

PROSPEK ENZIM TANASE DALAM PENGEMBANGAN INDUSTRI DI INDONESIA

Yunita Arian Sani Anwar

Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Mataram
Email: rian_bik@yahoo.com

Abstrak : Tanase adalah enzim yang bekerja secara spesifik menguraikan tanin terhidrolisis membentuk asam galat dan glukosa. Enzim ini banyak dimanfaatkan baik di industri makanan maupun obat-obatan. Namun, di Indonesia aplikasi enzim ini belum banyak dilakukan karena harga enzim yang relatif mahal. Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati memiliki potensi yang besar untuk produksi enzim terutama tanase. Kajian mengenai teknologi produksi enzim diharapkan mampu mengembangkan industri enzim maupun industri lainnya di Indonesia.

Kata kunci: Enzim, Tanin Tanase

Abstract : Tanase is an enzyme that works specifically outlines tannins and gallic acid hydrolyzed to form glucose. This enzyme is widely used in both the food industry and medicine. However, in Indonesia, the application of this enzyme has not been done because the price is relatively expensive enzyme. Indonesia is rich in biodiversity has great potential for the production of enzymes, especially Tanase. The study of enzyme production technology is expected to develop industrial enzymes and other industries in Indonesia.

Keywords : Enzyme, Tannin, Tannase

1. PENDAHULUAN

Enzim merupakan senyawa kompleks yang tersusun dari banyak asam amino dengan keragaman bentuk, ukuran dan peranan. Di dalam sel, enzim berperan sebagai biokatalis pada reaksi-reaksi biokimia, mulai dari konversi energi, metabolisme nutrisi, pertumbuhan sel, komunikasi antar sel sampai konversi sifat keturunan. Enzim dapat dihasilkan dari semua sel hidup baik sel hewan, tumbuhan dan mikroba.

Tanase merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis tanin. Tanin merupakan senyawa alami yang memiliki kemampuan mengendapkan protein. Kemampuan tanin mengendapkan protein menimbulkan beberapa permasalahan yaitu tanin dapat membentuk kompleks dengan enzim pencernaan sehingga mengganggu proses pencernaan pakan yang berakibat pada terhambatnya pertumbuhan ternak [1]. Selain itu, kehadiran tanin dapat menimbulkan rasa sepat di lidah sehingga beberapa buah dengan kandungan tanin yang tinggi, hasil olahannya kurang disukai konsumen [2].

Tanase secara khusus memutuskan ikatan galoil pada tanin terhidrolisis untuk menghasilkan asam galat dan glukosa, tetapi tidak dapat mengkatalis reaksi pemutusan heksahidroksifenil. Selain itu, tanase juga memiliki kemampuan mengkatalis reaksi hidrolisis tanin terkondensasi untuk menghasilkan senyawa flavonoid [3]. Tanase memiliki dua aktivitas yang terpisah yaitu aktivitas esterase dan depsidase. Aktivitas esterase adalah kemampuan tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis galoil ester yang terikat pada molekul glukosa atau alkil.

Sedangkan aktivitas depsidase adalah aktivitas tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis ikatan antara dua residu galoil [4].

Umumnya tanase merupakan glikoprotein dengan bobot molekul berkisar antara 165-310 kDa, aktif pada pH 5,0-6,0 dengan suhu 30-40 °C. Pada suhu 60 °C dan pH 3,5-8 tanase masih tetap stabil [5, 6].

2. PEMBAHASAN

Tanin dan Enzim Tanase

Tanin merupakan senyawa polifenol yang mampu mengendapkan protein dan polisakarida. Keberadaannya di tanaman berfungsi untuk pertahanan diri tanaman dari serangan bakteri, fungi, virus, insekt herbivora dan vertebrata herbivora. Selain itu, tanin dapat menjaga simpanan nutrien di dalam tanah untuk periode vegetasi dari tumbuhan [7].

