

ANALISIS VIRTUAL SCREENING SENYAWA ALAMI ANTI AGING KANDIDAT INHIBITOR KOMPLEK PROTEIN MMP1

Kartika Juliana¹, Mohamad Amin², Endang Suarsini²

¹ Pascasarjana, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5, Malang

²Jurusan Biologi, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang 5, Malang

E-mail: kartikajuliana89@gmail.com

Abstrak: Penuaan (*aging*) adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan secara perlahan-lahan untuk memperbaiki atau mengganti diri dan mempertahankan struktur, serta fungsi normalnya. Faktor yang mempengaruhi penuaan salah satunya berasal dari paparan sinar ultraviolet (UV). Radikal bebas yang terbentuk akibat dari sinar ultraviolet mengaktifkan *mitogenactivated protein kinase pathways* menghasilkan kolagenase matriks metaloproteinase (MMP-1) yang dapat menghancurkan kolagen, sehingga menyebabkan hilangnya kekuatan dan fleksibilitas kulit yang mengakibatkan kulit menjadi terlihat keriput. Berbagai upaya telah dilakukan untuk memperlambat proses penuaan salah satunya dengan memanfaatkan senyawa alami. *Virtual screening* adalah metode komputasi yang digunakan untuk menemukan senyawa kandidat struktur desain obat dan pemodelan molekul melalui proses *screening* terhadap sebuah database senyawa kimia. Tujuan penelitian ini untuk memperoleh profil senyawa alami kandidat inhibitor MMP 1 sebagai *anti aging* melalui *virtual screening*. Metode penelitian ini menggunakan *webserver* dan *software*. Pemilihan dan Koleksi Struktur 3D Protein MMP1 dan Ligan (*webserver* Uniprot dan PDB), Validasi struktur 3D protein MMP1 (SAVES *webserver*), *Virtual screening* (*webserver* I-Dock dan *MTiOpenScreen* serta *software* *Pyrx 0,8*) Visualisasi 2D dan 3D hasil docking (*software* *Pymol*, dan *LigPlus*). Hasil dari penelitian melalui metode *virtual screening* didapatkan senyawa ZINC03947432 (Luteolin 7-galactoside). Senyawa Luteolin 7-galactoside termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid.

Kata Kunci: *Virtual screening*, Senyawa alami, *Anti aging*, MMP1

PENDAHULUAN

Penuaan (*aging*) adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan secara perlahan-lahan untuk memperbaiki atau mengganti diri dan mempertahankan struktur, serta fungsi normalnya (Yaar dan Gilchrist, 2007). Kulit merupakan jaringan yang paling nyata terlihat dari proses penuaan (Ndlovu, *et al.*, 2013; Chung, *et al.*, 2004). Penuaan kulit dapat disebabkan oleh (1) faktor ekstrinsik, seperti paparan sinar ultraviolet (UV), asap rokok, dan polusi udara dan (2) faktor intrinsik, seperti genetik, ras, dan hormonal (Ichihashi, 2009; Jusuf, 2005).

Mekanisme ikatan spektrum cahaya matahari dapat menimbulkan *photoaging* pada manusia. Sinar UV merangsang MMPs (*matriks metalloproteinases*) yang berperan dalam *photoaging* menghasilkan kolagenase (MMP-1) yang dapat menghancurkan kolagen (Kim, 2010; Baumann, 2009; Xia, *et al.*, 2013; Quan, *et al.*, 2009; Raitio, 2005). Sinar UV dapat dengan cepat mengaktifkan *activator protein-1* (AP-1) mengikat DNA dan menginduksi MMP, termasuk MMP-1 (Kolagenase), stromelysin (MMP-3), dan gelatinase (MMP- 9) (Kim, *et al.*, 2005).

Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, proses penuaan dapat diperlambat atau dicegah (Pangkahila, 2013). Penggunaan senyawa alami yang memiliki aktivitas *anti aging* merupakan sumber daya yang masih sangat potensial untuk dikembangkan mengingat bahwa Indonesia merupakan salah satu negara megabiodiversitas dunia maka sumber daya alam Indonesia memiliki potensi yang sangat besar sebagai sumber senyawa alami *anti aging*. Beberapa jenis tanaman telah diketahui khasiatnya sebagai sumber senyawa *anti aging* diantaranya bengkoang, mentimun, teh hijau, dan masih banyak tanaman lainnya yang berpotensi sebagai *anti aging* (Mukherjee, 2011).

Virtual screening adalah metode komputasi yang digunakan untuk menemukan senyawa kandidat struktur desain obat dan pemodelan molekul melalui proses *screening* terhadap sebuah database senyawa kimia. *Virtual screening* digunakan untuk menyeleksi puluhan, ratusan, ribuan, atau bahkan jutaan senyawa secara komputasi

untuk menemukan beberapa senyawa yang paling berpotensi mengikat protein target tertentu (Vyas, *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh profil senyawa alami kandidat inhibitor MMP 1 sebagai *anti aging* melalui *virtual screening*.

