

ISOLASI DAN PENENTUAN KONDISI KERJA OPTIMUM LIPASE DARI PERKECAMBAHAN BIJI DURIAN (*Durio zibethinus L*)

ISOLATION AND DETERMINATION OF OPTIMUM LIPASE WORK CONDITIONS FROM DURIAN SEED GERMINATION (*Durio zibethinus L*)

Dzulkarnain*, Winni Astuti dan Saibun Sitorus

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mulawarman, Jl. Barong Tongkok No. 4, Samarinda. Indonesia

*Corresponding Author: Julnain70@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted to isolate and to know the optimum lipase working conditions (pH, temperature and concentration of substrate), and to know lipase activity from germination of durian seed (*Durio zibethinus L.*). Isolation is done by 2 stages namely, homogenization and centrifugation. Centrifugation is done at a speed of 12000 rpm with a temperature of 4°C for 30 minutes. Activity by using titration method and protein concentration using method. The optimum lipase temperature obtained was 60°C, optimum pH was 7, and the optimum substrat concentration was 1 % v/v. The lipase specific activity yielded 0,221 U/mg.

Keywords: *lipase, Durio zibethinus L., Lipase specific activity.*

PENDAHULUAN

Biji durian merupakan limbah yang dapat dimanfaatkan. Kecambah biji durian dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim melalui proses perkecambahan. Bonner [1] menyatakan bahwa didalam biji-bijian berkecambah terdapat beberapa enzim, salah satu diantaranya adalah lipase.

Lipase (Triasilgliserol asilhidrolase, E.C.2.1.1.3) merupakan enzim yang mampu mengkatalisis reaksi transesterifikasi gliserida, fosfolipida, berbagai ikatan non gliserida dan ester [2]. Dengan sifat yang spesifik terhadap substratnya tersebut membuat lipase banyak digunakan dalam dunia industri untuk menghasilkan produk seperti detergen, teknologi pangan, dan sains biomedical [3].

Peneliti sebelumnya telah banyak melakukan penelitian mengenai isolasi dan uji aktivitas lipase dari biji yang berkecambah. Permana [4] telah mengisolasi ekstrak kasar lipase dari perkecambahan biji kakao (*Theobroma cacao L.*), Minarni [5] telah menguji aktivitas pemurnian lipase kecambah biji wijen (*Sesamun indicen*).

Berdasarkan uraian diatas, dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui kondisi kerja optimum (pH, suhu dan konsentrasi substrat) lipase yang dihasilkan oleh perkecambahan biji durian (*Durio zibethinus L*) serta aktivitas spesifiknya.

METODELOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer visible single beam, kuvet, mikropipet (10-100 µL), tip 100 µL, tip 1000 µL penjepit tabung, pH meter, blender, *centrifuge*, neraca analitik, corong kaca, gelas beker, pipet buret, Erlenmeyer, batang pengaduk, tabung mikro, *stopwatch*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, gelas ukur, spatula, botol semprot, sikat tabung dan labu akar 1000 mL.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji durian, aquades, minyak zaitun, BSA (*Bovin Serum Albumin*) standar, pereaksi Bradford, etanol 95%, aseton, NaCH₃CPP (*Merck*), KOH (*Merck*) dan aquades.

PROSEDUR PENELITIAN

Perkecambahan Biji Durian

Biji durian sebanyak 2 kg dibersihkan dengan air dari kotoran dan lendir yang menempel pada biji durian tersebut. Selanjutnya biji durian tersebut dikering anginkan pada suhu ruang hingga benar-benar kering. Kemudian disiapkan tanah bercampur pupuk urea sebanyak 50 gram sebagai media untuk perkecambahan. Biji durian tersebut ditanam dan diamati hingga 2 minggu.

Isolasi Enzim dari Kecambah Biji Durian

Kecambah biji durian yang telah dibersihkan dipotong kecil dan ditimbang sebanyak 250 gram lalu ditambahkan 300 mL buffer fosfat 0,2 M pH 7 kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender pada kondisi dingin, setelah halus kemudian disaring dengan kertas saring. Residu dibuang dan filtrat diambil kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro yang selanjutnya di sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar lipase.

Penentuan Konsentrasi Protein

Penentuan konsentrasi protein ditentukan dengan metode Bradford dan menggunakan BSA (*Bovin Serum Albumin*) sebagai larutan standar. Penentuan konsentrasi protein terdiri dari dua bagian, pertama pembuatan kurva dan kedua penentuan konsentrasi protein.

