

## PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM AMOBIL LIPASE DARI KENTOS KELAPA

Moh. Su'i\*), Harijono\*\*), Yunianta\*\*), Aulani'am\*\*\*)

\*) Dosen Teknologi Hasil Pertanian Universitas Widyagama Malang

\*\*\*) Dosen Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

\*\*\*\*) Dosen FMIPA Universitas Brawijaya Malang

### ABSTRACT

*This research learn about activity of lipase enzyme immobilization by Ca-alginate. Na-alginate and enzyme mixed then added CaCl<sub>2</sub> so formed ammobile enzyme. It was measured protein attack in ammobile enzyme and enzyme activity for five time using. The result showed that During lipases immobilization, protein attack for 92,26 %. Amobil lipases activity (0,08996 unit/mg protein) less then mobil lipases (0,10542 unit/mg protein). Amobil lipases that used until four time, activity decrease to 24,56 %. If it was used five time, activity decrease to 4,515 %.*

**Keyword :** Lipase, Kentos Kelapa, Amobilisasi, Alginat

### PENDAHULUAN

Kebutuhan enzim lipase terjadi peningkatan dalam beberapa tahun terakhir. Enzim tersebut sangat potensi digunakan dalam beberapa industri seperti industri detergen, industri makanan dan industri farmasi (Savendsen, 2000).

Enzim lipase telah banyak diisolasi dari tanaman, hewan atau mikroorganisme (Sana, *et al.*, 2004). Sumber lipase dari tanaman diantaranya biji *Caesalpinia bonducella L* (Pahaja, Dahot and Sethar, 2001), biji *Brassica napus L*. (Sana, *et al.*, 2004), biji jagung (Lin, Wimer dan Huang, 1983), *Castor bean* (Muto dan Beevers, 1974) dan biji minyak kelapa sawit (Oo dan Stumpf, 1983).

Hasil penelitian Sui dan Chandra (2007) menunjukkan bahwa, buah kelapa yang telah ditunaskan selama 30 hari mengandung lipase pada daging buah, kentos dan tunas dengan aktivitas yang bervariasi. Aktivitas tertinggi terdapat pada tunas kemudian kentos dan daging sebesar 0,4497 ; 0,4477 dan 0,1862 u mol/ml /jam.

Hasil fraksinasi lipase kentos kelapa menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi pada fraksi 0-30% dengan aktivitas sebesar 0,049 u mol/ml/jam (Sui, dkk, 2008).

Enzim lipase mampu menghidrolisa ikatan ester dari trigliserida

seperti lemak netral. Pada trigliserida, lipase menghidrolisa ikatan asam lemak dengan gliserol pada posisi 1 atau posisi 2 Lipase telah banyak digunakan dalam industri susu, industri oleo kimia dan produksi lemak terstruktur (lemak termodifikasi). (Sana, *et al.*, 2004).

Amobilisasi enzim akan menguntungkan dalam penggunaannya dalam industri karena dapat digunakan berulang-ulang dan lebih stabil. Dengan demikian dapat menekan biaya produksi mengingat harga enzim sangat mahal (Agustini, 2006). Alginat sudah banyak digunakan dalam amobilisasi enzim maupun sel mikroba. Penggunaan alginate dalam proses amobilisasi memiliki beberapa keuntungan yaitu harga murah, efisien, dan lebih mudah dalam penggunaannya (Riffiani, 2005).

Penelitian ini akan mempelajari amobilisasi enzim lipase kentos kelapa yang telah difraksinasi dengan ammonium sulfat 0-30%, kemudian diuji aktivitasnya selama lima kali pemakaian berturut-turut.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus –Desember 2007 di laboratorium Pengolahan Universitas Widya Gama Malang dan Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Mortar, sentrifuse, lemari pendingin, pisau stainless steel, pamarut kelapa stainless steel, kain saring, beker glass, erlenmeyer, oven, spektrofotometer UV Vis, freezer, thermometer, pH meter dan stirer.