METODE PENELITIAN

a. Pemilihan dan Koleksi Struktur 3 Dimensi (3D) Protein MMP 1

Struktur 3D protein MMP 1 yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari UniProt dengan *entry code* 2TCL. Struktur 3D 2TCL diunduh dari database protein data bank (*The RCSB PDB*) (<http://www.rcsb.org>) dalam bentuk *PDB file*.

b. Validasi struktur 3 Dimensi (3D) protein MMP 1

Validasi struktur 3D protein MMP 1 menggunakan SAVES *webservice*. SAVES *webservice* (<http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/>) terdiri atas 6 program, yaitu PROCHECK, WHATCHECK, ERRAT, VERIFY 3D, PROVE dan Ramachandran Plot.

c. Virtual Screening

Virtual screening (VS) yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan I-Dock *webservice* (<http://istar.cse.cuhk.edu.hk/idock/>), MTiOpenScreen *webservice* (<http://mobyli.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen>) dan *software* Pyrx 0,8. Senyawa yang digunakan I-Dock sebagai *ligand library* berasal dari ZINC *database*. MTiOpenScreen *webservice* menggunakan *database* yang telah disediakan dalam MTiOpenScreen *webservice* (IPPI-lib dan Diverse-lib), serta beberapa *database* senyawa alami yang berasal dari ZINC *database* (<https://zinc.docking.org/browse/catalogs/natural-products>), seperti *AfroDb*, Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism, *Herbal Ingredients Targets*, *Indofine*, *NPACT database*, *Nubbe database*, *Specs database*, dan *UEFS database* sebagai *database* senyawa alami. Selanjutnya melakukan *molecular docking* menggunakan *software pyrx* 0.8 untuk mengetahui *binding affinity* setiap senyawa alami yang diperoleh dari hasil I-Dock dan *MtiOpenScreen*.

d. Visualisasi 2 Dimensi (2D) dan 3 dimensi (3D) Interaksi MMP1 dan Senyawa Alami Kandidat Inhibitor

Visualisasi interaksi MMP1 dan inhibitor kontrol serta senyawa alami kandidat inhibitor menggunakan *software* PyMol dan LigPlot. Senyawa alami kandidat inhibitor yang digunakan merupakan dua puluh senyawa alami hasil *virtual screening* menggunakan *software pyrx* 0.8 yang terpilih berdasarkan *binding affinity* yang paling negatif dari masing senyawa alami.

HASIL DAN PEMBAHASAN

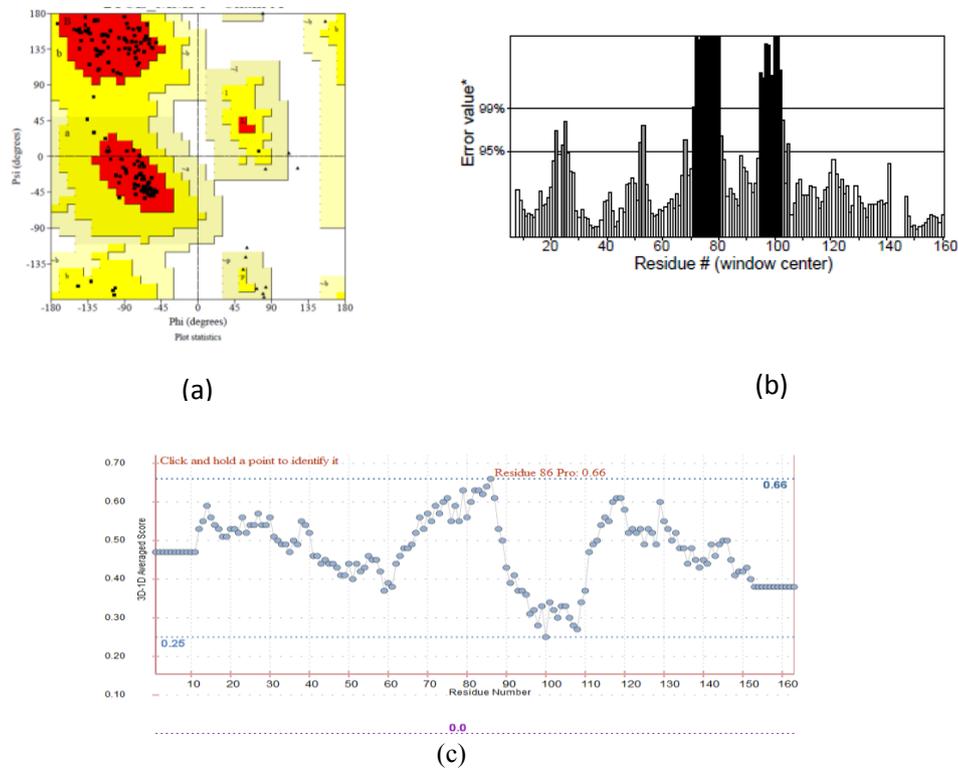
Berdasarkan pemilihan dan koleksi struktur 3D protein MMP1 diperoleh *entry code* 2TCL yang merupakan kompleks protein MMP1 manusia yang telah berikatan dengan inhibitor RO4 (kontrol). Kompleks tersebut diperoleh dengan cara difraksi *X-ray* dengan resolusi 2,20 Å dan *ligand binding* antara asam amino 101-206. List residu asam amino yang terletak di sisi aktif enzim MMP1 yang digunakan dalam MTiOpenScreen *webservice*, yaitu HIS 218, HIS 222, HIS 228 (Roberto, 2009) dan Glu 219 (<http://www.uniprot.org/uniprot/P03956>).

Model 3D MMP1 yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan hasil dari SAVES *webservice* memiliki kualitas yang baik karena memiliki 91,2% residu di daerah yang disukai (*residues in most favoured region*) dan tidak ada residu yang berada di daerah yang dianulir (*residues in disallowed regions*) (Gambar 1a), keseluruhan faktor kualitas errat 91%, (Gambar 1b) dan lulus *verify 3D threshold* dengan skor 0,68 (Gambar 1c). Hasil yang didapatkan dari I-Dock *webservice* dan *MTiOpenScreen webservice* terpilih 10 senyawa teratas berdasarkan kenegatifan *energy* dari masing-masing senyawa kandidat yang selanjutnya digunakan untuk melakukan *molecular docking* menggunakan *software pyrx* 0.8. Hasil *molecular docking* yang didapatkan dari *software pyrx* 0,8 adalah 20 senyawa teratas yang terpilih berdasarkan *binding affinity* yang paling negatif dari masing senyawa alami. (Data tidak ditampilkan).