Uji Aktivitas Lipase Secara Kuantitatif

Uji aktivitas lipase dilakukan menggunakan metode titrasi dengan menggunakan minyak zaitun sebagai substrat. Gum arab ditimbang sebanyak 0,05 gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer. Selanjutnya, buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 4 mL ekstrak kasar lipase ditambahkan juga kedalam Erlenmeyer, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu aseton : etanol (1:1) ditambahkan sebanyak 10 mL dan ditambahkan 3 tetes indikator fenofalein. Kemudian dititrasi dengan KOH Alkoholis 0,02 M dan dihitung aktivitasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Ekstrak Kasar Lipase dari Perkecambahan Biji Durian

Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi merupakan ekstrak kasar lipase dari perkecambahan biji durian. Volume ekstrak kasar yang diperoleh sebanyak 150 mL selanjutnya digunakan untuk penentuan konsentrasi protein dan kondisi optimum lipase.

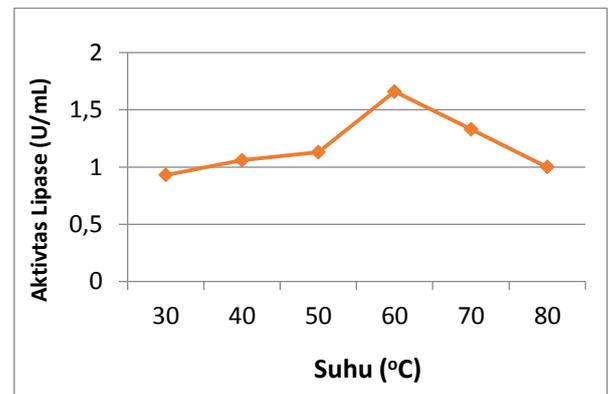
Penentuan Konsentrasi Protein

Konsentrasi protein ditentukan dengan metode Bradford menggunakan BSA sebagai standar. Persamaan garis yang diperoleh yaitu $y = 0,0129x + 0,1983$ dengan nilai $R^2 = 0,9627$. Persamaan garis tersebut digunakan untuk menentukan konsentrasi protein ekstrak kasar lipase. Dari penelitian ini didiapatkan nilai absorbansi ekstrak kasar lipase dari

perkecambahan biji durian adalah 1,051. Sehingga, konsentrasi protein yang diperoleh sebesar 3,3 mg/mL.

Kondisi Suhu Optimum

Dalam penentuan suhu dengan menggunakan variasi suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C dan 80°C. Terdapat hubungan antara variasi suhu dan aktivitas lipase seperti pada Gambar 1.

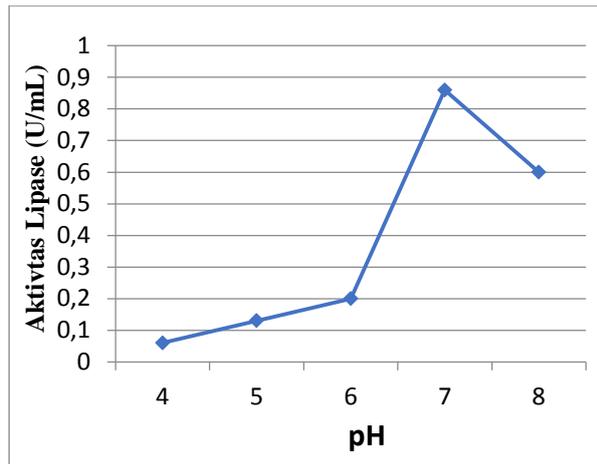


Gambar 1. Pengaruh Variasi Suhu Terhadap Aktivitas Lipase

Berdasarkan Gambar 1 di atas menunjukkan peningkatan aktivitas lipase seiring dengan naiknya suhu yaitu mulai suhu 30°C hingga mencapai titik optimumnya 60°C. Aktivitas lipase yang diperoleh pada suhu optimum tersebut sebesar 1,66 U/mL. Pada suhu 30°C, 40°C, 50°C aktivitas lipase yang dihasilkan meningkat dengan semakin meningkatnya energi kinetik. Energi kinetik molekul-molekul yang bereaksi bertambah sehingga molekul yang bereaksi semakin banyak dan produk yang dihasilkan semakin besar. Di atas suhu 60°C aktivitas menurun secara drastis, hal ini karena enzim mengalami denaturasi protein yang dapat merubah konformasi struktur molekul sehingga enzim kehilangan sifat katalitiknya. Pada suhu 70°C aktivitas lipase mulai menurun yaitu sebesar 1,33 U/mL dan semakin menurun pada suhu 80°C dengan aktivitas sebesar 1,0 U/mL.