Tanin secara umum dibedakan menjadi dua yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi [8]. Tanin terhidrolisis merupakan kompleks ester asam galat dengan glukosa yang memiliki bobot molekul rendah [9]. Tanin terkondensasi memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan tanin terhidrolisis. Selain itu, jumlahnya lebih banyak terdapat dalam tanaman [10]. Kehadiran tanin menimbulkan beberapa permasalahan pada pengolahan beberapa produk makanan. Tanin terkondensasi di laporkan dapat menghambat kerja enzim

pepsin dan kimotripsi [11]. Hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membentuk kompleks dengan karbohidrat, protein dan enzim [7].

Enzim tanase merupakan katalis yang dapat memutuskan ikatan ester tanin terhidrolisis membentuk glukosa dan ester [3]. Enzim ini secara luas digunakan untuk menurunkan kandungan tanin baik pada industri makanan maupun industri obat-obatan.

Produksi Tanase

Sejumlah mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan khamir diketahui dapat memproduksi tanase. Spesies yang berasal dari genus *Aspergillus* dan *Penicillium* dilaporkan memiliki kemampuan yang paling baik untuk memproduksi enzim ini [12]. Contoh mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan tanase disajikan pada Tabel 1 [13].

Beberapa jenis bakteri dilaporkan mampu menghasilkan tanase secara ekstraselular. Penelitian Osawa et al. [14] memproduksi tanase dari *Lactobacillus plancarum*, *Lactobacillus pentosus* dan *Lactobacillus paraplantarum*.

Jamur merupakan mikroorganisme yang paling sering digunakan untuk produksi tanase. Tanase dari *Aspergillus niger* telah diteliti oleh Pinto et al. [15] yaitu dari 30 galur *A. niger*, ternyata terdapat 4 galur yang dapat tumbuh dengan baik pada media asam tanat. Keempat galur tersebut galur 28, 3T5B8, 11T25A5 dan 11T53A9. Dari keempat galur tersebut, *A. niger* 11T25A5 merupakan galur dengan produksi tanase tertinggi ($67,5 \text{ Ug}^{-1}/72 \text{ jam fermentasi}$) sedangkan *A. niger* 28 diketahui sebagai galur dengan produksi tanase terendah ($26,3 \text{ Ug}^{-1}/72 \text{ jam fermentasi}$).

Tabel 1. Mikroorganisme penghasil tanase

Mikroorganisme		
Bakteri	Jamur	Yeast
<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida sp.</i>
<i>Bacillus pumilis</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Pichia spp.</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Corynebacterium sp.</i>	<i>Aspergillus japonicus</i>	
<i>Klebsiella planticola</i>	<i>Aspergillus foetidus</i>	
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	
<i>Selenomonas rum inatum</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Aspergillus aureus</i>	
<i>Lactobacillus plancarum</i>	<i>Aspergillus awamori</i>	
<i>Lactobacillus pentosus</i>	<i>Aspergillus fischeri</i>	
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	<i>Aspergillus rugulosus</i>	
	<i>Aspergillus terreus</i>	
	<i>Penicillium glabrum</i>	
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	
	<i>Penicillium digitatum</i>	
	<i>Penicillium acrellanum</i>	
	<i>Penicillium charlesii</i>	
	<i>Penicillium citrinum</i>	
	<i>Cryphonectria parasitica</i>	
	<i>Fusarium solani</i>	
	<i>Fusarium oxysporum</i>	
	<i>Trichoderma viride</i>	
	<i>Trichoderma hamatum</i>	
	<i>Trichoderma harzianum</i>	
	<i>Helicostylum sp.</i>	

Selain mikroorganisme, tanase dapat diekstrak dari tumbuhan seperti Terminalia chebula, Caesalpinia coriaria, Caesalpinia digyna, Quercus rubra dan Rhus typhina [13,16]. Tumbuhan Quercus rubra menghasilkan tanase dengan aktivitas rendah yaitu 1,4 pkat/mg [17].

Produksi enzim oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh komposisi dan kondisi fermentasinya. Selain itu, kehadiran substrat tertentu di dalam medium produksi dapat memicu mikroorganisme untuk mensekresi enzim yang diinginkan.

