

KONDISI OPTIMUM ENZIM LIPASE KASAR DARI KENTOS KELAPA (*Optimum Conditions Of Rough Lipase Enzym from Coconut Houstorium*)

Moh. Su'i¹⁾, Harijono²⁾, Yunianta²⁾, Aulani'am³⁾

) Dosen Teknologi Hasil Pertanian Universitas Widyagama Malang

2) Dosen Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

3) Dosen FMIPA Universitas Brawijaya Malang

Abstract

This research learn about optimum condition (temperature, pH and incubation time). Lipase isolated from coconut houstorium. Houstorium was taken from coconut that has been grew for 30 days in the darkplace and rate temperature. Determination of optimum conditions was done by examination the lipase activity in variation condition of temperature (30 – 80 °C), pH (6 – 8,5) and incubation time (30 – 210 minutes). The results showed that optimum condition of lipase isolated from coconut houstorium were 60 °C, pH 7 and 90 minutes.

Key word : Lipases, houstorium, coconut, optimum condition.

Abstrak

Penelitian ini mempelajari kondisi optimum (suhu, pH dan lama inkubasi) lipase dari kentos buah kelapa. Kentos diperoleh dari kelapa yang telah ditunaskan selama 30 hari di tempat gelap pada suhu ruang. Penentuan kondisi optimum dilakukan dengan menguji aktivitas enzim lipase pada variasi suhu inkubasi (30 – 80 °C). kemudian variasi pH mulai 6 – 8,5 dan lama inkubasi antara 30 – 210 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum terdapat pada suhu 60 °C, pH 7 dan lama inkubasi 90 menit.

Kata Kunci : Lipase, Kentos Kelapa, Kondisi optimum

PENDAHULUAN

Lipase merupakan enzim yang mampu menghidrolisa ikatan ester terutama lemak netral seperti trigliserida. 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).

Dalam beberapa tahun terakhir, terjadi peningkatan kebutuhan enzim lipolitik (lipase). Enzim tersebut sangat potensi digunakan dalam beberapa industri

seperti industri detergen, industri makanan dan industri farmasi (Savendsen, 2000).

Lipase telah banyak diisolasi dari tanaman, hewan atau mikroorganisme (Sana, *et al.*, 2004). Sumber lipase dari tanaman diantaranya biji *Caesalpinia bonducella L* (Pahoja, 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).

Aktivitas lipase dalam biji-bijian meningkat dengan cepat

setelah perkecambahan (germinasi). Perkecambahan *Brassica napus L* selama 40 jam menghasilkan lipase (kasar dan telah dimurnikan) dengan aktivitas maksimal, kemudian setelah itu menurun dengan cepat (Sana, *et al.*, 2004). Sedangkan biji kelapa sawit, aktivitas lipase paling tinggi diperoleh pada 21 hari perkecambahan di tempat gelap yaitu sebesar 574 unit dan aktivitas menurun setelah 21 hari. Jika dikecambahkan di tempat terang, aktivitas tertinggi pada 18 hari yaitu sebesar 333 unit (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 spesifik tertinggi terdapat pada kentos kemudian tunas, daging dan akar sebesar 0,02713 ; 0.01525 dan 0.00426 u mol/mg protein/jam.

Lipase akan bekerja dengan maksimal jika pada kondisi optimalnya. Kondisi optimal diantaranya pH, waktu dan suhu pada saat enzim menghidrolisis substrat.

Penelitian Pahoja, *et. al.* (2001) menyebutkan bahwa, pH optimal enzim lipase *Caesalpinia bonducella L* adalah pada pH 7. Kondisi yang sama juga terdapat pada lipase dari *Hibiscus cannabinus seeds* (Kausar and Akhtar, 1979), *Juglansregia*, *Allium cepa*, *Pisum sativum*, *Citrus decumana*, *Cucumis melo*, *Zea mays* and *Prumus amygdalus seeds* (Akhtar *et. al.*, 1975). Sedangkan dalam biji jagung, lipase ini mempunyai pH optimum 7,5 (Lin, Wimer dan Huang, 1983).

