

OPTIMALISASI PEROKSIDASE DARI BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola*) UNTUK DEGRADASI SENYAWA FENOL

Ni Made Ratna Dwiyanthi¹, Made Vivi Oviantari², I Putu Parwata³

¹Jurusan Analis Kimia FMIPA Universitas Pendidikan Ganesha

²Jurusan Analis Kimia FMIPA Universitas Pendidikan Ganesha

³Jurusan Analis Kimia FMIPA Universitas Pendidikan Ganesha

e-mail: iputuparwata@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pH dan suhu optimal yang diperlukan oleh ekstrak peroksidase dari buah belimbing manis dalam mengkatalisis reaksi degradasi senyawa fenol. Subjek penelitian ini adalah peroksidase yang diisolasi dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola*) yang sudah matang, sedangkan objek penelitian adalah pH dan suhu optimum yang diperlukan oleh peroksidase dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola*) untuk mendegradasi fenol. Peroksidase diekstraksi dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola*) yang sudah matang menggunakan blender dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 120 menit. Ekstrak enzim kemudian diuji aktivitasnya dalam mendegradasi fenol pada variasi pH dan suhu. Pengukuran konsentrasi fenol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa degradasi senyawa fenol dengan biokatalisator peroksidase dari buah belimbing manis berlangsung optimum pada pH 5 dan suhu 65°C dengan nilai efisiensi 72,71%.

Kata kunci: peroksidase, buah belimbing manis, degradasi, fenol.

Abstract

*The purpose of this study is to determine the optimum pH and temperature required by the peroxidase extracted from star fruit to catalyse the degradation of phenolic compound. The subjects of this study were the peroxidase that isolated from mature star fruit (*Averrhoa carambola*), while the objects were the optimum pH and temperature required by the enzyme to degrade phenol. Peroxidase were extracted from mature star fruit (*Averrhoa carambola*) using blender and then centrifuge at 5000 rpm for 120 minutes. The enzyme extract was then tested on degradation of phenol at the variation of pH and temperature. Measurement of phenol concentration was performed using UV-Vis spectrophotometer. The result showed that the optimum degradation of phenolic compound by peroxidase extracted from star fruit lasted at pH 5 and temperature of 65°C with the efficiency of 72,71%*

Keywords: peroxidase, star fruit, degradation, phenol

Pendahuluan

Dewasa ini perkembangan industri di Indonesia cukup pesat. Perkembangan industri ini memberikan dampak positif dan dampak negatif bagi kehidupan manusia dan lingkungannya. Dampak negatifnya antara lain dihasilkannya produk samping berupa limbah padat dan cair yang berdampak terhadap makhluk hidup dan lingkungan sekitarnya. Limbah cair yang dihasilkan mengandung banyak senyawa organik yang berbahaya bagi tubuh. Salah satu

senyawa organik yang terdapat pada limbah cair industri seperti industri tekstil, petrokimia, farmasi dan industri kimia yaitu senyawa fenol (Rocha dkk, 2007).

Limbah yang mengandung fenol dapat mempengaruhi ekosistem perairan dan melalui berbagai aktivitas manusia, fenol dapat terakumulasi dalam tubuh dan menyebabkan gangguan pencernaan, kerusakan otak, paru-paru, ginjal, hati, pankreas, dan limpa (Isyuniarto et al., 2005).

*Corresponding author.

Konsentrasi fenol dalam limbah umumnya berada dalam kisaran 10–3000 mg/L (Shetty et al., 2007), sedangkan keberadaan senyawa fenol di lingkungan perairan yang masih dianggap aman, sesuai dengan KEP No. 51/MENLH/ 10/1995 tentang baku mutu kadar beban pencemaran maksimum air limbah, yakni 0,5 – 1,0 mg/L. Selain itu, nilai ambang batas fenol dalam baku air minum adalah 0.002 mg/L seperti yang dinyatakan oleh Badan Pengendalian Dampak Lingkungan (Bapedal) (Slamet et al., 2005).