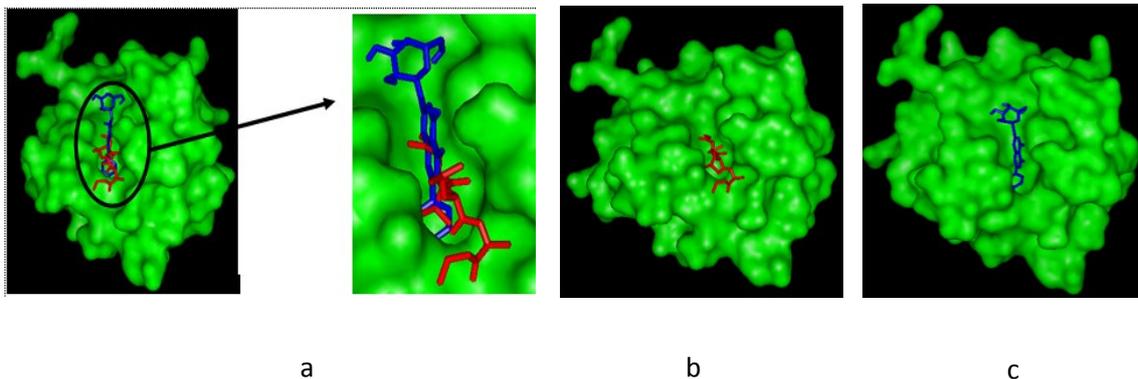
Berdasarkan hasil *virtual screening* antara MMP1 dengan senyawa-senyawa yang diperoleh dari hasil I-Dock *webserver* dan *MTiOpenScreen webserver* menggunakan *software pyrx 0.8* bahwa ZINC03947432 memiliki nilai *binding affinity* sebesar (-10). Hasil visualisasi *molecular docking* dengan menggunakan *software PyMol* diketahui bahwa senyawa kandidat ZINC03947432 dan RO4 berikatan dengan MMP1 pada *site* yang sama (Gambar 2a; Gambar 2b; Gambar 2c). Hasil visualisasi interaksi antara MMP1 dengan RO4 (inhibitor kontrol) menggunakan *software LigPlot* diketahui bahwa MMP 1 berinteraksi dengan RO4 melalui ikatan hidrogen Gly 79, Leu 81, Ala 82, His 118, Glu 119, His122, His 128, Pro 138, Tyr 140 dan interaksi hidrofobik Asn 80, Tyr 110, Tyr 137, Ser 139 (Gambar 2d).

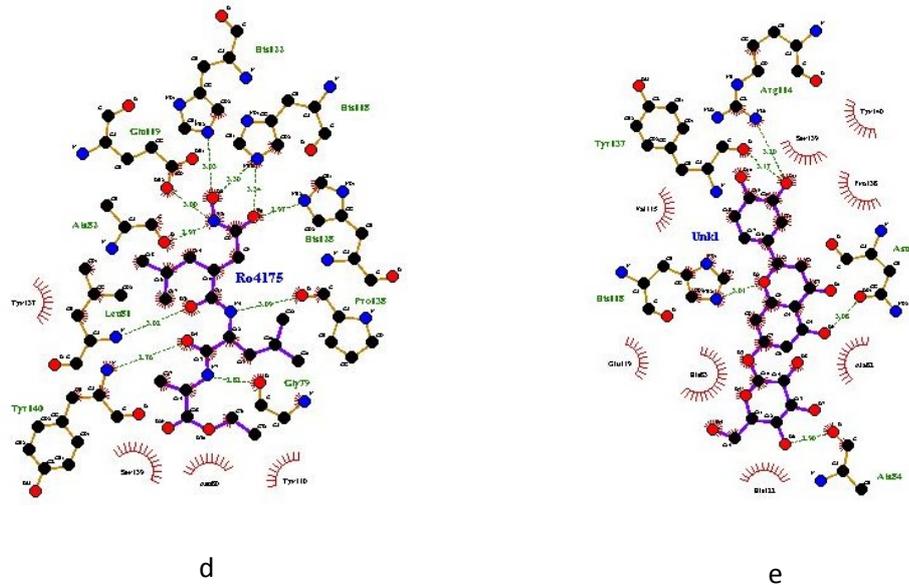
Hasil visualisasi interaksi antara MMP1 dengan ZINC03947432 (kandidat inhibitor) menggunakan *software LigPlot* diketahui bahwa MMP 1 berinteraksi dengan ZINC03947432 melalui ikatan hidrogen Asn 80, Ala 84, Arg 114, His 118, Tyr 137 dan interaksi hidrofobik Ala 82, His 83, Val 115, Glu 119, His122, Pro 138, Ser 139, Tyr 140 (Gambar 2e).

Ditinjau dari afinitas pengikatan dan interaksi antar molekul ZINC03947432 memiliki potensi sebagai kandidat inhibitor MMP1 dalam proses *aging*. ZINC03947432 merupakan kode senyawa alami untuk Luteolin 7-galactoside (<http://zinc.docking.org/substance/ZINC03947432>). Untuk struktur 2 dimensi Luteolin 7-galactoside dapat dilihat pada Gambar 3.

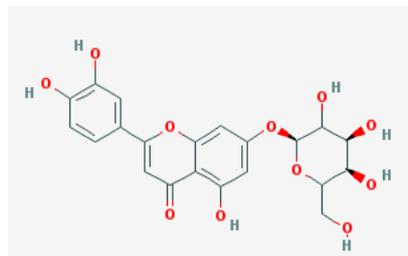


Gambar 1. SAVES *webserver* output. (a) Ramachandran Plot; (b) ERRAT; (c) Verify 3D.





