

# PENENTUAN pH DAN SUHU OPTIMUM UNTUK AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM LIPASE DARI KECAMBAH BIJI KARET (*Hevea brasiliensis*) TERHADAP HIDROLISIS PKO (*Palm Kernel Oil*)

Rizki Amalia Nst, Rumondang Bulan, Firman Sebayang

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sumatera Utara  
Jl. Bioteknologi No. 1 Medan

## Abstract

Determination of optimum pH and temperature for crude lipase enzyme activity from rubber seeds germination had been conducted. Rubber seed germination made by soaking time process, seed separation with shell's and seed germination in temperature 27-30°C during 6 days. Crude lipase enzyme was obtained by two times centrifugations with the speed of rotation at 5000 rpm and 10000 rpm during 30 minutes by adding acetone 70%. The crude enzyme is diluted with phosphate buffer pH 7,0. The activity test of crude lipase enzyme is done by measurement of free fatty acid levels is obtained from hydrolysis process of PKO as substrate by titrimetric method at temperature variation 40; 45; 50; 55; 60°C and pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0. The result shows that the highest activity is 2,432 U/mL at pH optimum 7,0 and temperature optimum 40°C.

Keywords : pH, Temperature, Activity, Lipase, Rubber Seed.

## 1. Pendahuluan

Sesuai dengan nama latin yang disandangnya tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) berasal dari Brazil. Hasil utama dari tanaman karet yang sering dimanfaatkan ialah karet alam (lateks) yang digunakan untuk membuat peralatan dalam kehidupan sehari-hari. Hasil sampingan lain dari perkebunan karet yang selama ini kurang dimanfaatkan hingga nyaris terbuang-buang begitu saja adalah biji karet.

Dikebanyakan perkebunan, biji karet hanya dibiarkan begitu saja jatuh dari pohonnya dan paling-paling hanya menjadi mainan anak-anak. Dengan luas areal tanaman karet terbesar di dunia, yaitu hampir mencapai 3 juta ha, dan bila 1 ha kebun mampu menghasilkan minimal 5000 butir biji karet setiap tahun, maka betapa banyaknya biji karet yang bisa diolah. Dilihat dari komposisi kimianya, ternyata kandungan protein biji karet terhitung tinggi. Dari analisis hasil diketahui kadar

proteinnya sebesar 27%, lemak 32,3%, air 3,6%, abu 2,4%, thiamin 450 µg, asam nikotinat 2,5 µg, karoten dan tokoferol 250 µg, dan sianida sebanyak 330 mg dari setiap 100 g bahan. (Tim Penulis PS, 1999)

Enzim lipase banyak terdapat pada biji-bijian yang mengandung minyak, seperti kacang kedelai, biji jarak, kelapa sawit, kelapa, biji bunga matahari, biji jagung, biji karet dan dedak padi serta beberapa jenis bakteri. (Arifan, F., 2011) Menurut J. Derek Bewley dan Michael Black, serta G. Ray Noggle dan George J. Fritz, ternyata didalam biji - bijian berkecambah terdapat beberapa enzim, salah satu diantaranya adalah enzim lipase (Bonner, 1976). Enzim lipase ini digunakan untuk menghasilkan asam lemak bebas, gliserol, berbagai ester, sebagian gliserida dan lemak yang dimodifikasi atau diesterifikasi dari substrat yang digunakan (Moentamaria, 2009).

Pada penelitian ini digunakan substrat minyak inti sawit (PKO) dikarenakan harganya yang terjangkau dan sering dijadikan sebagai bahan baku minyak nabati dalam proses hidrolisis menghasilkan gliserol dan dalam proses transesterifikasi menghasilkan biodiesel. Selain itu kelapa sawit merupakan salah satu komoditas utama perkebunan di Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik 2006-2010, produksi PKO di Indonesia tahun 2010 sebesar 4.150.257 ton dan menurut Hasil Pertanian dan Pertambangan di Sumatera Utara tahun 2010 sebesar 34.881 ton. Harga minyak kelapa sawit masih tergolong rendah sehingga diharapkan dapat ditingkatkan kualitasnya agar dapat bersaing di pasar Internasional ataupun diolah menjadi bahan-bahan lain yang lebih berguna seperti gliserin yang banyak digunakan dalam produk kosmetik.

