PENGARUH ION LOGAM TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR LIPASE DARI KECAMBAH BIJI CEMPEDAK (Artocarpus integer (Thunb.) Merr.)

THE EFFECT OF METAL IONS ON LIPASE ACTIVITY FROM GERMINATION SEED EXRACT OF CEMPEDAK (Artocarpus integer (Thunb.) Merr.)

Delina Khairunnisa*, Winni Astuti, Rudi Kartika

Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia

**Corresponding Author*: delinakhairunnisa@gmail.com

ABSTRACT

Cempedak (*Artocarpus integer* (Thunb.) Merr.) seed sprouts have lipase activity that can be used to increase the economic value of the plant. This study aimed to isolate lipase from sprouts of cempedak seeds and to determine the effect of metal ions on the activity of crude lipase extract. Determination of the effect of metal ions on lipase activity was carried out by varying the types of metal ions, namely Na⁺, K⁺, Ba²⁺, Mg²⁺ and Fe³⁺ with a concentration of 0.1 M and incubated for 120 minutes. Lipase enzyme activity was determined on olive oil substrate by titrimetric method at optimal pH and temperature. The results showed that the type of metal ion affected the lipase enzyme activity of the crude extract of cempedak seed sprouts. With the addition of Fe³⁺, Na⁺ and Ba²⁺ ions, the activity decreased to 57.98%; 63.03% and 93.28% while the addition of Mg²⁺ and K⁺ ions lipase enzyme activity increased to 131.09% and 101.68%.

Keywords: Cempedak seed sprouts (Artocarpus integer (Thunb.) Merr.), Lipase, Metal ions

ABSTRAK

Kecambah biji tanaman Cempedak (*Artocarpus integer* (Thunb.) Merr.) memiliki aktivitas lipase yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan nilai ekonomis tanaman tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi lipase dari kecambah biji cempedak dan mengetahui pengaruh ion logam terhadap aktivitas ekstrak kasar lipase. Penentuan pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dilakukan dengan variasi jenis ion logam, yaitu Na⁺, K⁺, Ba²⁺, Mg²⁺ dan Fe³⁺dengan konsentrasi 0,1 M dan diinkubasi selama 120 menit. Aktivitas enzim lipase ditentukan terhadap substrat minyak zaitun dengan metode titrimetric pada pH serta suhu optimal. Hasil penelitian menunjukkan jenis ion logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari ekstrak kasar kecambah biji cempedak. Pada penambahan ion Fe³⁺, Na⁺ dan Ba²⁺ aktivitas menurun menjadi berturut-turut sebesar 57,98%; 63,03% dan 93,28% sedangkan pada penambahan ion Mg²⁺ dan K⁺ aktivitas enzim lipase meningkat menjadi berturut-turut sebesar 131,09% dan 101,68%.

Kata kunci: Kecambah biji cempedak (Artocarpus integer (Thunb.) Merr.), Lipase, Ion logam.

PENDAHULUAN

Artocarpus integer atau cempedak merupakan tumbuhan berbuah dari famili moraceae. Buah ini banyak ditemukan di daerah Kalimantan, Jawa dan Sumatera. Kalimantan adalah salah satu daerah penghasil cempedak cukup besar di Indonesia [1]. Salah satu cara untuk meningkatkan nilai ekonomis dari buah tersebut adalah dengan memanfaatkan kecambah biji cempedak sebagai sumber lipase.

Dalam perkecambahan biji tanaman, secara bersaman enzim-enzim diproduksi untuk

merombak senyawa-senyawa organik seperti protein, karbohidrat dan lipid. Lipase merupakan salah satu enzim yang diproduksi untuk merombak lipid menjadi energi pada biji tanaman [2]

Dalam aktivitas enzimatis ion metal merupakan salah satu bentuk kofaktor yang diperlukan pada beberapa enzim. Ion metal akan membantu reaksi enzimatis dengan membentuk ikatan koordinasi pada sisi aktif enzim dan pada saat yang sama membentuk satu atau lebih ikatan koordinasi pula dengan substrat. Adanya ikatan tersebut akan membantu polarisasi di dalam substrat, sehingga dapat dipecah oleh enzim [3]

Perbedaan komposisi asam amino pada struktur lipase menyebabkan interaksi antara logam berbeda pada tiap-tiap lipase. Pada penelitian Ghori [4] Mn^{2+} , Fe^{2+} dan Mg^{2+} meningkatkan aktivitas lipase yang menunjukkan bahwa ion-ion ini tidak bersaing dengan enzim, sedangkan Cu²⁺, Na⁺ dan Co²⁺ menghambat yang aktivitas enzim menunjukkan penghambatan kompetitif membuat aktivitas katalitik enzim menjadi berkurang. Di sisi lain, K⁺ tidak berpengaruh signifikan pada aktivitas enzim. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi lipase dari kecambah biji cempedak dan mengetahui pengaruh ion logam (Na⁺, K⁺, Ba²⁺, Mg²⁺ dan Fe³⁺) terhadap aktivitas ekstrak kasar lipase.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2020 di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik, blender, corong kaca, Erlenmeyer, buret, pipet volume, bulp, pipet mikro (20-200) μ L, tip, tabung mikro, pipet tetes, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, waterbath and shaker, spatula, blender, kain kassa.