Kondisi pH Optimum

Dalam penentuan pH optimum digunakan variasi pH 4, 5, 6, 7 dan 8. Terdapat hubungan antara variasi pH dan aktivitas lipase seperti pada Gambar 2.

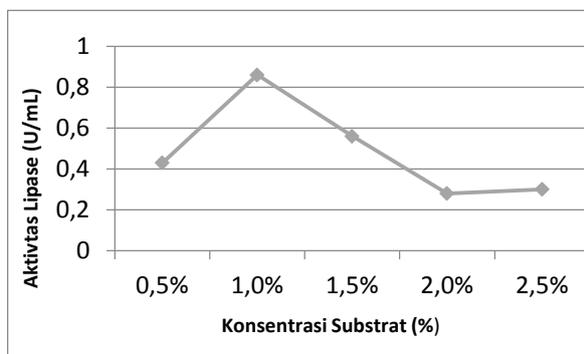


Gambar 2. Pengaruh Variasi pH Terhadap Aktivitas Lipase

Berdasarkan Gambar 2, menunjukkan bahwa pH optimum lipase berada pada pH 7,0 dengan aktivitas lipase sebesar 0,86 U/mL. Dari gambar di atas dapat dilihat aktivitas ekstrak kasar lipase berubah dengan adanya perubahan pH. Hal ini dikarenakan adanya perubahan struktur tersier dan sekunder dari enzim. Dengan semakin meningkatnya pH, aktivitas lipase juga semakin meningkat. Peningkatan aktivitas enzim mencapai pH 7,0 dan menurun pH 8,0. Pada pH yang optimum muatan gugus samping asam amino berada pada keadaan sesuai sehingga enzim sangat efisien dalam mempercepat reaksi yang sangat spesifik [6].

Kondisi Konsentrasi Substrat Optimum

Dalam penentuan konsentrasi substrat optimum digunakan variasi konsentrasi substrat optimum 0,5, 1,0, 1,5 dan 2,5 %. Terdapat hubungan antara konsentrasi substrat dan aktivitas lipase seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh Variasi Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Lipase

Berdasarkan Gambar 3, menunjukkan bahwa aktivitas optimum lipase yaitu pada konsentrasi

substrat 1 % v/v dengan aktivitas lipase sebesar 0,86 U/mL. Penurunan aktivitas terjadi pada konsentrasi 1,5 hingga 1,2 % v/v. Hal ini dikarenakan jumlah enzim yang semakin terbatas dikarenakan penambahan konsentrasi substrat secara terus menerus [7].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi dan karakterisasi lipase dari perkecambahan biji durian (*Durio zibethinus L*) dapat disimpulkan :

1. Kondisi kerja optimum ekstrak lipase yaitu pada pH 7,0 suhu 60°C serta konsentrasi substrat 1% v/v.
2. Aktivitas spesifik kasar lipase dari perkecambahan biji durian (*Durio zibethinus L*) yaitu sebesar 0,221 U/mL.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi dan karakterisasi lipase dari perkecambahan biji durian (*Durio zibethinus L*) perlu dilakukan pemurnian lipase dari ekstrak kasar perkecambahan biji durian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bonner, J., and Varne, J. 1976. Plant Biochemistry Third Edition. New York : Academic Press
- [2] Inoue, K., Arai, H., and Aoki, J., Eur Pat. 2003. (*to Mochida pharm, Japan*) 1 298 205
- [3] Telulssa, I. (2013) Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari Coco Butter Substitutue dan Karakterisasi Lipasenyanya. Prosiding FMIPA Universitas Patimura ISBN 978-602-9755-0-5
- [4] Permana, I. D. G. M., Indrati, Retno., Hastuti, P., Suparmo. 2013. Aktivitas Lipase Indigenous Selama Perkecambahan Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) *Agritech* 33 (2)
- [5] Minarni, S. W., Supriyadi, S., Hidayat, C., Suhendra, L., 2007. Metode Pemurnian Lipase Kecambah Biji Wijen (*Sesamun indicum*) Menggunakan Immobilized Metal Affinity. *Agritech* 27 (4)
- [6] Amalia, R., Bulan, R. 2013. Penentuan pH dan Suhu Optimum Untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Lipase dari Perkecambahan Biji Karet (*Havea brasilliensis*) Terhadap Hidrolisis PKO (Palm Kernel Oil). *Jurnal Saintis Kimia* 1 (2)
- [7] Ghose, B., and Ray, R. R. 2010. Saccharification of Raw Native Starches by Extracelullar Isoamylase of *Ryzhopus Oryzae*. *Biotechnology* : 9 (2) P 224-228.