Kebutuhan lipase setiap tahun meningkat yang digunakan untuk industri oleokimia, biodiesel dan temuan-temuan baru di bidang iptek yang menggunakan lipase lebih luas. Peningkatan permintaan lipase setiap tahun dan harganya yang relatif mahal mendorong penelitian untuk mendapatkan sumber lipase terutama yang

mempunyai sifat spesifik (Permana,M.,2009).

Peneliti – peneliti terdahulu telah banyak melakukan penelitian terhadap isolasi dan uji aktivitas enzim lipase dari biji yang berkecambah seperti kecambah biji wijen (*Sesamun Indicum*), kecambah biji jarak pagar (*Jatropha curcas L*), kecambah biji koro benguk (*Mucuna pruriens L.*), kecambah biji kakao (*Theobroma cacao L.*), dll. Diantaranya yaitu Nora Anggiani Siregar (2011) mengisolasi crude enzim lipase dari kecambah biji jarak kepyar (*Ricinus communis L*). Chusnul Hidayat, dkk (2008) telah mengisolasi enzim lipase dari kecambah biji jarak pagar (*Jatropha curcas*) yang digunakan untuk menentukan kondisi optimum proses esterifikasi asam oleat dengan metanol. Lutfi Suhendra, dkk (2007) telah menguji aktivitas hidrolisis dan esterifikasi lipase yang dihasilkan dari ekstrak kecambah biji wijen (*Sesamun Indicum*).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti ingin mengisolasi enzim lipase kasar dari kecambah biji karet (*Hevea brasiliensis*) dan menentukan pH dan suhu optimum terhadap hidrolisis dengan PKO (Palm Kernel Oil).

## 2. Metode Penelitian

### 2.1. Bahan-bahan

Biji Karet, Akuades, Etanol,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Indikator Fenolftalein, KOH(s), Asam Oksalat(s), Aseton, PKO (Palm Kernel Oil).

### 2.2. Alat-alat

Ball-Pipet, Blender, Botol Akuades, Buret, Centrifuge Hitachi, Gelas ukur, Gelas Beaker, Gelas Erlenmeyer, Kapas, Labu Takar, Neraca Analitis, pH meter, Pipet tetes, Pipet Volumetri, Statif dan Klem, Termostat, Termometer.

### 2.3. Prosedur Penelitian

#### 2.3.1. Pembuatan Larutan Pereaksi

##### 2.3.1.1. Pembuatan Indikator Fenolftalein 1%

Ditimbang 1 g indikator Fenolftalein dan dilarutkan dengan etanol dalam labu takar 100 mL sampai garis tanda.

##### 2.3.1.2. Pembuatan Larutan KOH 0,0912 N

###### a. Pembuatan Larutan KOH 0,0912 N

Ditimbang 5,61 g KOH dan dimasukkan kedalam labu takar 1000 mL, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga garis tanda, setelah itu dihomogenkan.

###### b. Standarisasi Larutan KOH 0,0912 N dengan Asam Oksalat

Ditimbang dengan teliti 0,63 g asam oksalat (BM = 126), kemudian dilarutkan dengan akuades dalam labu takar 100 mL. Dipipet sebanyak 10 mL dan ditambahkan 3 tetes indikator Fenolftalein kemudian dititrasi dengan larutan KOH yang akan distandarisasi hingga berubah warna menjadi merah lembayung. Hal yang sama dilakukan sebanyak 3 kali.

#### 2.3.2. Pembuatan Kecambah dari Biji Karet

Pembuatan kecambah biji karet sesuai dengan metode Abigor *et al.*, 2002 yang dimodifikasi. Direndam biji karet yang telah diseleksi selama  $\pm$  48 jam, kemudian dipisahkan antara cangkang dan biji bagian dalamnya. Kemudian diambil biji bagian dalamnya dan dikecambahkan dengan cara meletakkannya diatas kapas yang lembab pada suhu kamar selama 7 hari.