Beberapa penelitian menggunakan cara kimia dan fisika untuk menghilangkan fenol. Secara kimia misalnya menggunakan radiasi sinar ultraviolet, teknik ultrasonik dengan atau tanpa katalis penggunaan ozon, fotokatalisis, serta reaksi Fenton. Metode-metode tersebut memiliki kelemahan antara lain biaya yang tinggi, adanya senyawa sampingan yang bersifat toksik, dan proses mineralisasi yang tidak sempurna sehingga pengolahan yang dilakukan kurang efektif. Untuk itu perlu diterapkan suatu metode yang lebih efektif untuk mengatasi kekurangan dari metode tersebut.

Degradasi enzimatik dipercaya dapat mengolah limbah fenol dengan bekerja secara selektif terhadap substrat tertentu, tidak menghasilkan reaksi samping sehingga ramah lingkungan, memiliki laju reaksi yang tinggi, range pH yang luas dan prosesnya lebih mudah dikontrol (Handayani, 2008).

Enzim yang dapat digunakan sebagai biokatalis pada degradasi senyawa fenol adalah peroksidase. Peroksidase terdapat pada tumbuhan, hewan dan mikroba. Salah satu tumbuhan yang mengandung peroksidase adalah belimbing manis (Laurenti dan Clemente, 2010). Belimbing manis merupakan tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia. Pemanfaatan buah belimbing sampai saat ini terbilang kurang efektif karena kurang diminati untuk konsumsi maupun pembuatan produk olahan lain. Untuk itu penelitian

ini memanfaatkan ekstrak buah belimbing manis sebagai sumber peroksidase untuk mendegradasi senyawa fenol

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama pH dan suhu. Enzim bekerja secara optimal pada pH dan suhu tertentu. Di bawah atau di atas nilai optimum tersebut, kerja enzim akan menurun. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pH dan suhu optimum yang diperlukan peroksidase dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola*) dalam mendegradasi fenol.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah belimbing manis, H₂O₂, NH₄OH, fenol, 4-aminoantipirin, larutan buffer universal pH 4; 5; 6; 7 dan 8, kalium ferisianida (K₃Fe(CN)₆), aquades, *aluminium foil*, *wrapping plastic*.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UVmini-1240), *sentrifuge* (Thermo Scientific SL 16R), neraca analitik (Kern ABj), kaca arloji, botol sampel, corong, spatula, pipet tetes, batang pengaduk, gelas kimia 50 mL (Pyrex), labu ukur 50 mL, 100mL dan 1000mL (Herma), *water bath* (Memmert), Erlenmeyer 100 mL (Schott Duran), pH meter (Schott Instrument Lab 850), pipet volumetri, pipet ukur, blender, kasa, gelas ukur dan pipet mikro.

Cara Kerja

Ekstraksi Peroksidase dari Buah Belimbing Manis

Sebanyak 50 g buah belimbing dihomogenkan dalam 50 mL larutan buffer universal (pH 7) pada suhu kamar, kemudian dihancurkan dengan blender agar didapatkan sari kasar. Homogenat disaring dengan kasa dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 120 menit. Hasil sentrifugasi dipisahkan dari endapannya menggunakan metode dekantasi.

Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak enzim kasar (*crude extract*).

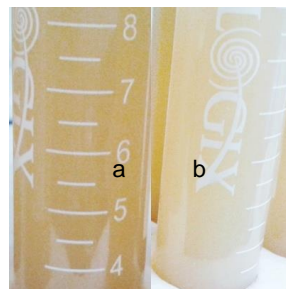
Uji Degradasi Fenol pada Variasi pH dan Suhu

Sebanyak 10 mL larutan fenol dengan konsentrasi 100 ppm dimasukkan ke dalam botol sampel. Preparasi larutan fenol pH 4 dilakukan dengan penambahan larutan HCl 0,01 M, kemudian ditambah dengan 1 mL larutan buffer pH 4 dan 10 mL larutan H₂O₂. Campuran ditambahkan dengan 2,5 mL ekstrak enzim sehingga konsentrasi sampel menjadi 35 ppm, kemudian diinkubasi selama 5 jam pada suhu kamar. Untuk kontrol negatif, ekstrak enzim ditambahkan setelah inkubasi selama 5 jam pada suhu kamar. Kadar fenol hasil degradasi diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Cara yang sama dilakukan

untuk perombakan pada pH 5, 6, 7, dan 8. Pengulangan dilakukan sebanyak dua kali. Variasi suhu menggunakan cara yang sama dengan pH optimum (pH 6) dan suhu inkubasi divariasikan, yaitu 55, 60, 65, 70, 75, 80, dan 85 °C.

