

PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BUAH KELAPA SELAMA PERTUNASAN

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

¹ Dosen Teknologi Hasil Pertanian Universitas Widyagama Malang

² Dosen Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

³ Dosen FMIPA Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

This research learned about lipases activity from coconut during germination. Coconut was growth for 0, 15, 30, 45 and 60 days in the darkplace and rate temperature. Shoot, houstorium, radicles and endosperm were taken and then they were measured weigh and long. Lipases was extracted from each of them and measured volume and activity. The results of research showd that highest lipases activity was in shoot that were grew for 45 days with enzyme activity was 0,060 unit/mg protein.

Key words: coconut, germination, Lipases

PENGANTAR

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

Lipase banyak ditemukan dalam tanaman, hewan atau mikroorganisme (Sana *et al.*, 2004). Saat ini, tanaman sebagai sumber lipase 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. 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).

Lipase dalam biji minyak sawit banyak terdapat dalam tunas dan sangat sedikit dalam kernel. Aktivitas lipase dalam tunas adalah 1090 nmol/jam dan dalam kernel 13 nmol/jam. Sedangkan dalam houstorium tidak ada sama sekali aktivitas lipase. Aktivitas optimal lipase dari tunas diperoleh pada pH 6,2 (Oo dan Stumpf, 1983).

Sumber lipase lain yang sangat potensial adalah buah kelapa. Hal ini karena buah kelapa banyak mengandung minyak sebagaimana sumber lipase lainnya. Akan tetapi sampai saat ini, informasi lipase dari buah kelapa belum banyak dilaporkan.

Apabila lipase dari kelapa ini bisa diisolasi dan aktivitasnya tinggi, maka enzim tersebut dapat digunakan untuk menghidrolisa minyak kelapa menghasilkan asam laurat. Asam laurat banyak dibutuhkan sebagai bahan pembuatan anti biotik yang selama ini masih diimpor.

Permasalahannya adalah berapa hari pertunasan kelapa yang optimal sehingga diperoleh lipase dengan aktivitas tinggi. Disamping itu, bagian mana dari buah kelapa yang aktivitas lipasanya paling tinggi. Apakah di bagian tunas, calon akar, kentos atau dalam endosperm.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari–Juli 2007 di laboratorium Pengolahan Universitas Widya Gama Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, pipet mikro, penyaring plastik, pisau stainless steel, alat parut stainless steel, mortar, lemari pendingin, freezer, sentrifus dingin, neraca analitik, oven, pH-meter (Orion 201), higrometer, termometer ruang, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa varitas dalam dari Lawang Kabupaten Malang, aquades, air destilasi bebas ion. Bahan kimia antara lain etanol 95%, CaCl₂, K₂HPO₄, KH₂PO₄, para-Nitro Phenil Laurat

(pNPL), *para-Nitro Phenol* (pNP), aseton absolut, bovin serum albumin (BSA).

Pertunasan kelapa menggunakan metode Oo and Stumpf (1983) yang dimodifikasi. Kelapa yang sudah kering dipohon dipilih sebagai bahan penelitian. Kulit tangkai kelapa yang menutupi sabut bagian atas dibuka agar pertunasan tidak terganggu. Sebagian sabut dilepas untuk memantau saat mulai bertunas (sabut yang menutupi tempat tunas jangan dilepas). Kelapa disimpan di ruang gelap pada suhu ruang (25° C). Untuk menjaga kelembaban kelapa, ruang penyimpanan diberi kain tebal atau goni yang dibasahi dengan air (bak berisi air dihubungkan dengan goni). Kelapa ditunaskan (digerminasi) selama 0, 15, 30, 45, dan 60 hari. Perhitungan lama germinasi didasarkan pada saat mulai muncul tunas pada kelapa. Setelah mencapai lama germinasi, masing-masing bagian kelapa (tunas, akar, kentos dan daging buah) dipisahkan. Selanjutnya diukur dan ditimbang berat masing-masing bagian tersebut. Masing-masing bagian diisolasi lipasanya kemudian diukur aktivitas enzimnya.

Isolasi lipase dengan metode Sana *et al.* (2004) yang dimodifikasi. Sabut dan tempurung kelapa dibuang dengan hati-hati agar tidak merusak kentos, tunas, dan akar. Masing-masing jaringan kelapa kemudian disimpan pada suhu 4° C. Masing-masing sampel diambil 5 gram dan ditambahkan larutan bufer fosfat 5 mM 12,5 ml yang sudah didinginkan kemudian dihancurkan dengan mortar. Suspensi disentrifus pada 8000 gram suhu 4° C selama 20 menit. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam gelas Beker. Endapan ditambah lagi bufer fosfat yang sama 12,5 ml kemudian disentrifus lagi. Supernatan digabung dengan sebelumnya. Supernatan yang diperoleh merupakan enzim kasar yang siap diuji aktivitas lipase.