Terdapat dua jenis fermentasi untuk produksi enzim yaitu fermentasi media padat dan fermentasi media cair. Fermentasi media padat ditandai dengan tidak adanya air bebas dalam sistem tersebut sedangkan pada fermentasi media cair digunakan media cair yang substratnya terlarut atau terdispersi dalam cairan [18].

Nutrisi utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan beberapa mineral. Sumber karbon untuk pertumbuhan jamur dapat berupa senyawa-senyawa karbohidrat seperti glukosa, pati maupun karbohidrat yang lain [19]. Sumber nitrogen dibedakan atas sumber nitrogen anorganik dan organik. Sumber nitrogen anorganik basanya berasal dari garam-garam ammonia, garam-garam nitrat atau gas ammonia. Sedangkan sumber nitrogen organik antara lain *corn steep liquor* (CSL), ekstrak yeast dan limbah pengolahan kedelai [20].

Mineral adalah nutrient yang dibutuhkan oleh mikroorganisme selain karbon dan nitrogen. Beberapa

unsur diketahui memiliki peranan penting dalam pertumbuhan mikroorganisme. Unsur magnesium dan kalsium diketahui berfungsi untuk mengendapkan senyawa-senyawa kimia pengganggu sedangkan keberadaan unsur-unsur litium, natrium, kalium dan rubidium dalam media diketahui dapat merangsang pembentukan spora pada konsentrasi tertentu [21].

Sumber karbon yang biasanya digunakan pada produksi tanase adalah glukosa dan pati dengan tanin atau asam galat sebagai inducer. Komposisi media untuk produksi tanase juga bervariasi tergantung jenis fermentasi yang digunakan. Menurut Sanchez [22] dan Pinto et al. [15], contoh komposisi media untuk produksi tanase masing-masing untuk fermentasi media padat dan cair disajikan pada Tabel 2.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media padat untuk produksi tanase lebih baik dibandingkan media cair [23,24,25]. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor. Penggunaan fermentasi media padat dapat memberikan pemasukan oksigen sebesar 75% [26]. Pemasukan oksigen yang besar sebanding dengan pembentukan aerial miselium yang berlimpah. Pembentukan aerial miselium yang berlimpah dapat meningkatkan produksi enzim hidrolitik. Selain itu, stabilitas produk yang tinggi dan pengaruh represi katabolic yang lebih rendah menyebabkan produksi enzim tanase menjadi tinggi [24].

1.1 Prospek Tanase dalam Bidang Industri di Indonesia

Tabel 2. Komposisi media mikroorganisme penghasil tanase

Bahan	Komposisi (%)	
	Fermentasi media cair	Fermentasi media padat
Glukosa	7	-
NaNO ₃	0,3	-
KCl	0,05	-
Asam tanat	3	-
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,001	-
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,13	-
MgSO ₄ .3H ₂ O	0,35	0,1
Pati	-	5
Asam galat	-	4
NH ₄ NO ₃	-	0,5
NaCl	-	0,1

Tanase memiliki peranan yang penting di bidang industri baik industri makanan maupun obat-obatan. Pemanfaatan tanase pada industri makanan adalah dalam pembuatan jus, anggur, dan untuk mengurangi efek antinutrisi pada makanan ternak. Di Brazil, tanase dimanfaatkan untuk mengurangi rasa sepat yang ditimbulkan oleh adanya tanin pada jus buah jambu mete. Selain untuk mengurangi rasa sepat, tanase juga sekaligus berperan untuk penjernihan jus [15]. Tanase juga digunakan dalam pembuatan teh instan. Tanpa penambahan tanase, cream teh tidak larut dalam air dingin dan cenderung membentuk endapan jika ditambahkan pada teh [27].

Industri obat-obatan memanfaatkan tanase untuk menghasilkan asam galat [15]. Asam galat digunakan untuk mensintesis antibakteri trimetoprim, dan propel galat yang berperan sebagai antioksidan pada lemak, minyak dan minuman. Selain itu, enzim ini dapat juga digunakan sebagai pemutih gigi.