Gambar 2. (a) Site pengikatan ZINC03947432 (Biru) dan RO4 (Merah) dengan MMP1 (Hijau) divisualisasikan dengan *software* PyMol, (b) Interaksi MMP 1 dan RO4 divisualisasikan dengan *software* PyMol. (c) Interaksi MMP 1 dan ZINC03947432 divisualisasikan dengan *software* PyMol dalam tampilan *surface*. (d) Interaksi MMP 1 dan RO4 divisualisasikan dengan *software* LigPlus, (e) Interaksi MMP 1 dan ZINC03947432 divisualisasikan dengan *software* LigPlus.



Gambar 3. Struktur 2 dimensi Luteolin 7-galactoside diperoleh dari PubChem *database* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44258067#section=Top>).

SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Berdasarkan afinitas pengikatan dan interaksi antar molekul ZINC03947432 memiliki potensi sebagai kandidat inhibitor MMP1 dalam proses *aging*. ZINC03947432 merupakan kode senyawa alami untuk luteolin 7-galactoside. Selain itu, penting dilakukan penelitian berbasis *in vitro* dan *in vivo* untuk membuktikan bahwa luteolin 7-galactoside berpotensi sebagai inhibitor MMP1 manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Baumann, L. and Saghari, S. 2009. Basic Science of the Epidermis. In : Baumann, L., Saghari, S., Weisberg, e., editors. *Cosmetic Dermatology Principles and Practice*. Second Edition. USA: The McGraw-Hill Companies. pp. 3-7..
- Chung, J.H., Cho, S. and Kang, S. 2004. Why Does the Skin Age? *Intrinsic Aging, Photoaging and Their Pathophysiology* (Chapter 1). in: Rigel, D.S., Weiss, R.A., Lim, H.W., Dover, J.S. editors. *Photoaging*. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 1-23.
- <http://istar.cse.cuhk.edu.hk/idock/>
- <http://mobyle.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen>
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44258067#section=Top>.

- <http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/>
<http://www.rcsb.org>
<http://www.uniprot.org/uniprot/P03956>
<http://zinc.docking.org/substance/ZINC03947432>
<https://zinc.docking.org/browse/catalogs/natural-products>
- Ichihashi, Masamitsu. 2009. Photoaging of The Skin. *JAAM Anti-Aging Medicine* 6 (6). pp. 46-59.
- Jusuf, Nelva K. 2005. Kulit Menua. *Majalah Kedokteran Nusantara*, Vol. 38. No. 2.
- Kim, Bae-Hwan. 2010. Safety Evaluation and Anti-Wrinkle Effects of Retinoids On Skin. *Toxicol. Res.* Vol. 26, No. 1, pp. 61-66.
- Kim, Hyeon Ho., Shin, C.M., Park, Chi-Hyun., Kim, K.H., Cho, K.H., Eun, H.C. Chung, Jin Ho. 2005. Eicosapentaenoic Acid Inhibits UV-Induced MMP-1 Expression in Human Dermal Fibroblas. *Journal of Lipid Research*, Vol 46, pp. 1712-1719.
- Mukherjee, Pulok K., Maity, Niladri, Nema, Neelesh K., Sarkar, Birendra K. 2011. Bioactive Conpounds From Natural Resources Againts Skin Aging. *Phytomedicine*, 19 (2011), pp. 64-73.
- Ndlovu, Gugulethu., Gerda, F., Malefa, T., Werner, C.,and Vanessa, S. 2013. In vitro determination of the anti-aging potential of four southern African medicinal plants. *BMC Complementary and Alternatve Medicine* (2013) 13:304.
- Pangkahila, J.Alex. 2013. Pengaturan Pola Hidup Dan Aktivitas Fisik Meningkatkan Umur Harapan Hidup. *Sport and Fitness Journal*, Vol. 1, No. 1 : 1 – 7, ISSN : 2302-688X.
- Quan, Taihao, Zhaoping Qin, Wei Xia, Yuan Shao, John J. Voorhees, and Gary J. Fisher. 2009. Matrix-degrading Metalloproteinases in Photoaging. *J Investig Dermatol Symp Proc.* (2009) 14(1), pp. 20–24.
- Raitio, Anina. 2005. *Comparison of the Appearance, Physical Qualities, Morphology, Collagen Synthesis & Extracellular Matrix Turnover of Skin in Smokers and Non-smokers.* Smoking and Skin. Finland: Oulu University Press.
- Roberto,S. 2009. Inhibitors of human collagenase, MMP1. *Ecl. Quím., São Paulo*, 34(4), pp. 87 – 102.
- Vyas, Vivek, Jain, Anurekha, Jain, Avijet, & Gupta, Arun. 2008. Virtual Screening: A Fast Tool for Drug Design. *Sci Pharm.* 76: 333–360.
- Xia, Wei., Craig Hammerberg., Yong Li, Tianyuan He, Taihao., Quan, John J. Voorhees and Gary J. Fisher. 2013. Expression of catalytically active matrix metalloproteinase-1 in dermal fibroblasts induces collagen fragmentation and functional alterations that resemble aged human skin. *Aging Cell* (2013) 12, pp. 661–671.
- Yaar, M & Gilchrest, BA 2007, Photoaging : Mechanism, Prevention and Therapy. *British Journal of Dermatology*, Vol. 157,pp. 874-87.