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa varitas dalam dari Lawang Kabupaten Malang, aquades, para nitro phenil laurat, aseton, alkohol, buffer fosfat.

Pertunasan kelapa menggunakan metode Oo and Stumpf (1983) yang dimodifikasi. Isolasi lipase dengan metode Sana, *et al.* (2004) yang dimodifikasi. Kelapa dibuang sabut dan tempurungnya dengan hati-hati dan kentos dipisahkan kemudian disimpan pada suhu 4 °C. Sampel (5 gram) ditambahkan larutan buffer fosfat 5 mM 12,5 ml yang sudah didinginkan kemudian dihancurkan dengan mortar. Suspensi disentrifuse pada 8000 gram 20 menit pada 4 °C. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam beker glass. Endapan ditambah lagi buffer fosfat yang sama 12,5 ml kemudian disentrifuse lagi seperti di atas. Supernatan digabung dengan sebelumnya. Supernatan yang diperoleh merupakan enzim kasar yang siap diuji aktivitas enzim lipase.

Fraksinasi dilakukan dengan metode pengendapan fraksional menggunakan amonium sulfat dengan konsentrasi yang berbeda yaitu tingkat kejenuhan 0-30 %. Setelah diperoleh endapan, dilanjutkan dengan dialisis.

Dialisis dilakukan dengan cara memasukkan endapan enzim dalam kantong selofan kemudian direndam dalam gelas beaker berisi 250 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7 dan diaduk perlahan dengan pengaduk magnet. Dialisis dilakukan sampai semua amonium sulfat terpisah dari endapan protein, dengan penggantian buffer fosfat perendam setiap 6 jam. Setelah melalui proses dialisis, diperoleh fraksi-fraksi hasil pengendapan. Setiap fraksi hasil pengendapan diencerkan dengan buffer fosfat 0,05 M pH 7 sampai volumenya tepat 10 mL.

Amobilisasi dilakukan dengan mengambil 5 ml enzim hasil dialysis

kemudian ditambahkan Na-alginat 3% 20 ml. Campuran diaduk hingga homogen pada suhu kamar (25 °C). Selanjutnya, campuran enzim dengan Na-alginat diteteskan perlahan-lahan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 N sambil diaduk dengan siter perlahan (100 rpm) hingga terbentuk butiran-butiran enzim amobil. Pengadukan dilakukan hingga 1 jam. Untuk memisahkan enzim amobil dari CaCl<sub>2</sub>, campuran disaring dengan kertas saring dilanjutkan dengan pencucian dengan aquades steril kemudian siap digunakan.

Uji protein dilakukan pada campuran enzim dengan Na-alginat, sisa CaCl<sub>2</sub>. Volume sisa CaCl<sub>2</sub> dan berat enzim amobil diukur. Aktivitas enzim amobil selama pemakaian hingga 5 kali diukur.

Aktivitas enzim lipase diukur dengan menggunakan para nitrofenil laurat (PNPL) sebagai substrat. Para nitrofenol yang dibebaskan dari hidrolisa PNPL oleh lipase diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm (Bhardwaj, Raju dan Rajasekharan, 2001). Kadar protein enzim diukur dengan metode Lowry *et al.*

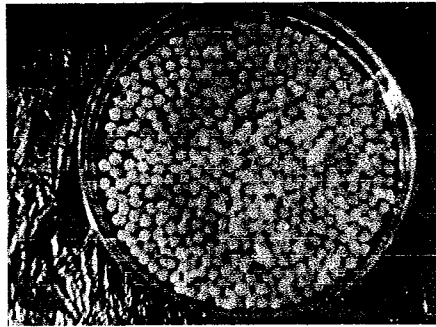
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil amobilisasi enzim

Amobilisasi lipase menggunakan enzim hasil pemurnian parsial dengan aktivitas lipase tertinggi yaitu pada konsentrasi amonium sulfat 0-30%. Sebagai pembentuk gel untuk menjebak enzim adalah Na-alginat. Hasil amobilisasi enzim dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1 berikut.