Di Indonesia penggunaan tanase dalam industry belum banyak dilakukan. Padahal beberapa limbah perkebunan dengan kandungan tanin yang tinggi, belum dimanfaatkan secara optimal. Sebagai contoh buah jambu mete setiap tahunnya hanya bersifat sebagai limbah yang menimbulkan pencemaran lingkungan yang cukup serius. pemanfaatan buah jambu mete dalam pembuatan sirup dan jus belum menunjukkan hasil yang optimal akibat rasa sepat yang ditimbulkan oleh kehadiran tanin. Begitu juga dengan kulit buah kakao yang selama ini diketahui memiliki kandungan tanin yang tinggi, belum dimanfaatkan secara optimal dan hanya bersifat sebagai limbah.

Meskipun potensi penggunaan enzim tanase cukup beragam tetapi masih menemukan beberapa kendala untuk memproduksinya. Kendala tersebut meliputi media produksi yang relatif mahal, tidak tersedianya strain mikroorganisme yang unggul dan kurangnya pengetahuan tentang teknologi produksi enzim. Seperti yang telah diungkapkan sebelumnya, produksi tanase membutuhkan suatu substrat yang mengandung tanin. Penggunaan tanin murni dalam produksi tanase skala besar membutuhkan biaya yang tidak sedikit. Meskipun beberapa penelitian telah menggunakan bubuk tanaman yang mengandung tanin untuk produksi tanase, aktivitas enzim yang dihasilkan masih relatif rendah dibandingkan dengan penggunaan tanin murni.

Indonesia sebagai Negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, merupakan sumber mikroorganisme maupun tanaman yang potensial untuk bioproses. Beberapa limbah dengan kadar tanin yang tinggi seperti kulit buah kakao berpotensi digunakan sebagai media produksi tanase. Melihat potensi bahan limbah dengan kadar tanin tinggi dan kekayaan sumber keanekaragaman hayati mikroorganisme di Indonesia, maka perlu dilakukan inovasi kearah industri enzim. Dengan demikian, kebutuhan enzim yang selama ini hanya bergantung dari impor dapat terpenuhi.

3. KESIMPULAN

Produksi enzim tanase dari mikroorganisme biasanya menggunakan isolate jamur. Jamur yang diketahui memiliki kemampuan paling baik untuk produksi tanase adalah jamur yang berasal dari genus *Aspergillus* dan *Penicillium*. Tanase dapat digunakan untuk pembuatan jus, anggur, teh instan, antibakteri, antioksidan dan pemutih gigi.

Agar kebutuhan enzim di Indonesia tidak bergantung pada impor, perlu dilakukan inovasi ke arah industry enzim khususnya tanase. Potensi bahan limbah dengan kadar tanin tinggi dan kekayaan sumber keanekaragaman hayati mikroorganisme dapat menunjang untuk pengembangan industri tanase di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Butler LG, Rogler JC. 1992. Biochemical Mechanisms of the Antinutritional Effects of Tannins. Di dalam: Ho CT, Lee CY, Huang MT, editor. *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence, and Chemistry*. Washington: American Chemical Society. hlm: 299-303.
- [2] Saragih YP, Haryadi Y. 2003. *Mete: Budidaya Jambu Mete, Pengupasan Gelondong*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [3] Seigler DS. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers.
- [4] Haslam E, Stangroom JE. 1966. The esterase and depsidase activities of tannase. *J Biochem* 99:28-31.
- [5] Sabu A, Kiran GS, Pandey A. 2005. Purification and characterization of tannin acyl hydrolase from *Aspergillus niger* ATCC 16620. *Food Technol Biotechnol* 43 (2):133-138.
- [6] Wright LP. 2005. *Biochemical Analysis for Identification of Quality in Black Tea (Camellia sinensis)*. South Africa: Departement of Biochemistry University of Pretoria.
- [7] Leinmüller E, Steingass H, Menke KH. 1991. Tannins in ruminant feedstuffs. *Animal Research and Development* 33:9-62.
- [8] Hagerman AE. 2002. Tannin Chemistry. <http://www.users.muohio.edu/hagermae/tanin.pdf>.
- [9] Taiz L, Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. Ed ke-3. Massachusetts: Sinawer Associated, Inc Publishers.
- [10] Cheeke PR, LR Shull. 1989. Tannins and Polyphenolic Compound. Di dalam: Cheeke PR, editor. *Natural Toxicant In feeds and Poisonous Plants*. USA: AVI Publishing Company.
- [11] Oh HI, Hoff JE. 1986. Effects of condensed grape tannins on the in vitro activity of digestive proteases and activation of their zymogens. *J Food Sci* 51 (3): 577-583.
- [12] Hamacher MS, Terzi SC, Couri S. 2001. Increase of tannase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. <http://>