Bahan yang digunakan antara lain kecambah biji Cempedak, akuades, buffer asetat, buffer fosfat, gum arab, etanol, aseton, indikator phenolphthalein (PP), KOH 0,02 M, H₂C₂O₄ 1 M, NaCl, KCl, BaCl₂, MgCl₂, FeCl₃.

Proses perkecambahan biji Cempedak sesuai dengan metode Lempang [5]. Penentuan aktivitas lipase dilakukan secara kuantitatif dengan titrimetri berdasarkan metode Lienfield [6]. Kecambah biji cempedak yang telah tumbuh, dibersihkan, dihaluskan, ditambahkan larutan buffer fosfat 0,1 M pH 7 yang telah didinginkan terlebih dahulu. kemudian diblender hingga halus, disaring dan residu dibuang. Penyaringan dilakukan sebanyak dua kali dalam kondisi suhu 4° C. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar enzim.

Pengaruh ion terhadap aktivitas lipase dilakukan dengan menyiapkan 1 mL ekstrak kasar lipase kemudian ditambahkan dengan 120 μL larutan logam (NaCl, KCl, BaCl₂, MgCl₂ dan FeCl₃ 0,1 M) pada wadah yang berbeda, sedangkan enzim tanpa logam ditambahkan 120μL akuades sebagai pengganti larutan logam kemudian di inkubasi selama 120 menit [7].

Aktvitas lipase diukur berdasarkan kadar asam lemak yang dibebaskan dari substrat yakni minyak zaitun pada proses enzimatis oleh lipid. Asam lemak yang diukur secara titrimetri oleh KOH 0,02 N. Kemudian dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$Aktivitas\ Lipase\ (U/mL) = \frac{(A\text{-}B) \times N\ KOH \times 1000}{V \times t}$$

Dengan: A= ml KOH untuk titrasi sampel, B = mL KOH untuk titrasi blanko, faktor 1000 untuk konversi dari mmol ke μ mol, V untuk volume enzim (0,5 mL), dan t untuk waktu reaksi (30 menit).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan aktivitas lipase dengan penambahan ion logam dilakukan untuk mengetahui pengaruh paparan ion logam terhadap kestabilan lipase dari kecambah biji cempedak dalam menghidrolisis minyak zaitun. Pengaruh beberapa ion logam terhadap kestabilan lipase dari kecambah biji cempedak ditampilkan pada tabel dibawah ini

Tabel 1. Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Relatif Lipase

Ion Logam	AktivitasLipase (U/mL)	Aktivitas Relatif (%)
Tanpa Logam	5,88	100
$\frac{\mathrm{Mg}^{2^{+}}}{\mathrm{Fe}^{3^{+}}}$	7,7	131,09
	3,41	57,98
Na ⁺	3,70	63,03
Ba^{2+}	5,48	93,28
\mathbf{K}^{+}	5,97	101,68

Berdasarkan Tabel 1 ion logam Fe³⁺, Na⁺ dan Ba²⁺ dalam bentuk senyawa (FeCl₃, NaCl dan BaCl₂) menurunkan aktivitas relatif lipase. Pada penambahan NaCl, Na⁺ bersifat inhibitor terhadap lipase dari kecambah biji cempedak, kondisi ini sama dengan lipase yang dihasilkan dari *Caesalpinia bonducella* L pada peneilitian Pahoja [9] dimana Na⁺ menghambat aktivitas lipase menjadi 10,13%. Pada penambahan BaCl₂, Ba²⁺ menurunkan aktifitas relatif lipase menjadi 93,28% hal ini menunjukkan bahwa ion logam tersebut bersifat sebagai inhibitor. Sari [10] menyebutkan ion Ba²⁺ dari isolat bakteri endofit batang *Costus specious* (J.Koenig) menurunkan aktivitas relatif lipase menjadi 90,31%. Menurut

Saryono [11] inhibitor enzim adalah senyawa yang dapat merubah sisi aktif dari suatu enzim akibat adanya interaksi antara logam dengan enzim sehingga akan menurunkan aktivitas enzim. Pada FeCl₃ aktivitas lipase turun sebesar 57,98% hal ini disebabkan FeCl₃ merupakan suatu logam berat yang dapat mendenaturasi suatu protein dalam hal ini merupakan lipase. Hasil ini didukung oleh penelitian Su'i [12] bahwa ion Fe³⁺ menghambat aktivitas lipase dari kentos kelapa sebesar 52,16%.

