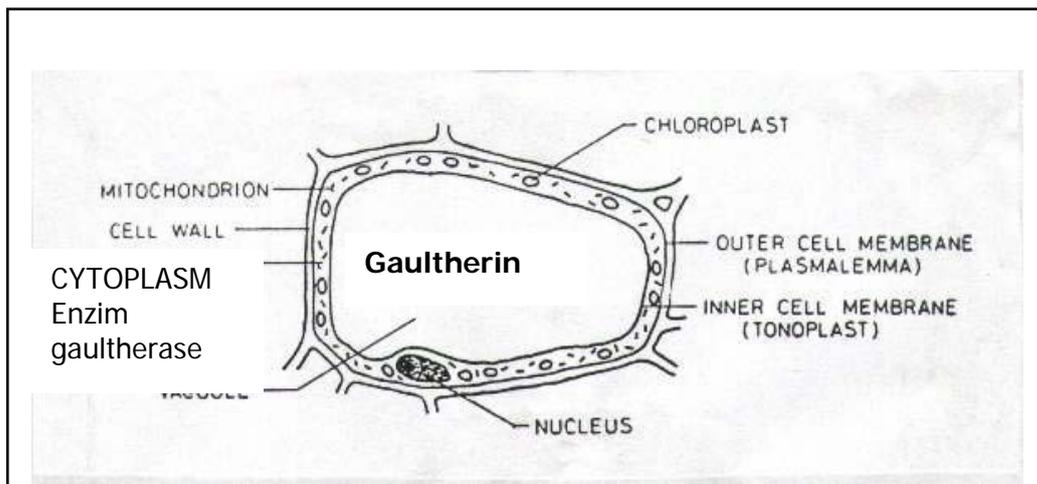
Bioekstraktor gaultherin terdiri dari dua bagian utama, tangki ekstraktor dan unit pengendali. Tangki ekstraktor terdiri dari motor penggerak, pisau penghancur, dan pengaduk. Sedangkan unit pengendali terdiri dari pengatur kecepatan dan termokopel untuk mengukur temperatur.

Difusi etanol ke dalam daun gandapura bertujuan agar enzim gaultherase yang berada dalam sitoplasma bepenetrasi dengan pelarut, sehingga menyebabkan aktivitas enzim terhambat. Pernyataan ini juga diungkapkan oleh Poley dkk bahwa aktivitas gaultherase terhambat dengan penambahan senyawa polar. Mekanisme selanjutnya bahwa pelarut etanol akan menyusup menembus dinding membran tonoplast dan terjadi kontak fasa dengan senyawa aktif gaultherin. Pelarut polar tersebut akan mendifusi ke luar sel daun dengan membawa gaultherin. Hal ini disebabkan oleh perbedaan kelarutan.

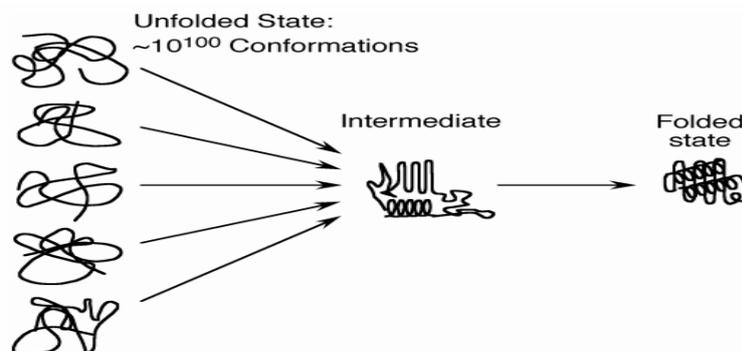


Gambar 2. Skema Penghancur dan Pengaduk pada bioekstraktor

Pada kondisi optimum, enzim akan mengalami proses folding (Gambar 4). Proses terbentuknya susunan folding pada enzim merupakan proses spontan yang terjadi dalam hitungan detik (Bugg, 2004). Oleh karenanya, jika enzim gaultherase berada dalam keadaan folding, dan juga terjadi kerusakan pada membran tonoplast, mengakibatkan enzim tersebut mengkatalisis reaksi hidrolisa senyawa gaultherin menjadi metil salisilat. Hal ini menyebabkan perolehan senyawa aktif gaultherin relatif rendah.