Suhu optimal lipase *Brassica napus L* adalah 37 °C. Aktivasinya menjadi sangat rendah

pada suhu kurang dari 20 °C atau lebih dari 50 °C (Sana, *et al.*, 2004). Sedangkan lipase *Caesalpinia bonducella L* mempunyai suhu optimum 30 °C. Hal ini sama dengan lipase dari *Cajanus cajan L. seed* (Khan *et. al.*, 1991), *Carissa carandas fruit* (Mala and Dahot, 1995). Aktivitas lipase masih stabil pada suhu 60 °C dengan aktivitas sebesar 90%. Pada suhu 90 °C selama 10 menit, aktivitas lipase hilang sama sekali (Pahoja, *et. al.*, 2001).

Lipase *Caesalpinia bonducella L*. yang diinkubasi hingga 180 menit masih meningkatkan kecepatan hidrolisa kemudian setelah ini menurun. Penurunan ini karena produksi senyawa penghambat aktivitas enzim (Galliard, 1971), atau produk samping dari hasil reaksi atau terjadi inaktivasi enzim dengan semakin lama inkubasi (Sonoki and Ikezawa, 1975), atau keberadaan enzim lain dalam enzim kasar sampel yang tidak dapat dipisahkan (Pahoja, *et. al.*, 2001).

Lipase yang berasal dari sumber yang berbeda mempunyai kondisi optimum yang berbeda. Kentos mempunyai aktivitas spesifik lipase paling tinggi tinggi daripada tunas dan daging buah. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari kondisi optimum lipase yang berasal dari kentos kelapa yang telah ditunaskan selama 30 hari.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Juli 2009 di laboratorium Pengolahan Universitas Widya Gama Malang dan Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Mortar,

sentrifuse dingin, 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 local varitas dalam yang diperoleh dari Lawang Kabupaten Malang, aquades, para nitro phenil laurat (PNPL), 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 disentrifugasi pada 8000 g, 4 °C selama 20 menit. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam beker glass. Endapan ditambah buffer fosfat 12,5 ml kemudian disentrifugasi pada 8000 g, 4 °C selama 20 menit. Supernatan digabung dengan supernatant sebelumnya dan merupakan enzim kasar yang siap diuji aktivitas lipase.

Suhu optimum ditentukan dengan mengukur aktivitas enzim yang telah diinkubasi (campuran enzim substrat) pada beberapa macam suhu (20 – 80 °C). pH optimum dengan cara mengatur pH reaksi (campuran enzim substrat) pada beberapa macam pH (6 – 8,5). Lama inkubasi optimum diatur pada beberapa lama inkubasi (30, 60, 90, 120, 150, 180 dan 210 menit).

Aktivitas lipase diukur dengan menggunakan Para Nitro Phenil 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