- www.nrel.gov/ biotechsymp 25/docs/abst 3-68.doc
- [13] Albertse EH. 2002. Cloning, expression and characterization of tannase from *Aspergillus* species [Thesis]. South Africa: The Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of the Free State Bloemfontein South Africa.
- [14] Osawa R, Kuroiso K, Goto S, Shimizu A. 2000. Isolation of tannin-degrading *Lactobacilli* from humans and fermented foods. *Appl Environ Microbiol* 66(7):3093-3097.
- [15] Pinto GAS, Leite SGF, Terzi SC, Couri S. 2001. Selection of Tannase-Producing *Aspergillus niger* Strains. *Brazilian J Microbiol* 32:24-26.
- [16] Banerjee D, Mukherjee G, Patra KC. 2005. Microbial transformation of tannin rich substrate to gallic acid through co culture method. *Bioresource Technol* 96:949-953.
- [17] Niehaus JU, Gross GG. 1997. A gallotannin degrading esterase from leaves of pedunculate oak. *Phytochemistry* 45 (8):1555-1560.
- [18] Muchtadi D, Palupi NS, Astawan M. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. Bogor: PAU-IPB.
- [19] Ray B. 2000. *Fundamental Food Microbiology*. Ed ke-3. Boca Raton: CRC Press.
- [20] Solomons GL. 1969. *Material and Methods in Fermentation Technology*. New York: Academic Press.
- [21] Standbury PF, Whitaker A. 1984. *Principle and Fermentation Technology*. New York: Pergusson Press.
- [22] Sanchez HH. 2003. Optimization of *Aspergillus niger* tannase production using Taguchi methods. http://ift.confex.com/ift/2003/techprogram/paper_19929.htm
- [23] Lekha PK, Lonsane BK. 1994. Comparative titres, location and properties of tannin acyl hydrolase produced by *A. niger* PKL 104 in solid state, liquid surface and submerged fermentations. *Process Biochem* 29:497-503.
- [24] Aguilar CN, Augur C, Favale-Torres E, Viniegra-Gonzalez G. 2001. Production of tannase by *Aspergillus niger* Aa-20 in submerged and solid state fermentation: influence of glucose and tannic acid. *J Indust Microbiol Biotechnol* 25(5):296-302.
- [25] Anwar YAS, I Made Artika, Hasim. 2007. The production of Tannin Acyl Hydrolase from *Aspergillus niger*. *Mikrobiologi Indonesia* 1(2):
- [26] Rahardjo YSP, Weber FJ, Comte EP le, Tramper J, Rinzema A. 2002. Contribution of aerial hyphae of *Aspergillus oryzae* to respiration in a model solid state fermentation system. *Biotechnol Bioeng* 78:539-544.
- [27] Sanderson GW, Coggan P. 1977. Use of Enzymes in the Manufacture of Black Tea and Instant Tea. Di dalam: Ory RL, Angelo AJ, editor. *Enzymes in Food and Beverage Processing*. Washington DC: Americal Chemical Society. hlm: 12-23.