#### 2.3.3. Penyediaan Ekstrak Kasar enzim Lipase dari Kecambah Biji Karet

Ditimbang kecambah sebanyak 300 gram dan ditambahkan dengan buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 500 mL dan diblender hingga halus, kemudian disaring. Filtrat disentrifugasi pada 5000 rpm selama 30 menit. Dipipet Supernatan dan dijenuhkan dengan aseton 70%, kemudian didiamkan selama 1 malam pada suhu 4°C. Suspensi yang terbentuk disentrifugasi pada 10000 rpm selama 30 menit dan endapan yang dihasilkan dilarutkan dengan buffer fosfat pH 7,0.

#### 2.3.4. Penentuan Suhu Optimum Untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Pada Hidrolisis PKO

Ditimbang PKO sebanyak 1 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam 5 gelas Erlenmeyer, ditambahkan 4 mL buffer fosfat pH 7,0, ditambahkan 1 mL crude enzim lipase dan dipanaskan gelas Erlenmeyer dengan variasi suhu 30; 35; 40; 45; dan 50°C selama 60 menit, setelah itu ditambahkan 6 mL etanol:aseton (1:1) dan ditambahkan 3 tetes indikator Fenolftalein. Kemudian dititrasi dengan KOH 0,0912 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah lembayung, dan dicatat volume KOH 0,0912 N yang terpakai dan dihitung % ALB dan aktivitasnya.

### 2.3.5. Penentuan pH Optimum Untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Pada Hidrolisis PKO

Ditimbang PKO sebanyak 1 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam 5 gelas Erlenmeyer, ditambahkan 4 mL buffer fosfat dengan variasi pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0 dan ditambahkan 1 mL crude enzim lipase

dan dipanaskan pada suhu 40°C selama 60 menit, setelah itu ditambahkan 6 mL etanol:aseton (1:1) dan ditambahkan 3 tetes indikator Fenolftalein. Kemudian dititrasi dengan KOH 0,0912 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah lembayung, dicatat volume KOH 0,0912 N yang terpakai dan dihitung % ALB dan aktivitasnya.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Penentuan Suhu dan pH Optimum Untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Dari Kecambah Biji Karet Terhadap Hidrolisis PKO (Palm Kernel Oil)

**Tabel 1. Hasil perhitungan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase pada suhu 30-50°C**

Berat PKO (g)	Volume crude enzim lipase (mL)	Suhu (°C)	Volume KOH 0,0912 N (mL)		Kadar ALB (%)	Aktivitas (U/mL)
			Blanko	Substrat		
1,0	1	30	14,9	15,7	28,6797	1,216
1,0	1	35	15,0	16,3	29,7758	1,976
1,0	1	40	15,3	16,9	30,8718	2,432
1,0	1	45	15,4	16,4	29,9585	1,520
1,0	1	50	15,4	15,8	28,8624	0,608

**Tabel 2. Hasil perhitungan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase pada pH 6,0 -8,0**

Berat PKO (g)	Volume crude enzim lipase (mL)	pH	Volume KOH 0,0912 N (mL)		Kadar ALB (%)	Aktivitas (U/mL)
			Blanko	Substrat		
1,0	1	6,0	15,2	15,9	29,0451	1,064
1,0	1	6,5	15,2	16,1	29,4104	1,368
1,0	1	7,0	15,3	16,9	30,8718	2,432
1,0	1	7,5	15,2	16,4	29,9585	1,824
1,0	1	8,0	15,2	15,7	28,6797	0,760

Kadar ALB (asam lemak bebas) dapat diketahui berdasarkan volume (mL) KOH 0,0912 N yang dipakai untuk membebaskan 1 mg asam lemak bebas dari PKO yang dihidrolisis oleh ekstrak kasar enzim lipase.