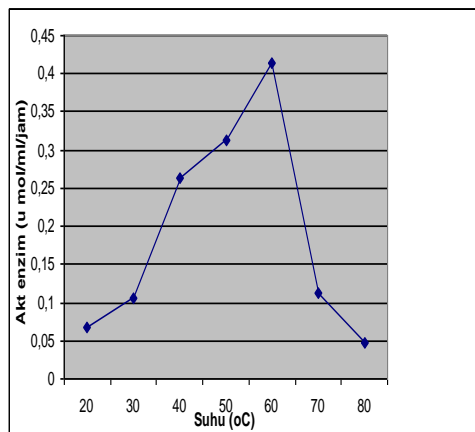
Suhu Optimum

Lipase yang berasal dari kentos kelapa mempunyai suhu optimum 60 °C yaitu sebesar 0,4147 u mol/ml/jam. Jika suhu meningkat menjadi 70 °C, aktivitas menurun dengan tajam menjadi 0,112931 u mol/ml/jam atau sebesar 27,23% dari aktivitas maksimumnya. Suhu inkubasi 80 °C, aktivitas hanya tersisa 11,617 %. Pada suhu 30 °C aktivitasnya menjadi 0,1047 u mol/ml/jam atau 25,24 %. Aktivitas lipase pada beberapa suhu inkubasi dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Suhu optimum lipase bervariasi tergantung sumber enzimnya. Lipase dari *Brassica napus L* mempunyai suhu optimum 37 °C. Aktivitasnya sangat rendah pada suhu kurang dari 20 °C atau lebih dari 50 °C (Sana, *et al.*, 2004). Sedangkan lipase *Caesalpinia bonducella L* mempunyai suhu optimum 30 °C. Hal ini sama dengan lipase dari *Cajanus cajan L. seed* (Khan *et al.*, 1991), *Carissa carandas fruit* (Mala and Dahot, 1995). Aktivitas lipase masih stabil pada suhu 60 °C dengan aktivitas sebesar 90%. Pada suhu 90 °C selama 10 menit, aktivitas lipase hilang sama sekali (Pahoja, *et al.*, 2001). Suhu optimum 80 °C dimiliki oleh lipase dari *rice brand* (Bhardwaj, *et al.*, 2001).

Tabel 1. Aktivitas lipase kasar pada variasi suhu inkubasi

Suhu (°C)	Akt (u mol/ml/jam)	Akt (% dari akt maksimum)
20	0,067111	16,18153
30	0,1047	25,24477
40	0,262189	63,21778
50	0,31185	75,19185
60	0,414739	100
70	0,112931	27,22943
80	0,04818	11,61683



Gambar 1. Aktivitas lipase kasar pada beberapa suhu inkubasi

pH Optimum

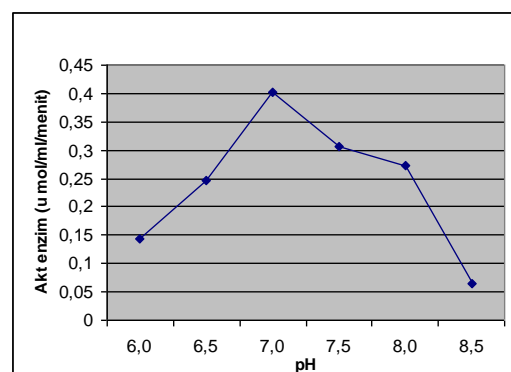
pH optimum dari kentos kelapa adalah pH 7 yaitu sebesar 0,401 u mol/ml/jam. Pada pH 6,5 aktivitas enzim menjadi 61,21 % dan dan pada pH 8, enzim masih mempunyai aktifitas sebesar 68,19%. Aktivasnya menjadi 0,143 u mol/ml/jam (35,55 %) pada pH 6 dan hanya 0.064 u mol/ml/jam (15,85 %) pada pH 8,5. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Hasil ini sama dengan hasil peneliti terdahulu dengan pH

optimum 7 yaitu lipase dari *Caesalpinia bonducella* L (Pahoja, et. al., 2001), *rape seeds* (Hoope and Theimer, 1997), *Hibiscus cannabinus seeds* (Kausar and Akhtar, 1979), *Sun flower cotyledons* (Huang and Morea, 1978), *Juglansregia*, *Allium cepa*, *Pisum sativum*, *Citrus decumana*, *Cucumis melo*, *Zea mays* and *Prumus amygdllus seeds* (Akhtar et. al., 1975). Sedangkan dalam biji jagung, lipase ini mempunyai pH optimum 7,5 (Lin, Wimer dan Huang, 1983).