**Tabel 1. Enzim hasil proses amobilisasi dengan alginat**

Keterangan	Jumlah
Enzim mula-mula yang digunakan	5 ml
Kadar protein enzim awal	9,4 mg
Enzim yang lepas saat amobilisasi	0,728 mg
Enzim amobil yang dihasilkan	16,7026 gram
Kadar protein enzim amobil	8,672 mg
Diameter setiap butir	4,005 mm
Berat setiap butir	0,03085 gram



Gambar 1. Lipase kentos kelapa hasil amobilisasi

Enzim amobil yang dihasilkan sebesar 16,7026 gram, diperoleh dari 5 ml enzim hasil pemurnian dengan ammonium sulfat 0-30% dengan 20 ml Na-alginat. Bahan pembentuk gelya adalah larutan  $\text{CaCl}_2$ . Enzim amobil yang dihasilkan memiliki diameter 4,005 mm setiap butir. Kadar protein dalam enzim amobil adalah 0,5192 mg/gram.

Hasil ini sesuai dengan penelitian Riffiani (2005) yang melakukan amobilisasi terhadap sel *Chlorella pyrenoidosa* menggunakan Na-alginat. Sel amobil yang dihasilkan berdiameter 4 mm menggunakan larutan  $\text{CaCl}_2$  sebagai pembentuk gel.

Amobilisasi dengan alginat merupakan metode penjebakan enzim dalam polimer. Disamping menggunakan alginat, polimer lain juga bisa digunakan diantaranya poliakrilamida, kolagen, silika gel. Namun menurut Riffiani (2005), penggunaan alginat dalam proses amobilisasi memiliki beberapa keuntungan yaitu harga murah, efisien, dan lebih mudah dalam penggunaannya.

Dengan metode penjebakan, enzim terperangkap dalam kerangka polimer, tetapi substrat dan produk masih bisa melewati pori-pori dari polimer yang ada (Belitz and Grosch, 1999).

Dengan teknik amobilisasi ini, enzim tetap berada dalam bentuk aslinya tanpa adanya resiko penutupan bagian aktifnya. Hal ini karena dengan metode ini tidak terjadi pengikatan secara kimia antar enzim dengan gel. (Smith, 1990).

Protein yang terlepas selama proses amobilisasi dalam penelitian ini sebesar 0,728 mg dari total protein 9,4 mg atau 7,75%. Sedangkan protein yang terjebak atau

terikat dalam proses amobilisasi sebesar 8,672 mg dari 9,4 mg atau 92,26%.

Menurut Smith (1990), penangkapan enzim dalam matrik gel dilakukan melalui reaksi polimerisasi dengan enzim. Namun, proses penangkapan (*entrapment*) relatif lebih sulit dilakukan. Karena proses penangkapan yang relatif lebih sulit itulah, sehingga dalam proses amobilisasi ada protein yang terlepas yaitu 7,75%.

#### Aktivitas enzim amobil selama pemakaian berulang

Enzim hasil amobilisasi menunjukkan aktivitas yang cukup baik yaitu sebesar 0,08996 unit/mg protein. Sebelum dilakukan amobilisasi (enzim bebas), aktivitas lipase sebesar 1,0542 unit/mg protein. Amobilisasi lipase menggunakan alginat akan menurunkan aktivitas menjadi 85,33% atau terjadi penurunan sebesar 14,67%. Penelitian Setiawati (2004) juga menghasilkan hal yang sama yaitu alginat yang digunakan untuk amobilisasi sel *Streptomyces sp.* akan menurunkan aktivitas relatif enzim glukosa isomerase menjadi 59,31%.