Hasil dan Pembahasan Ekstraksi Peroksidase dari Buah Belimbing Manis

Hasil ekstraksi enzim ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1. diketahui bahwa ekstrak kasar yang telah disentrifugasi tampak lebih bening dibandingkan dengan ekstrak sebelum disentrifugasi yang berwarna oranye pekat. Perubahan warna tersebut dikarenakan adanya pengendapan residu-residu yang tidak diinginkan selama proses sentrifugasi pada bagian dasar tabung. Supernatan dipisahkan dari endapannya dengan metode dekantasi.

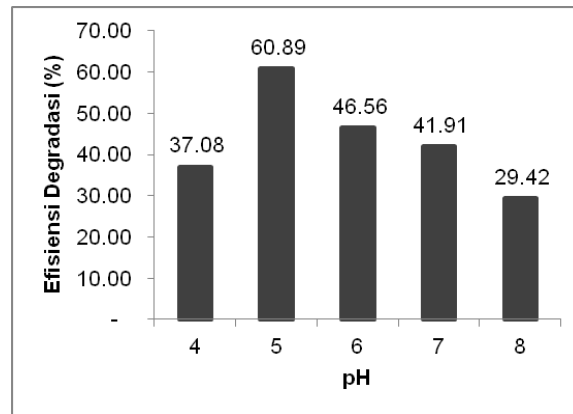


Gambar 1. Ekstrak Kasar Peroksidase Buah Belimbing Manis (a. Ekstrak Kasar Enzim Sebelum Sentrifugasi; b. Ekstrak Kasar Enzim Setelah Sentrifugasi)

Degradasi Fenol pada Variasi pH

Efisiensi degradasi fenol oleh ekstrak peroksidase buah belimbing manis pada variasi pH disajikan pada Gambar 2. Efisiensi degradasi fenol oleh peroksidase dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Enzim dapat bekerja secara optimal dalam kondisi yang optimal pula. Salah satu kondisi

lingkungan yang mempengaruhi kerja enzim adalah pH. Enzim bekerja pada kisaran pH tertentu dan pada pH tersebut keadaan ionisasi yang tepat terjadi pada sisi aktif enzim sehingga pengikatan substrat berlangsung efektif pada kecepatan optimum (Sadikin, 2002).



Gambar 2. Efisiensi Degradasi Fenol Oleh Peroksidase dari Buah Belimbing Manis pada Variasi pH

Berdasarkan hasil penelitian, pada pH 4 memiliki nilai efisiensi degradasi rendah, yaitu sebesar 37,08%. Pada pH 5 terjadi peningkatan nilai efisiensi yang cukup tajam, yaitu dengan nilai efisiensi 60,89%. Pada pH 6, 7, dan 8 nilai efisiensi berturut-turut menurun menjadi 46,56; 41,91; dan 29,42%.

Pada pH yang asam, seperti pH 4, aktivitas enzim menurun karena konsentrasi H^+ yang tinggi mempengaruhi muatan listrik enzim. Peroksidase merupakan enzim yang bersifat anion, sehingga mudah berikatan dengan H^+ . Pada kondisi yang terlalu asam, histidin akan terprotonasi oleh H^+ sehingga tidak dapat menerima proton dari peroksida (Azevedo dkk, 2003).

Pada pH 5 masih bersifat asam, namun bukan asam kuat. Pada pH ini, dengan konsentrasi ion H^+ yang lebih sedikit dibandingkan pada pH 4, pengaruhnya terhadap muatan listrik enzim juga berkurang sehingga enzim dapat mengikat dan mengkatalisis substrat lebih banyak.

Pada pH 6 dan 7, efisiensi degradasi mengalami penurunan secara teratur, namun masih cukup tinggi. Dalam tingkat keasaman ini, peroksidase masih dapat bekerja dengan baik dalam mengkatalisis proses degradasi fenol. Pada pH 8, terjadi penurunan efisiensi degradasi yang cukup tajam. Pada tingkat keasaman ini, enzim masih aktif bekerja mendegradasi fenol, namun degradasi terjadi dalam jumlah yang minimum.