Tabel 2. Aktivitas lipase kasar pada variasi pH reaksi

pH	Akt (u mol/ml/jam)	Akt (% dari akt maksimum)
6,0	0,142563	35,55008
6,5	0,245452	61,2069
7,0	0,401021	100
7,5	0,306363	76,39573
8,0	0,273438	68,18555
8,5	0,063544	15,84565



Gambar 2. Aktivitas lipase kasar pada beberapa pH reaksi

Lama inkubasi optimum

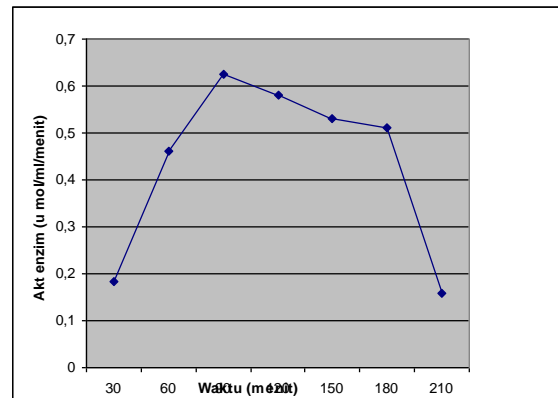
Lama inkubasi optimum lipase dari kentos kelapa diperoleh

pada 90 menit yaitu 0.625 u mol/ml. Meskipun inkubasi dilanjutkan hingga 180 menit aktivitas masih cukup tinggi yaitu 0.512 u mol/ml (81%). Tetapi jika inkubasi dilanjutkan menjadi 210 menit, aktivitas menurun tajam dan aktivitasnya hanya 25% dari aktivitas maksimumnya (Tabel 3 dan Gambar 3).

Menurut Galliard (1971), penurunan aktivitas ini karena produksi senyawa penghambat aktivitas enzim selama inkubasi. Ditambahkan oleh Sonoki and Ikezawa (1975), bahwa penurunan itu juga karena produk samping dari hasil reaksi atau terjadi inaktivasi enzim dengan semakin lama inkubasi. Keberadaan enzim lain dalam enzim kasar sampel yang tidak dapat dipisahkan dari lipase juga menjadi penyebab menurunnya aktivitas enzim (Pahoja, *et. al.*, 2001).

Tabel 3. Aktivitas lipase kasar pada variasi lama inkubasi

Waktu (menit)	Akt (u mol/ml/jam)	Akt (% dari akt maksimum)
30	0,182896	29,28051
60	0,46001	73,64491
90	0,624633	100
120	0,580734	92,97198
150	0,531347	85,06545
180	0,512141	81,99069
210	0,158202	25,32724



Gambar 3. Aktivitas lipase kasar pada lama inkubasi yang berbeda

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Lipase dari kentos kelapa yang ditunaskan selama 30 hari adalah pH optimum 7, suhu optimum 60 °C dan lama inkubasi optimum 90 menit dengan aktivitas sebesar 0.401 u mol/mg protein/jam.

Saran

Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan penelitian pengaruh ion-ion logam terhadap aktivitas ipase baik sebagai activator maupun inhibitor.

DAFTAR PUSTAKA

Akhtar, M.W., Parveen, H., Kausar S. and Chughtai M.I.D., 1975, Lipase activity in plant seeds, Pak. J. of Biochem., 8 : 77 – 82.

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.

- Galliard, T., 1971, Enzymic deacylation of lipids in plants. The effects of free fatty acids on the hydrolysis of phospholipids by the lipolytic acyl hydrolase of potato tubers, *Eur. J. Biochem.*, 21 : 90-98.
- Kausar S and Akhtar, M.W, 1978, Isolation and characterization of *Hibiscus cannabinus* (kenaf) seed lipase, *Pak. J. Biochem.*, 12 : 58 – 64.
- Khan M.Y., Dahot M.U. and Noomrio M.H., 1991, Investigation of lipase activity from *Cajanus cajan* L. seed, *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 34 : 384 – 386.
- 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.
- Mala V. and Dahot M.U., 1995, Lipase activity of *Carissa carandas* fruit, *Sci. Int. (Lahore)*, 7 : 161-164.
- 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, The metabolisme of the Germinating Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seedling, *Plant Physiol* (1983), 73, 1033-1037.
- 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.
- 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.
- Sonoki S and Ikezawa H., 1975, Studies on phospholipase C. from *Pseudomonas aureofaciens*, Purification and some properties of phospholipase C. *Biochemica et Biophysica Acta.*, 403:412-424.