Penurunan aktivitas lipase setelah dilakukan amobilisasi karena terjadi penurunan interaksi enzim dengan substrat. Substrat harus melalui pori-pori gel alginat untuk bertemu dengan substrat. Sedangkan pada kondisi enzim bebas, substrat dengan mudah bertemu dengan substrat. Sebagaimana dikatakan oleh Smith (1990), amobilisasi enzim dengan metode penjebakan akan menyebabkan penghambatan kerja enzim. Hal ini disebabkan oleh substrat atau produk yang keluar masuk melalui pori-pori gel. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai berat molekul yang relatif tinggi sehingga mengganggu interaksi substrat dengan enzim.

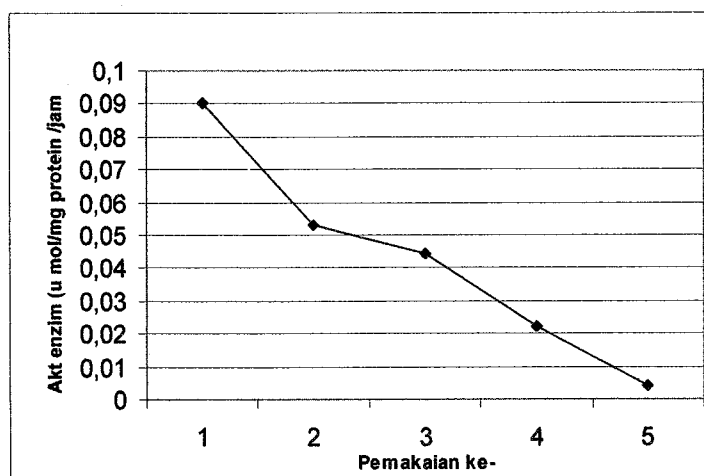
Selanjutnya, enzim amobil diuji aktivitasnya selama lima kali pemakaian (hidrolisis). Aktivitas enzim amobil selama 5 kali pemakaian dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Aktivitas lipase selama hidrolisis

Hidrolisis Ke	Akt (unit/gram enzim amobil)	Akt (unit/mg protein)	Akt (%)	Penurunan akt (%)
1	0,0467	0,0899	100	0
2	0,0275	0,0530	58,950	41,049
3	0,0229	0,0442	49,155	50,845
4	0,0115	0,0221	24,564	75,434
5	0,0021	0,0041	4,515	95,485

Selama 5 kali pemakaian enzim amobil terjadi penurunan aktivitas spesifik lipase dengan aktivitas berturut-turut 0,0899 ; 0,053 ; 0,0442 ; 0,0221 ; dan 0,0041 unit/mg protein. Pemakaian hingga 4 kali,

aktivitas lipase masih tersisa 0,0221 unit/mg protein atau 24,56 % dari aktivitas awal sebesar 0,0899 unit/mg protein. Tetapi pemakaian yang ke 5 aktivitas hanya tinggal 2 % atau 0,0041 unit/mg protein.



Gambar 2. Aktivitas lipase selama lima kali pemakaian (hidrolisis)

Penurunan aktivitas ini karena terjadi pelepasan enzim dari polimer selama pemakaian. Semakin lama digunakan, jumlah enzim dalam gel makin berkurang. Hal ini didukung oleh pendapat Smith (1990) bahwa, teknik amobilisasi dengan pengebakan oleh polimer memiliki kelemahan yaitu berkurangnya enzim secara terus menerus karena keluar melalui pori-pori gel. Hali ini karena dengan metode ini tidak terjadi pengikatan secara kimia antar enzim dengan gel sehingga enzim mudah terlepas. Sedangkan metode ikatan kovalen dan ikatan silang terjadi ikatan kimia antara enzim dengan matrik pengikat.