Pada kondisi ini ion OH^- terdapat dalam jumlah yang berlebih dalam lingkungan. Histidin akan mengikat atom H dari ion OH^- dan besi heme mengikat atom O dari ion OH^- . Akibat dari pengikatan tersebut, terjadi kompetisi antara ion OH^- dengan substrat H_2O_2 pada sisi aktif enzim.

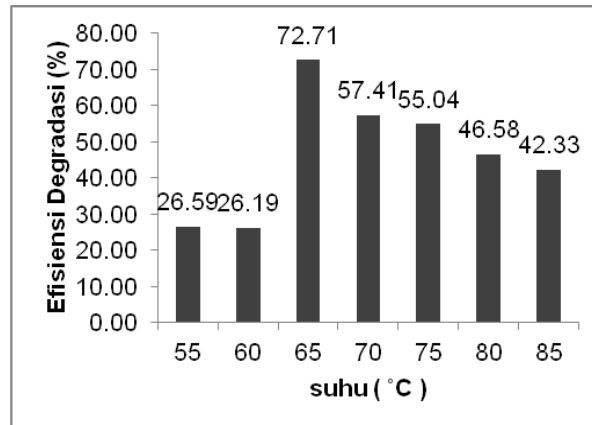
Berdasarkan hasil penelitian degradasi senyawa fenol menggunakan peroksidase dari buah belimbing manis, pH optimum yang didapatkan adalah pH 5. Hal ini sesuai dengan penelitian Laurenti dan Clemente (2010) mengenai karakteristik peroksidase dari buah belimbing manis yang memiliki rentang pH 4-7,5 sebagai rentang pH optimum. Penelitian (Handayani et al., 2008) dengan sumber peroksidase dari daun mangkakan mendapatkan pH optimum 7 dan penelitian oleh (Zulfahair et al., 2008) dengan sumber peroksidase dari kulit batang ubi kayu mendapatkan pH optimum untuk degradasi fenol yaitu pH 8. Perbedaan ini menunjukkan tingkat keasaman optimum peroksidase berbeda tergantung pada asal enzimnya (Hidayat, 1998).

Degradasi Fenol pada Variasi Suhu

Efisiensi degradasi fenol oleh ekstrak peroksidase buah belimbing manis pada variasi pH disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan Gambar 4, pada suhu 55 dan 60°C, nilai efisiensi degradasi masih rendah yakni dengan nilai berturut-turut sebesar 26,59 % dan 26,19 %. Nilai efisiensi mencapai titik tertinggi pada suhu 65°C yakni sebesar

72,71 %. Pada suhu 70, 75, 80, dan 85°C, nilai efisiensi berturut-turut

menurun dengan nilai 57,41 %, 55,04 %, 46,58 %, dan 42,33%.



Gambar 4. Efisiensi Degradasi Fenol oleh Peroksidase Buah Belimbing Manis pada Variasi Suhu

Peroksidase merupakan enzim yang bersifat termofilik yaitu memiliki ketahanan terhadap suhu tinggi dan aktif pada suhu tersebut. Pada suhu 55 dan 60°C, efisiensi degradasi cukup rendah. Pada suhu ini kinerja enzim berkurang, namun enzim tidak rusak hanya bentuknya masih kaku. Energi kinetik enzim dan substrat belum cukup untuk menyebabkan benturan pembentuk kompleks enzim-substrat (Zulfahair et al., 2008).

Kenaikan efisiensi degradasi hingga 46% terjadi pada suhu 65°C. Efisiensi pada suhu ini merupakan efisiensi tertinggi dengan energi kinetik enzim dan substrat mencapai nilai optimum (Handayani et al., 2008). Pada suhu 70 hingga 85°C, efisiensi enzim berkurang 15 sampai 30% dari suhu 65°C. Nilai efisien dan aktivitas enzim pada suhu-suhu tersebut cenderung stabil. Pada suhu ini, enzim mengalami inaktivasi sebagian, walaupun tidak sepenuhnya karena masih terdapat aktivitas enzim. Penurunan aktivitas terjadi karena penurunan pembentukan kompleks karena energi kinetik yang tinggi tidak dapat menyatukan substrat dan enzim secara tepat (Handayani et al., 2008).