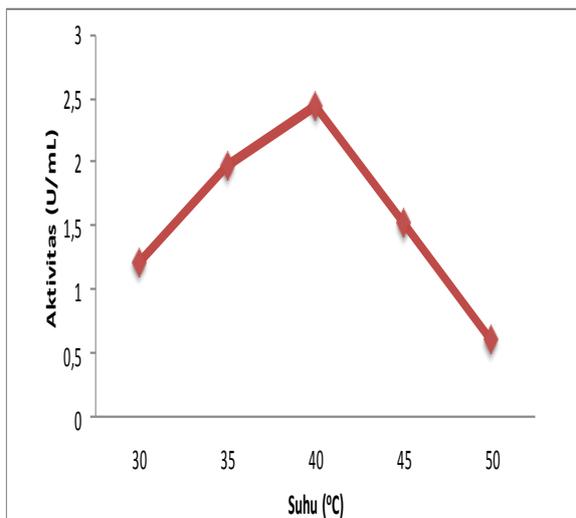
### 3.2. Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Karet (*Hevea brasiliensis*)

Ekstrak kasar enzim lipase diperoleh dari kecambah biji karet yang telah berumur 6 hari. Isolasi dilakukan dengan metode presipitasi dan sentrifugasi. Isolasi dilakukan dengan proses sentrifugasi sebanyak 2 kali dengan kecepatan putaran yang berbeda dan juga dengan penambahan aseton pada suhu

4°C. Sentrifugasi yang pertama dengan kecepatan 5000 rpm bertujuan untuk memisahkan filtrat dari residu. Dan sentrifugasi yang kedua dengan kecepatan putaran 10000 rpm digunakan untuk memisahkan partikel-partikel enzim dengan partikel-partikel yang bukan enzim (untuk memekatkan partikel-partikel enzim), setelah sebelumnya diendapkan dengan aseton 70 %. Aseton dapat mempengaruhi aktivitas air

dengan cara mereduksi kelarutan protein, sehingga terjadi agregasi dan pengendapan. Struktur air di sekeliling area hidrofobik pada permukaan protein dapat ditempati oleh molekul pelarut organik, sehingga agregasi terjadi akibat interaksi antara muatan berlawanan pada permukaan protein.

### 3.3. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Karet (*Hevea brasiliensis*) Pada Hidrolisis PKO



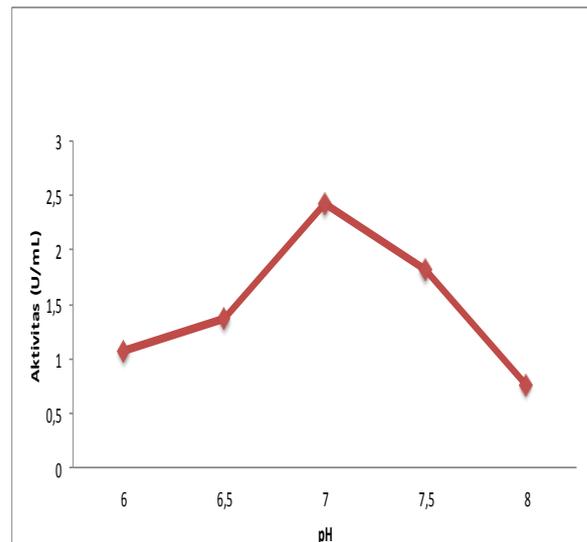
Gambar 1. Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase pada hidrolisis PKO (Aktivitas Vs Suhu)

Untuk menentukan temperatur optimum enzim hasil isolasi, variasi suhu yang digunakan adalah 30, 35, 40, 45 dan 50°C. Dari hasil pengujian yang dilakukan temperatur optimum ekstrak kasar lipase ialah 40°C dengan aktivitas sebesar 2,432 Unit/mL seperti yang tertera pada gambar 4.2. Pada temperatur kurang dari 40°C enzim cukup stabil, tetapi hidrolisis substrat PKO oleh enzim tidak berjalan dengan maksimal. Dengan semakin meningkatnya temperatur, energi kinetik molekul-molekul yang bereaksi bertambah sehingga molekul yang bereaksi semakin banyak dan produk yang dihasilkan semakin besar. Diatas suhu 40°C, aktivitas enzim menurun secara drastis, hal ini karena enzim mengalami denaturasi protein yang dapat merubah konformasi struktur molekul sehingga enzim kehilangan sifat katalitiknya. Pada suhu

45°C aktivitas enzim mulai menurun yaitu sebesar 1,520 Unit/mL dan semakin menurun pada suhu 50°C dengan aktivitas sebesar 0,608 Unit/mL.