PENGARUH VARIASI MACAM GULA DALAM BEBERAPA KONSENTRASI TERHADAP KUALITAS NATA DE NIRA SIWALAN (*Borassus flabelliver* L.) PAMEKASAN MADURA

Chandra Kirana¹, Utami Sri Hastuti², Endang Suarsini²

¹Staf Pengajar Biologi MAN Pamekasan, Jl. Wahid Hasyim 28 Pamekasan

²Staf Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No 5

E-mail : qirana_0344@yahoo.com

Abstrak

Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) tersebar luas di Kabupaten Pamekasan salah satunya di desa Kertagenah Laok Kecamatan Kadur. Potensi siwalan yang melimpah dapat dikembangkan menjadi produk yang lebih bermanfaat dan bernilai ekonomi tinggi salah satunya adalah dalam pembuatan nata de nira siwalan. Kualitas nata dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah macam gula dan konsentrasi. Penelitian ini bertujuan menguji pengaruh variasi macam dan konsentrasi gula terhadap kualitas nata ditinjau dari kadar serat. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Nira siwalan diperoleh dari penghasil nira di desa Kertagenah Laok Kecamatan Kadur Kabupaten Pamekasan Madura. Pembuatan nata dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang sedangkan pengujian kadar serat dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Prosedur penelitian meliputi: (1) perbanyak starter; (2) pembuatan nata de nira siwalan; (3) penentuan kadar serat nata de nira siwalan. Analisis data yang digunakan adalah Analisis Varians (ANOVA) ganda yang dilanjutkan dengan uji DMRT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa : (1) jenis gula berpengaruh signifikan terhadap kadar serat nata de nira siwalan; (2) konsentrasi gula berpengaruh signifikan terhadap kadar serat nata de nira siwalan; serta (3) ada pengaruh interaksi jenis dan konsentrasi gula terhadap kadar serat nata de nira siwalan.

Kata kunci : nata de nira siwalan, *Borassus flabelliver*, kualitas nata, kadar serat, gula

PENDAHULUAN

Salah satu potensi lokal Kabupaten Pamekasan adalah siwalan. Pohon siwalan (*Borassus flabellifer* L.) merupakan tanaman multiguna yang banyak tumbuh dan tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia antara lain Jawa, Madura, Bali, dan Nusa Tenggara (Nuroniah, 2010). Tanaman siwalan dikenal karena menghasilkan sari gula atau lebih dikenal dengan nira, yaitu cairan yang disadap dari tongkol bunga siwalan. Nira yang telah disadap bisa diminum dalam keadaan segar dan bisa dimasak agar lebih awet. Nira mentah harus segera dimasak karena apabila tidak segera dimasak maka nira akan berubah menjadi minuman tuak atau menjadi asam cuka. Upaya lain untuk mengawetkan nira siwalan adalah dimasak menjadi gula siwalan.

Pohon siwalan tersebar luas di Kabupaten Pamekasan, salah satunya di desa Kertagenah Laok Kecamatan Kadur. Hasil observasi menunjukkan bahwa masyarakat sekitar memanfaatkan nira untuk dijual sebagai minuman segar dan bahan baku pembuatan gula siwalan. Potensi nira siwalan yang cukup besar tersebut masih dapat dikembangkan menjadi produk yang memiliki nilai guna dan nilai manfaat yang tinggi. Pengembangan produk dan pengolahan siwalan memerlukan teknologi yang tepat guna. Salah satu produk yang dapat dikembangkan dari nira siwalan adalah nata de nira siwalan.

Nata berasal dari bahasa Spanyol yang dalam bahasa Inggris berarti *cream*, sehingga nata de coco kemudian diartikan sebagai krim dari air kelapa (Sutarminingsih, 2004). Nata dibentuk oleh bakteri asam asetat *Acetobacter xylinum* dari substrat air kelapa, santan kelapa, tetes tebu, limbah cair tahu atau sari buah. Bakteri nata merupakan bakteri Gram negatif, aerob, berbentuk batang pendek atau kokus (Nainggolan, 2009).

Bakteri *Acetobacter xylinum* akan dapat membentuk nata jika ditumbuhkan dalam air kelapa yang sudah diperkaya dengan karbon (C) dan nitrogen (N) melalui proses yang terkontrol. Bakteri ini akan menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menyusun zat gula menjadi ribuan rantai serat atau selulosa, dari jutaan jasad renik yang tumbuh dalam air kelapa tersebut akan dihasilkan jutaan lembar benang-benang selulosa yang akhirnya terlihat padat berwarna putih hingga transparan yang disebut nata (Wahyudi, 2007; Budiarti, 2008).

Adanya gula sukrosa dalam air kelapa atau bahan lain akan dimanfaatkan oleh *Acetobacter xylinum* sebagai sumber energi, maupun sumber karbon untuk membentuk senyawa metabolit diantaranya adalah selulosa yang nantinya membentuk lapisan nata. Adanya senyawa peningkat pertumbuhan mikroba (*growth promoting factor*) akan meningkatkan aktifitas enzim dalam metabolisme sel bakteri *Acetobacter xylinum* untuk menghasilkan selulosa. Salah satu faktor pendukung pertumbuhan dan aktifitas bakteri *Acetobacter xylinum* adalah sumber nitrogen. Sumber nitrogen yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan aktifitas bakteri nata dapat berasal dari nitrogen organik, seperti misalnya protein dan ragi roti, maupun nitrogen anorganik seperti misalnya ammonium fosfat, urea, dan ammonium sulfat (Nainggolan, 2009).

Tujuan penelitian ini antara lain: (1) menganalisis pengaruh macam gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat; (2) menganalisis pengaruh konsentrasi macam gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat; serta (3) menganalisis pengaruh interaksi macam dan konsentrasi gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat. Hipotesis penelitian yang diajukan yaitu: (1) ada pengaruh macam gula terhadap kadar serat nata de nira siwalan; (2) ada pengaruh konsentrasi gula terhadap kadar serat nata de nira siwalan; serta (3) ada pengaruh interaksi macam dan konsentrasi gula terhadap kadar serat nata de nira siwalan.

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimen bertujuan menguji pengaruh variasi macam dan konsentrasi gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat. Penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain faktorial yang digunakan adalah desain dua faktor yang terdiri dari faktor pertama ialah faktor A meliputi macam gula (A1: gula pasir dan A2: gula siwalan) sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi gula atau faktor B (B1: 5%, B2: 10%, dan B3: 15%). Penelitian eksperimen menggunakan lima kali ulangan. Variabel terikat yang diukur adalah kualitas nata yang diwujudkan dalam kadar serat lapisan nata de nira siwalan setelah pemeraman 14 hari. Penelitian eksperimen ini dilakukan dalam dua tahap yaitu perbanyakan starter dan pembuatan nata de nira siwalan. Pembuatan nata de nira siwalan dilaksanakan dengan langkah-langkah sebagai berikut.