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

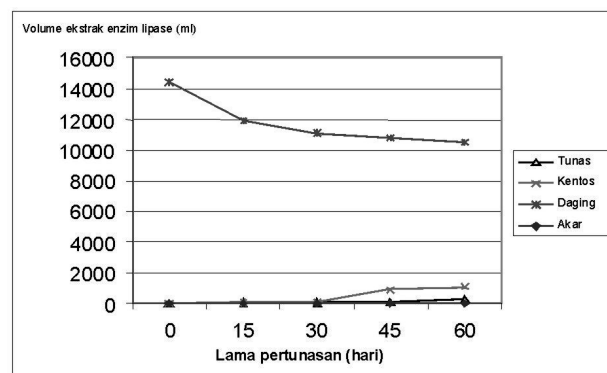
Jumlah Ekstrak Enzim Lipase Tiap Butir Kelapa

Jumlah ekstrak enzim lipase yang diperoleh selama ekstraksi berbeda untuk masing-masing bagian kelapa. Selama pertunasan hingga 60 hari, terjadi peningkatan jumlah ekstrak enzim lipase yang diperoleh dari tunas, kentos maupun akar. Tetapi pada daging buah, jumlah ekstrak makin berkurang selama pertunasan. Jumlah ekstrak

enzim kasar enzim tiap butir kelapa pada masing-masing bagian kelapa selama pertunasan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Jumlah ekstrak enzim lipase tiap butir kelapa pada masing-masing bagian kelapa selama pertunasan

| Lama pertunasan (hari) | Sumber Enzim | Jumlah ekstrak enzim lipase (ml) |
|------------------------|--------------|----------------------------------|
| 0 | Tunas | Belum muncul tunas |
| | Kentos | Belum muncul kentos |
| | Daging | 2883,867 |
| | Akar | Belum muncul akar |
| 15 | Tunas | 7,933333 |
| | Kentos | 8,708333 |
| | Daging | 2377,917 |
| 30 | Tunas | 17,36667 |
| | Kentos | 31,99167 |
| | Daging | 2217,417 |
| 45 | Tunas | 23,54167 |
| | Kentos | 186,225 |
| | Daging | 2160,467 |
| 60 | Tunas | 51,51667 |
| | Kentos | 220,3417 |
| | Daging | 2112,283 |
| | Akar | 6,083333 |



Gambar 1. Volume ekstrak enzim lipase masing-masing bagian kelapa selama pertunasan

Peningkatan jumlah ekstrak enzim dari tunas, kentos dan akar terjadi karena terjadi penambahan berat tunas, kentos, dan akar selama pertunasan. Jika berat tunas, kentos, dan akar makin meningkat, maka jumlah ekstrak enzim

juga mengalami peningkatan. Hal ini karena dalam proses ekstraksi enzim ditambahkan larutan bufer lima kali berat bahan pada setiap sampel.

Pertumbuhan tunas kelapa menurut Bewley and Black (1985) terjadi karena proses katabolisme lemak sebagai cadangan makanan menjadi senyawa heksosa yang digunakan untuk pembentukan tunas. Acquah (2005) menambahkan bahwa, selama pertunasan terjadi metabolisme cadangan makanan untuk membentuk sel baru atau jaringan baru.

Peningkatan berat kentos dijelaskan oleh Simpson and Ogorzaly (2001) bahwa, pangkal embrio dari kelapa akan tumbuh membentuk kentos yang mengisi rongga dalam kelapa selama pertunasan. Organ ini berfungsi sebagai pengadsorpsi nutrisi dalam daging buah kelapa.

Ekstrak enzim dari daging buah mengalami penurunan selama pertunasan. Hal ini karena daging buah mengalami penurunan berat selama pertunasan karena cadangan makanan dalam daging buah yang berupa lemak untuk selanjutnya dihidrolisa oleh enzim lipase menjadi asam lemak. Asam lemak yang terbentuk kemudian masuk dalam siklus katabolisme sehingga dihasilkan heksosa yang diperlukan untuk penyusun selulosa (Bewley and Black, 2001).

Untuk setiap butir kelapa, endosperm menghasilkan jumlah ekstrak enzim kasar paling tinggi dan akar yang paling rendah. Hal ini karena daging buah berat tiap butirnya paling tinggi. Meskipun demikian, jumlah ekstrak enzim lipase yang tinggi belum tentu mempunyai aktivitas enzim yang tinggi pula. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas enzim lipase dari masing-masing ekstrak enzim yang diperoleh.

Aktivitas Spesifik Enzim Lipase

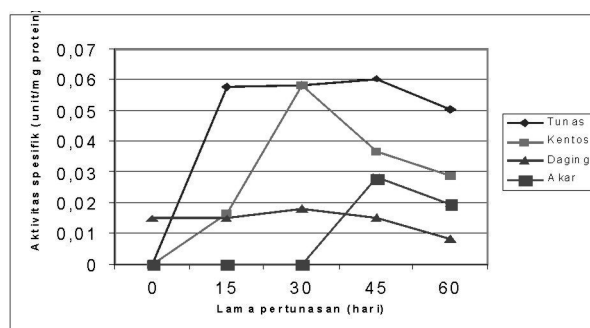
Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit. Satu unit enzim didefinisikan sejumlah enzim yang mampu menghasilkan 1 umol produk tiap jam pada kondisi optimum. Aktivitas enzim lipase dalam penelitian ini dinyatakan dalam aktivitas spesifik dan aktivitas total. Aktivitas spesifik, yaitu unit enzim yang terdapat dalam setiap mg protein. Aktivitas spesifik dapat dijadikan tolak ukur kemurnian suatu enzim. Enzim dengan aktivitas spesifik yang tinggi menunjukkan tingkat kemurnian enzim tersebut tinggi. Sedangkan aktivitas total adalah seluruh unit enzim yang bisa diekstraksi dari sampel.