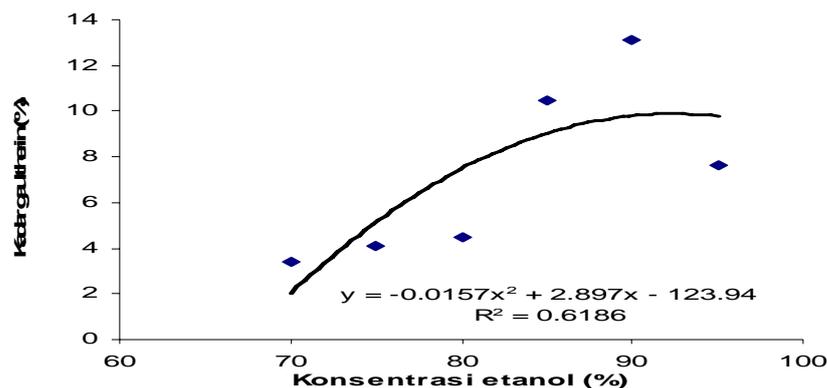
Gambar 3. Sel daun Gandapura



Gambar 4. Proses Folding

Pengaruh Konsentrasi Pelarut Bioekstraksi Inaktivasi Enzim Gaultherase

Gambar 5 menyajikan grafik hubungan antara konsentrasi etanol terhadap kadar gaultherin. Semakin besar konsentrasi pelarut, gaultherin yang terekstrak semakin meningkat. Hal ini terjadi karena memperbesar konsentrasi pelarut berarti memperbesar fasa kontinyu, akibatnya fraksi volum fasa cair yang terdispersi semakin kecil dan diameter partikel juga mengecil. Dengan mengecilnya diameter partikel, maka akan memperluas kontak antar fasa yang disebabkan semakin meningkatnya solut yang terseret dalam fasa pelarut. Akan tetapi, peningkatan konsentrasi senyawa polar lebih lanjut menyebabkan perolehan senyawa aktif gaultherin menurun. Hal ini dimungkinkan, pada konsentrasi etanol diatas 90%, menyebabkan sebagian diluen terikut ke fasa kontinyu karena terjadi peningkatan kelarutan. Produksi gaultherin yang relative baik tercapai pada konsentrasi etanol 90% dengan perolehan senyawa aktif sebesar 13,10%.



Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi etanol dengan kadar gaultherin

Kesimpulan

Hasil kajian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi pelarut, gaultherin yang terekstrak semakin meningkat. Produksi gaultherin yang relatif baik tercapai pada konsentrasi etanol 90% dengan perolehan senyawa aktif sebesar 13,10%.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT serta terimakasih yang sebesar-besarnya kepada DP2M DIKTI atas dukungan dana dalam kegiatan program PKMP tahun anggaran 2010.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1997. Wintergreen.
- Backer, C. A. dan R. C. Bakhsizen dan Den Brink J. R., 1965. Flora of Java (Spermatophytes), N.V. P.Noordhoff, Groningen. TheNetherland. 180-181.
- Hernani, 2004, » Gandapura : Pengolahan, Fitokimia, Minyak Atsiri dan Daya Herbisida » Buletin TRO Vol XV No 2 , Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Penelitian.
- Miliszkiez, D; P. Wiczorek; B. Lejezak; E. Kowalik and P. Kafarski, 1992. Herbicidal activity of phosphonic and analogues and aspartic acid. Pestic.Sci. 34 : 349 - 354.
- Poulev, J. M. O'Neal, S. Logendra, R. B. Pouleva, V. Timeva, A. S. Garvey, D. Gleba, I. S. Jenkins, B. T. Halpern, R. Kneer, G. M. Cragg, and I. Raskin. Elicitation, a new window into plant chemodiversity and phytochemical drug discovery. J. Med. Chem., Vol. 46, [2542 - 2547](#), 2003.
- Ribnicky and Poulev, 2003, « The determination of Salicylates in Gaultheria P for Use as a Natural Aspirin Alternative » Journal of Nutraceuticals, Functional and Medical Food , Hawthorth Press Inc.
- Endah L.,Tandang P., Devita H.,2010,"Pengembangan Bioekstraktor Inaktivasi Enzim Gaultherase Untuk Produksi Gaultherin dari Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*)", Laporan Program Kreativitas Mahasiswa DP2M DIKTI