1. 3000 ml nira siwalan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan masing-masing 1000 ml. Kelompok I ditambah gula siwalan dengan konsentrasi 5%, kelompok II ditambah gula siwalan dengan konsentrasi 15%, dan kelompok III ditambah gula siwalan dengan konsentrasi 15%. Masing-masing ditambah dengan 0.25 gram ragi roti dan 250 ml air rebusan kacang hijau.
2. Melakukan langkah sama dengan nomor (1) dengan mengganti gula siwalan dengan gula pasir.
3. Campuran direbus sampai mendidih selama 15 menit kemudian api kompor dimatikan, ditambah 15 ml asam cuka glasial agar pH mencapai 3-4.

4. 200 ml campuran dimasukkan ke dalam botol yang telah disterilisasi kemudian ditutup kertas sampul coklat.
5. Campuran dibiarkan hingga dingin kemudian ditambahkan starter dengan perbandingan 1:5, 1 bagian starter dan 5 bagian nira siwalan.
6. Larutan disimpan dalam lemari penyimpanan selama 14 hari dan tidak boleh terguncang.
7. Setelah 14 hari lapisan nata dari beberapa perlakuan terbentuk, kadar serat dapat diukur.
8. Masing-masing lapisan nata dari beberapa perlakuan tersebut dikeluarkan dari botol dengan menggunakan pinset kemudian diukur kadar seratnya dengan metode *Acid Alkali Digestion* (Sudarmaji, 1997). Pengukuran kadar serat nata de nira siwalan dengan metode ini menggunakan prinsip bahwa serat dianalisis dengan mencerna bahan dengan asam dan basa serta pemanasan sehingga akan diperoleh residu yang dinyatakan sebagai kadar serat kasar.

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah analisis varians (ANOVA) ganda yang dilakukan dengan bantuan program statistik SPSS 16.0 for Windows dengan taraf signifikansi 5%. Jika hasil yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji DMRT 5% (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui pengaruh variabel bebas atau interaksi antar variabel yang berpengaruh paling baik terhadap kualitas nata berdasarkan berat dan kadar serat lapisan nata de nira siwalan.

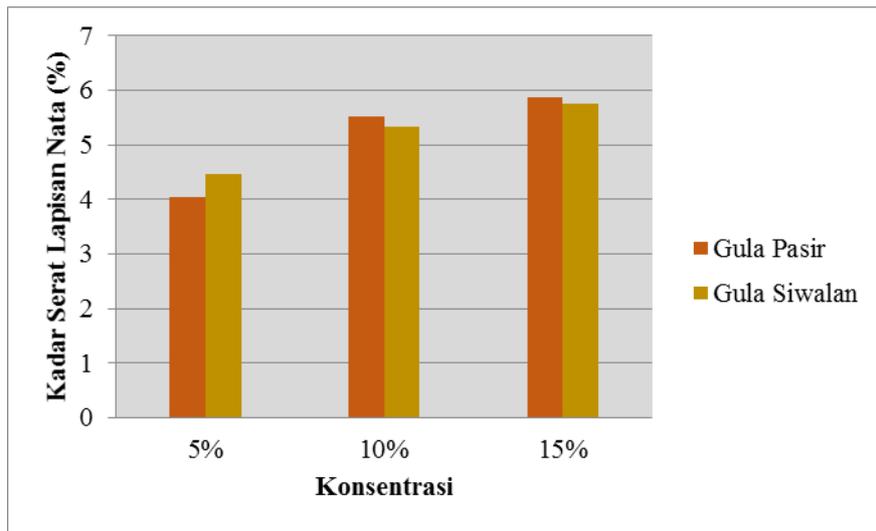
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Rerata hasil pengukuran kadar serat nata de nira siwalan pada variasi jenis gula (gula pasir dan gula siwalan) dan konsentrasi (5%, 10%, dan 15%) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Hasil Pengukuran Kadar Serat Nata de Nira Siwalan

Perlakuan		Kadar Serat Lapisan Nata dari Nira Siwalan (%) pada Ulangan ke-					Σ	Rerata
Macam gula	Konsentrasi	1	2	3	4	5		
Gula pasir	5%	3,98	4,08	4,12	4,07	3,39	20,20	4,04
	10%	5,63	5,54	5,40	5,59	5,38	27,56	5,51
	15%	6,02	5,91	5,64	5,92	5,84	29,35	5,87
Gula siwalan	5%	4,56	4,29	4,35	4,55	4,58	22,35	4,47
	10%	5,32	5,22	5,40	5,64	5,05	26,65	5,33
	15%	5,75	5,81	5,64	5,87	5,72	28,82	5,76

Tabel 1 menunjukkan bahwa nata de nira siwalan dengan penambahan gula pasir 15% mempunyai rerata kadar serat paling tinggi yaitu 5.87%, sedangkan rerata kadar serat yang paling rendah ditunjukkan oleh nata yang terbuat dari nira siwalan dengan penambahan gula pasir 5% yaitu 4.04%. Data pada Tabel 1 dapat disajikan dalam bentuk diagram balok pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan Kadar Serat Nata de Nira Siwalan pada Variasi Macam dan Konsentrasi Gula

Berdasarkan data pada Tabel 1, kemudian dilakukan analisis statistik ANAVA dengan variabel terikat kadar serat nata dan variabel bebas macam gula serta konsentrasinya yang hasilnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Ringkasan Hasil ANAVA Kadar Serat Nata de Nira Siwalan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13.756 ^a	5	2.751	147.111	.000
Intercept	800.296	1	800.296	4.279E4	.000
Macam Gula	.017	1	.017	.914	.003
Konsentrasi	13.180	2	6.590	352.392	.000
Macam Gula*Konsentrasi	.558	2	.279	14.930	.000
Error	.449	24	.019		
Total	814.501	30			
Corrected Total	14.205	29			