### 3.4. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Karet (*Hevea brasiliensis*) Pada hidrolisis PKO

Selain pada suhu, enzim juga sangat bergantung pada pH. Enzim akan aktif pada kisaran pH yang terbatas. Dan enzim akan bekerja dengan maksimal pada pH optimum. Pengaruh pH terhadap Aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari kecambah biji karet pada hidrolisis PKO dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. Kurva Pengaruh pH terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase pada hidrolisis PKO (Aktivitas Vs pH)

Untuk menentukan pH optimum enzim lipase hasil isolasi, variasi pH yang digunakan adalah 6, 6,5, 7,0, 7,5 dan 8,0. Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa aktivitas ekstrak kasar enzim lipase bervariasi dengan adanya perubahan pH. Hal ini terjadi karena adanya perubahan struktur sekunder dan tersier dari enzim. Dengan semakin meningkatnya pH, aktivitas lipase juga meningkat. Peningkatan aktivitas enzim sampai mencapai pH optimum yaitu dari pH 6,0, 6,5 dan meningkat dengan tajam pada pH 7,0 dan mulai menurun pada pH 7,5 dan begitu juga pada pH 8,0. Pada pH yang optimum muatan gugus

samping asam amino berada pada keadaan yang sesuai sehingga enzim sangat efisien dalam mempercepat reaksi yang sangat spesifik. Aktivitas optimum lipase dicapai pada pH 7,0 yaitu sebesar 2,432 Unit/mL. Hal ini disebabkan

karena pada kondisi pH 7,0, gugus pemberi dan penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada pada kondisi yang tepat sehingga aktivitas katalitiknya tinggi.

#### 4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai isolasi dan uji aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari kecambah biji karet dapat disimpulkan sebagai berikut :

- a. Isolasi ekstrak kasar enzim lipase dilakukan menggunakan metode presipitasi dan sentrifugasi dengan penambahan aseton pada suhu 4°C untuk mengendapkan protein dan memisahkan enzim dari senyawa non-enzim.
- b. Suhu dan pH optimum untuk aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari kecambah biji karet adalah 40°C dan 7,0 dengan nilai aktivitas tertinggi yaitu 2,432 Unit/mL.

#### Daftar Pustaka

- Abigor, R. D. 2002. *Partial Purification and Properties of Lipase from Germinating Seeds of *Jatropha Curcas L.** J. Am Oil. Soc, 79 : hal. 1123-1126
- Arifan, F., Yulianto, M.E., Wikanta, D.K., dan Damayanti, N. 2011. *Pengembangan Bioreaktor Enzimatik Untuk Produksi Asam Lemak dari Hasil Samping Penggilingan Padi Secara In Situ.* Jurusan Teknik Kimia PSD III UNDIP. Semarang.
- Bonner, J., and Varne, J. 1976. *Plant Biochemistry.* Third Edition. New York : Academic Press.
- Hidayat, C., Kuntoro, M.D., Hastuti, P., Sumangat, D., Hidayat, T. 2008. *Optimasi Sintesis Metil Oleat Menggunakan Biokatalis Lipase Dari Kecambah Biji *Jatropha curcas L.** Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Moentamaria, D. 2009. *Kajian Awal Pembuatan Biokatalisator Lipase Teramobil Dari *Mucor Miehei* Untuk Pengolahan Minyak Randu Menjadi Biodiesel.* Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Malang.
- Permana, M., dan Suhendra, L. 2009. *Aktivitas Spesifik Lipase Indigenous Pada Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*)*. Fakultas Teknologi Pertanian UNUD. Bali.
- Siregar, N. A. 2011. *Penentuan pH dan Suhu Optimum untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Jarak Kepyar (*Ricinus communis L*) Terhadap Hidrolisis Minyak Wijen.* Skripsi S1. Jurusan Kimia. Medan : FMIPA USU.
- Suhendra, L., Tranggono., dan Hidayat, C. 2007. *Aktivitas Hidrolisis dan Esterifikasi Lipase Ekstrak Kecambah Biji Wijen (*Sesamun indicum*)*. Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Tim Penulis PS. *Karet : Budi Daya Pengolahan dan Strategi Pemasaran.* Cetakan 6. Jakarta : Penebar Swadaya