Selain itu, metode pengebakan memiliki kelemahan lain yaitu akan terjadi penghambatan kerja enzim. Hal ini disebabkan karena substrat atau produk yang keluar masuk melalui pori-pori gel. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai berat molekul tinggi sehingga mengganggu interaksi substrat dengan enzim (Smith, 1990).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Selama proses amobilisasi lipase terjadi kehilangan protein sebesar 7,75 % dari protein awal. Kadar protein enzim amobil 0,5192 mg/gram dengan jumlah 16,7026 gram yang diperoleh dari 5 ml

enzim awal. Selama pemakaian berulang, enzim amobil mengalami penurunan aktivitas. Enzim amobil yang dipakai selama 4 kali, aktivitasnya masih tersisa 24,56 %, tetapi pemakaian yang ke 5 aktivitas hanya tinggal 4,515 %.

#### Saran

Lipase amobil yang dihasilkan dalam penelitian ini mengalami penurunan aktivitas yang cukup besar yaitu 75,434 % setelah digunakan menghidrolisa substrat PNPL sebanyak 4 kali. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk memperbaiki metode amobilisasi sehingga diperoleh lipase amobil dengan aktivitas yang tetap tinggi meskipun digunakan berulang-ulang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, 2006, Karakterisasi dan Amobilisasi Protease Mikroorganisme Termofilik Isolat CG-10 yang Hidup di Sumber Air Panas Cagar Jawa Timur dengan Matrik Pendukung, [library@lib.unair.ac.id](mailto:library@lib.unair.ac.id).
- Belitz, H.D and Grosch, W., 1999, Food Chemistry, Springer, Verlag, Berlin.
- Bhardwaj K., Raju A. and Raja sekharan R., 2001, Identification, Purification and Characterization of a Thermally Stable Lipase from Rice Bran. A New Member of the (Phospho) Lipase Family, Plant Physiology, December 2001, Vol. 127 : 1728-1738.
- Lin Y. H., Wimer L. T. and Huang A. H. C., 1983, Lipase in the Lipid Bodies of Corn Scutella During Seedling Growth, Plant Physiol. 1983, 73, 460 – 463.
- Muto S. and Beevers H., 1974, Lipase Activities in Castor Bean Endosperm during Germination, Plant Physiol, 1974, 23-28.
- Oo K. C. and Stumpf P. K, 1983, Some Enzymic Activities in The Germinating Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seedling, Plant Physiol (1983), 73, 1028-1032.
- Pahoja V. M., Dahot M. U. and Sethar M. A., 2001, Characteristic Properties of Lipase Crude Extract of *Caesalpinia bounducella* L. Seeds, J. of Biological Sciences 1 (8), 775-778.
- Riffiani R., 2005, Potensi Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* Chick Amobil sebagai Kontrol Kualitas Air dalam Akuakultur, Departemen Biologi ITB.
- Sana, Hossin I., Haque E.M. and Shaha R.K., 2004, Identification, Purification and Characterization of Lipase from Germination Oil Seed (*Brassica napus* L.), Pakistan Journal of Biological Sciences 7 (2): 246 – 252.
- Savendsen A., 2000, Lipase protein engineering, Biochemica et Biophysica Acta., 1543:223-238.
- Setiawati Y., 2004, Produksi Fruktosa dari Ubi Jalar Secara Fermentasi Sinambung dengan Menggunakan Sel Amobil, Departemen Biologi, ITB, Bandung.
- Smith, J.E., 1990, Biototechnology, Penerjemah Hartono, A., Penerbit Buku Kedokteran Indonesia, Jakarta.
- Sui dan Candra W., 2007, Enzim Lipase dari Bagian-bagian Kelapa Selama Pertunasan, Proseding Basic Science Seminar, Universitas Brawijaya Malang.
- Sui, Harijono, Yunianta and Aulaniam, 2008, Fraksinasi dengan Amonium Sulfat Pengaruhnya terhadap Aktivitas Enzim Lipase dari Kentos Kelapa, Proseding Basic Science Seminar, Universitas Brawijaya Malang.