1. Pengaruh Macam Gula terhadap Kadar Serat Nata de Nira Siwalan

Pada sumber jenis gula diperoleh nilai p-level lebih kecil dari alpha 0,05 ($p < 0,05$) dengan sig 0,003. Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka hipotesis penelitian diterima artinya terdapat pengaruh yang signifikan macam gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat nata sehingga analisis dilanjutkan pada uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT_{0.05}. Hasil uji lanjut DMRT_{0.05} menunjukkan bahwa untuk pengaruh macam gula terhadap kualitas nata berdasarkan kadar serat nata menunjukkan bahwa perlakuan dengan gula siwalan memberikan pengaruh paling tinggi terhadap rerata kadar serat nata yang terbuat dari siwalan dan berbeda nyata dengan perlakuan dengan gula pasir. Hal ini terbukti kualitas nata berdasarkan kadar serat nata yang terbuat dari nira siwalan dengan penambahan gula siwalan menunjukkan rerata kadar serat nata yang lebih besar (5,189%) dibandingkan dengan gula pasir (5,141%). Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Suparti dkk (2007) yang menunjukkan bahwa jenis gula mempengaruhi kadar serat selulosa yang dihasilkan pada lapisan nata.

Serat menurut Nurhayati (2006) merupakan salah satu golongan jenis zat gizi yang sangat diperlukan bagi kesehatan manusia. Serat dalam nata menurut Kristiawan (2013) merupakan golongan serat yang tidak larut dalam air, yang berbentuk selulosa. Selulosa atau serat nata merupakan serat yang dihasilkan dari proses metabolisme bakteri *Acetobacter xylinum*. Sintesis selulosa terjadi sebagai rangkaian reaksi kimia yang dimulai dengan bahan glukosa yang disintesis dengan bantuan enzim. Faktor yang menentukan pembentukan selulosa atau serat nata oleh bakteri *Acetobacter xylinum* ialah macam gula.

Hasil penelitian yang telah membuktikan bahwa perlakuan dengan penambahan gula siwalan menghasilkan nata dengan kadar serat yang lebih tinggi disebabkan oleh kandungan gula dalam gula siwalan juga lebih tinggi daripada gula pasir. Kandungan sukrosa dalam gula siwalan ialah 76,85%, sedangkan dalam gula pasir hanya 71,89%.

2. Pengaruh Konsentrasi Gula terhadap Kadar Serat Nata de Nira Siwalan

Pada sumber konsentrasi gula diperoleh nilai p-level lebih kecil dari alpha 0,05 ($p < 0,05$) dengan sig 0,000. Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka hipotesis penelitian diterima artinya ada pengaruh yang signifikan konsentrasi gula terhadap kualitas nata de nira siwalan berdasarkan kadar serat nata sehingga analisis dilanjutkan uji lanjut dengan uji DMRT_{0.05}. Hasil uji lanjut DMRT_{0.05} menunjukkan bahwa untuk pengaruh konsentrasi gula terhadap kualitas nata berdasarkan kadar serat nata dari nira siwalan memperoleh hasil perlakuan dengan konsentrasi gula 15% memberikan pengaruh paling tinggi terhadap rerata kadar serat nata yang kemudian disusul perlakuan dengan konsentrasi gula 10% dan 5%. Hal ini terbukti bahwa perlakuan konsentrasi gula 15% menunjukkan rerata berat lapisan yang paling besar (5,817%). Hal ini didukung hasil penelitian Nurhayati (2006) dan Sridjajati (2007) yang menunjukkan bahwa konsentrasi gula berpengaruh terhadap kadar serat yang dihasilkan pada lapisan nata.

3. Pengaruh Interaksi Macam dan Konsentrasi Gula terhadap Kadar Serat Nata de Nira Siwalan

Pada sumber interaksi jenis gula dan konsentrasi diperoleh p-level lebih kecil dari alpha 0,05 ($p > 0,05$) dengan sig 0,000. Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka hipotesis penelitian diterima artinya ada pengaruh yang signifikan interaksi macam dan konsentrasi gula terhadap kadar serat nata. Perlakuan dengan penambahan gula pasir konsentrasi 15% dan penambahan gula siwalan konsentrasi 15% memberikan pengaruh yang paling tinggi terhadap rerata kadar serat nata de nira siwalan daripada dengan perlakuan penambahan gula siwalan dengan konsentrasi 5%, dan 10%, serta perlakuan dengan penambahan gula pasir dengan konsentrasi 5% dan 10%. Hal ini terbukti berdasarkan kadar serat lapisan nata dari nira siwalan dengan penambahan gula pasir konsentrasi 15% dan penambahan gula siwalan 15% menunjukkan rerata yang paling tinggi yaitu 5,871% dan 5,764%.

Hasil penelitian dengan sumber interaksi antara jenis gula dan konsentrasi menunjukkan adanya perbedaan pada kualitas nata yang terbuat dari nira siwalan berdasarkan kadar serat lapisan nata yang terbentuk. Hal ini menunjukkan variasi macam gula yang ditambahkan yaitu gula pasir dan gula siwalan serta konsentrasi gula berpengaruh signifikan terhadap kadar serat lapisan nata yang dihasilkan. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula pasir dan gula siwalan yang ditambahkan pada proses pembuatan nata de nira siwalan, semakin tinggi kadar serat nata yang dihasilkan. Pembuatan nata de nira siwalan dengan penambahan gula pasir konsentrasi 15% dan penambahan gula siwalan konsentrasi 15% paling tinggi kadar seratnya.

SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) jenis gula berpengaruh signifikan terhadap kadar serat nata de nira siwalan; (2) konsentrasi gula berpengaruh signifikan terhadap kadar serat nata de nira siwalan; serta (3) ada pengaruh interaksi jenis dan konsentrasi

gula terhadap kadar serat nata de nira siwalan. Hasil penelitian ini telah berhasil mengungkapkan bahwa nira siwalan dapat dimanfaatkan dalam pembuatan nata de nira siwalan. Fakta ini dapat memperluas khasanah pengetahuan khususnya tentang manfaat buah-buahan yang merupakan plasma nutfah Indonesia. Nira siwalan terbukti mempunyai manfaat lain di samping digunakan untuk minuman yang dikonsumsi dalam keadaan segar, ternyata dapat diolah menjadi bentuk olahan, sehingga dapat meningkatkan upaya diversifikasi pangan. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk penyuluhan bagi masyarakat petani siwalan untuk wirausaha, sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan mereka. Kegiatan penyuluhan juga merupakan salah satu bentuk pendidikan non formal yang dapat diterapkan pada masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Arviyanti, E. dan N., Yulimartani. 2010. *Pengaruh Penambahan Air Limbah Tapioka pada Proses Pembuatan Nata*. (Online), (eprints.undip.ac.id/3468), diakses pada 25 Mei 2013.
- Budiarti, R.S. 2008. Pengaruh Konsentrasi Starter *Acetobacter xylinum* terhadap Ketebalan dan Rendemen Selulosa Nata de Soya. *Biospecies* 1(1): 19-24. (Online), (<http://online-journal.unja.ac.id>), diakses pada 28 April 2013.
- Budiharta. 2006, Menyadap Lontar, Menenggak Rupiah. UPT BKTKR Purwodadi. (Online). (<http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>), diakses tanggal 2 Februari 2012.
- Burhanuddin. 2005, Prospek pengembangan Usaha Koperasi dalam Produksi Gula Aren. (Online). (www.smeccda.com/kajian/files/hslkajian/kajian_gula_aren.pdf), diakses tanggal 20 Februari 2012.
- Djajati, S., U., Sarofa, A., dan Syamsul. 2010. *Pembuatan Nata de Manggo (Kajian: Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi)*. (Online), (repository.its.ac.id), diakses pada 25 Mei 2013.
- Hani'ah. 2000. *Pengaruh Berbagai Kadar Gula terhadap Tebal dan Berat Nata de Soya Selama Lima Periode Panen*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Nainggolan. 2009. *Kajian Pertumbuhan Bakteri Acetobacter sp Dalam Kombucha-Rosela Merah (Hibiscus sabdariffa) pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi yang Berbeda*. Desertasi. Medan: Universitas Sumatera Selatan. (Online), diakses tanggal 2 Desember 2011.
- Nadiyah, Krisdianto, Ajizah, dan Aulia. 2005. Kemampuan Bakteri *Acetobacter xylinum* Mengubah Karbohidrat pada Limbah Padi (Bekatul) Menjadi Sel-lulosa. *Bioscientiae*. 2: 37-47 (Online), (<http://bioscientiae.tripod.com>), diakses pada 29 Mei 2013.
- Nilasari. 1997. *Pembuatan Nata de Soya dari Whey Tahu, Kajian dari Tingkat Kepadatan Medium dan Diameter Wadah Fermentasi*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Nurhayati, S. 2006. Kajian Pengaruh Kadar Gula dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Nata de Soya. *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi* 7 (1): 40-47, diakses tanggal 23 Oktober 2012.
- Nuroniah, S.H, Rostiwati, T., dan Bustomi. S. 2010. *Sintesa Hasil Penelitian Lontar (Borassus flabellifer) sebagai Sumber Energi Bioetanol Potensial*. Bogor: Kementerian Kehutanan, diakses tanggal 1 Agustus 2012.
- Pakpahan, A. 2012. *Ada apa dengan gula?*. (Online), (<http://majalahkeehatan.com/ada-apa-dengan-gula/>), diakses tanggal 23 Oktober 2012.
- Pambayun. 2002. *Teknologi Pengolahan Nata de Coco*. Yogyakarta: Kanisius.

- Rahayuningsih. Daya Simpan Gula Siwalan Kristal Ditinjau dari Jenis Pengemas dan Kondisi Pengemasan. *Jurnal Program Studi Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknik Universitas Wijaya Kusuma Surabaya*. Hal 1-10. (Online), diakses tanggal 3 Pebruari 2012.
- Sudarmadji. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian (Edisi Keempat)*. Yogyakarta: Liberty.
- Suparti, Yanti, dan Asngad. A. 2007. Pemanfaatan Ampas Buah Sirsak (*Annona muricata*) sebagai Bahan Dasar Pembuatan Nata dengan Penambahan Gula Aren. *Jurnal MIPA* 17(1): 1-9, diakses tanggal 23 Mei 2013.
- Sutarminingsih. 2004. *Peluang Usaha Nata de Coco*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wahyudi. 2003. *Memproduksi Nata de Coco*. Jakarta: Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan Dirjen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional.
- Wahyudi, 2007. *Pengaruh Varietas dan Umur Kelapa (Cocos nucifera) terhadap Tebal, Berat, dan Kadar Serat Nata de Coco*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Wahyuni.1996. *Pengaruh Penambahan Ekstrak Nenas pada Medium Air Kelapa terhadap Kecepatan Pembentukan Lapisan Nata pada Proses Pembuatan Nata de coco*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: IKIP Malang.
- Warisno.2000. *Mudah dan Praktis Membuat nata de Coco*. Jakarta: Agromedia.
- Yusmarini, U., Pato, V.S., dan Johan. 2004. Pengaruh Pemberian Beberapa Jenis Gula dan Sumber Nitrogen terhadap Produksi Nata de Pina. *SAGU*. 3(1): 20-27, diakses tanggal 23 Mei 2013.