Pada Tabel 1 ion logam Mg²⁺ dan K⁺ dalam bentuk senyawa (MgCl₂ dan KCl) meningkatkan aktivitas relatif lipase. Menurut Lestari [13] kofaktor pada umumnya merupakan molekul anorganik yang berikatan dengan enzim untuk menjaga bentuk sisi aktif enzim agar berada pada struktur yang sangat sesuai sehingga, enzim tersebut dapat berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim substrat. Menurut Ghori [14] Mg²⁺ meningkatkan aktivitas lipase dari Bacillus sp yang diisolasi dari limbah penyamakan kulit. Hal ini menunjukkan bahwa ion ini tidak bersaing dengan enzim, sedangkan pada K⁺ tidak berpengaruh signifikan pada aktivitas enzim. Menurut Susanti dan Fibrina [15] Ion metal akan membentuk ikatan koordinasi dengan rantai spesfik pada sisi aktif enzim dan lomembentuk satu atau lebih ikatan koordinasi dengan substrat. Adanya ikatan tersebut akan membantu polarisasi di dalam substrat, sehingga dapat dipecah oleh enzim.

Ion logam adalah salah satu bentuk kofaktor yang dibutuhkan dalam aktivitas enzim tertentu. Ion logam akan membentuk ikatan koordinasi dengan rantai protein enzim secara spesfik pada sisi aktif dan juga membentuk satu atau lebih ikatan koordinasi dengan substrat. Ikatan koordinasi adalah ikatan kovalen yang terjadi dimana elektron dalam pasangan elektron yang digunakan bersama berasal dari salah satu atom yang berikatan, dalam hal ini adalah antara oksigen dan nitrogen pada protein enzim dengan ion logam tertentu. Adanya ikatan tersebut akan membantu polarisasi di dalam substrat, sehingga dapat dipecah oleh enzim [8]. Perbedaan komposisi asam amino pada struktur lipase menyebabkan interaksi antara logam berbeda pada tiap-tiap lipase.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan jenis ion logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari ekstrak kasar kecambah biji cempedak. Ion Fe³⁺, Na⁺ dan Ba²⁺ menurunkan aktivitas enzim lipase yakni berturut-turut sebesar 57,98%; 63,03% dan 93,28%. Sedangkan Mg²⁺ dan K⁺ meningkatkan aktivitas enzim lipase yakni berturut-turut sebesar 131,09% dan 101,68%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Subdirektorat Statistik Holtikultura. (2015). Indikator Pertanian (Agricultural Indicators) 2015/2016. *Jakarta: Badan Pusat Statistik*.
- [2] Bahri, S., Mirzan, M., Hasan, M. (2012). Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina* L.). J. *Natural Science.*, Vol. 1.(1) 132-143.
- [3] Susanti, R., dan Fibriana, F. (2017). Teknologi Enzim. *Yogyakarta: Andi*.
- [4] Ghori, M, I., Iqbal, M, J., Hameed, A. (2011). Characterization Of A Novel Lipase From *Bacillus Sp.* Isolated From Tannery Wastes. *J. Microbiol. vol.42 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2011.*
- [5] Lempang, M., Mangopan, A.D., Palalunan. (2012). Sifat dasar dan kegunaan kayu Sulawesi. *Laporan penelitian Balai Penelitian Kehutanan Makassar*.
- [6] Linfield., dkk. (1984). Lipid-lipase Interaction I. Fat Splitting with *Candida rugosa. JAOCS*, 61(6), 1067-1071.
- [7] Zusfahair., Setyaningtyas, T., Fatoni, A. (2008). Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Lipase Bakteri Hasil Skrining dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *Jurnal Natur Indonesia* 12(2), April 2010: 124-129 ISSN 1410-9379.
- [8] Susanti, R., dan Fibriana, F. (2017). Teknologi Enzim. *Yogyakarta: Andi*.
- [9] Pahoja, VM., Dahot, MU., Sethar, MA. (2001). Characteristic Properties of Lipase Crude Extract of *Caesalpinia bounducella* L. Seeds. *Journal of Biological Sciences 1* (8), 775-778.
- [10] Sari, AK., Astuti, W., Pratiwi, DR. (2020). Skrining Lipase dari Isolat Bakteri Endofit Batang Pacing (*Costus speciosus* (J.Koenig)) dan Penentuan Kondisi Kerja Optimumnya. *Jurnal Atomik Vol 5 No.1*.
- [11] Saryono. (2011). Biokimia Enzim. *Yogyakarta: Nuha Medika*.
- [12] Su'i, M. (2010). Pengaruh Ion Logam (Fe, Na Dan Ca) Terhadap Aktivitas Lipase

- Kasar dari Kentos Kelapa. *Jurnal Agrika*, *Volume 4 No.2*.
- [13] Lestari, P., Handayani, SN., Oedjijono. (2009). Sifat-Sifat Biokimiawi Ekstrak Kasar Lipase Ekstraseluler dari Bakteri *Azospirilum. JG3. Molekul, Vol. 4*(2), *Hal 73-82*.
- [14] Ghori, M, I., Iqbal, M, J., Hameed, A. (2011). Characterization Of A Novel Lipase From *Bacillus Sp.* Isolated From Tannery Wastes. *J. Microbiol. vol.42 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2011*
- [15] Susanti, R., dan Fibriana, F. (2017). Teknologi Enzim. *Yogyakarta: Andi*