Rentang suhu optimal untuk peroksidase diperkirakan antara 60°C hingga 85°C (Laurenti & Clemente,

2010). Pada penelitian ini suhu optimum degradasi fenol adalah 65°C Suhu ini merupakan batasan suhu tinggi yang dapat meningkatkan kerja peroksidase. Selain itu, peroksidase yang diperoleh dari ekstrak buah belimbing manis ini juga menghasilkan aktivitas yang cukup baik pada rentang suhu yang cukup lebar yaitu 65-85°C.

Suhu optimum yang tinggi yaitu 65°C menegaskan bahwa peroksidase merupakan golongan enzim termofilik. Hasil penelitian dari (Laurenti & Clemente, 2010) yang melaporkan bahwa aktivitas peroksidase dari buah belimbing manis dipengaruhi oleh waktu dan suhu lingkungan, secara umum mengalami penurunan sekitar 85% dari aktivitas enzimnya setelah 10 menit perlakuan termal pada suhu 85°C. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, penurunan aktivitas enzim pada suhu 85°C sekitar 58% dari aktivitas pada suhu optimal. Hal ini menunjukkan penelitian ini lebih unggul dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh (Laurenti & Clemente, 2010) dengan sumber enzim yang sama.

Simpulan dan Saran

Pada penelitian ini, degradasi senyawa fenol dengan biokatalisator peroksidase dari buah belimbing manis berlangsung optimum pada pH 5 dan

suhu 65°C dengan nilai efisiensi 72,71%.

Peneliti yang berminat untuk melakukan penelitian sejenis dapat melakukan pemurnian enzim lebih lanjut dan dapat menambahkan variasi konsentrasi, waktu kontak serta perbandingan konsentrasi fenol dan H₂O₂.

Daftar Pustaka

- Azevado, Ana M, Veronica C. Martins, Duarte M.F. Prazeres, Vojislav Vojinic, Joaquim M.S. Cabral dan Luis p. Fonsesa. 2003. Horseradish Peroxidase: A Valuable Tool in Biotechnology. *Biotechnology Annual Review*, Volume 9 (hlm 199-247)
- Handayani, Santi Nur, Zulfahair dan Fofika Diah Rizaeni. 2008. Penggunaan Enzim Peroksidase dari Daun Mangkokan untuk Penurunan Kadar Fenol. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi 2008. Universitas Negeri Jendral Soedirman. Purwokerto 13 Desember 2008.
- Isyuniarto, Widdi Usada, Agus Purwadi dan Suryadi. 2005. Degradasi Fenol Dalam Limbah Pengolahan Minyak Bumi dengan Ozon. Yogyakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Maju. ISSN 76:02163128.
- Laurenti, C and E. Clemente.2010. Some Properties of Peroxidase Extracted from Pulp of Star Fruit. Brazil : Laboratorio de Bioquimica de Alimentos.Brazil
- Rocha LL, de Aquir Cordeiro R, Cavalcante RM, do Nascimento RF, Martins SC, Santaella ST, dan Melo VM. 2007. Isolation and Characterization of Phenol-degrading Yeast from an Oil Refinery Wastewater in Brazil. *Mycophatologia* Volume 164 (hlm:183-188).
- Sadikin, M. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta : Widya Medika.
- Shetty KV, Kalifathulla I, Srinikethan G. 2007. Performance of Pulsed Plate Bioreactor for Biodegradation of Phenol. *J Hazard Mat* Volume 140 (hlm:346-352).
- Slamet, R. Arbianti dan Daryanto. 2005. Pengolahan Limbah Organik (Fenol) dan Logam Berat (Cr6+atau Pt4+) secara Simultan dengan Fotokatalisis TiO₂, ZnO-TiO₂, dan CdS-TiO₂. *Makara Teknologi*, Volume 9, No 2, November 2005. (hlm 66-71
- Yohan, Hidayat. 1998. Pemanfaatan Peroksidase dari Lobak Sebagai Katalis Untuk Penanganan Limbah Fenol dengan Hidrogen Peroksida. SKRIPSI (tidak diterbitkan). Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang.
- Zulfahair dan Santi Nur Handayani. 2008. Pemanfaatan Kulit Batang Ubi Kayu Sebagai Sumber Enzim Peroksidase Untuk Penurunan Kadar Fenol. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi 2008. Universitas Negeri Jendral Soedirman. Purwokerto 13 Desember 2008.