Aktivitas spesifik enzim lipase dari setiap bagian kelapa (tunas, kentos, daging buah dan akar) selama pertunasan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Aktivitas spesifik enzim lipase pada setiap bagian kelapa selama pertunasan.

| Lama pertunasan (hari) | Sumber Enzim | Aktivitas spesifik enzim (unit/mg protein) |
|------------------------|--------------|--|
| 0 | Tunas | - |
| | Kentos | - |
| | Daging | 0,015 |
| | Akar | - |
| 15 | Tunas | 0,058 |
| | Kentos | 0,017 |
| | Daging | 0,015 |
| | Akar | - |
| 30 | Tunas | 0,058 |
| | Kentos | 0,058 |
| | Daging | 0,018 |
| | Akar | - |
| 45 | Tunas | 0,060 |
| | Kentos | 0,037 |
| | Daging | 0,015 |
| | Akar | 0,028 |
| 60 | Tunas | 0,050 |
| | Kentos | 0,029 |
| | Daging | 0,008 |
| | Akar | 0,019 |

Keterangan: 1 unit adalah 1 umol *para Nitro Phenol* yang dilepaskan oleh 1 ml enzim tiap jam pada pH 7 suhu 60° C



Gambar 2. Aktivitas spesifik enzim lipase pada masing-masing bagian kelapa selama pertunasan

Aktivitas spesifik enzim lipase kelapa meningkat selama pertunasan hingga lama pertunasan tertentu kemudian setelah itu aktivitas spesifik menurun. Pada tunas dan akar, peningkatan aktivitas spesifik lipase terjadi hingga hari ke-45, kemudian menurun pada hari ke-60. Sedangkan pada bagian kentos dan daging buah aktivitas spesifik maksimum pada hari ke-30, kemudian menurun hingga hari ke-60.

Penelitian Sana *et al.* (2004) menghasilkan fenomena yang sama yaitu, aktivitas enzim lipase *Brassica napus* L. mengalami peningkatan hingga perkecambahan 40 jam, kemudian setelah itu menurun dengan cepat. Hal yang sama juga terjadi pada biji sawit. Aktivitas enzim lipase paling tinggi terjadi pada biji yang ditunaskan selama 21 hari di tempat gelap (Oo and Stumpf, 1983).

Pada awal pertunasan, aktivitas lipase mengalami peningkatan karena saat itu terjadi pembentukan enzim lipase untuk mengurai cadangan makanan dalam kelapa yang sebagian besar berupa lemak menjadi heksosa yang digunakan untuk pembentukan tunas (Bewley and Black, 1985).

Setelah lama pertunasan tertentu, aktivitas lipase akan menurun. Hal ini diduga substrat yang akan dihidrolisa jumlahnya sudah berkurang. Penelitian Villalobos *et al.* (2001) menyebutkan bahwa jumlah asam lemak dalam daging buah kelapa mengalami penurunan selama pertunasan.

Dari semua bagian kelapa, tunas kelapa umur 45 hari mempunyai aktivitas enzim tertinggi yaitu 0,060 unit/mg protein. Kentos umur 30 hari menempati urutan kedua dengan aktivitas 0,058 unit/mg protein. Akar dan daging buah masing-masing menempati urutan ketiga dan keempat dengan aktivitas berturut-turut 0,028 unit/mg protein dan 0,018 unit/mg protein.

Hasil penelitian Oo and Stumpf (1983) menyebutkan bahwa aktivitas lipase biji sawit tertinggi pada bagian tunas. Kentos dan daging biji menempati urutan kedua dan ketiga. Dengan demikian, kelapa maupun kelapa sawit yang ditunaskan mempunyai aktivitas lipase tertinggi pada bagian tunas.

Total Aktivitas Enzim Lipase Tiap Butir Kelapa

Aktivitas tiap butir ditentukan oleh aktivitas enzim dan jumlah ekstrak enzim lipase yang diperoleh dari setiap butir kelapa. Hasil penelitian diperoleh bahwa, daging buah menghasilkan total aktivitas enzim lipase tiap butir paling tinggi kemudian diikuti kentos, tunas, dan paling rendah akar. Total aktivitas enzim lipase daging buah, kentos, tunas, dan akar dalam setiap butir kelapa yang ditunaskan selama 45 hari masing-masing 284,154 unit/butir, 34,493 unit/butir, 7,953 unit/butir dan 0,558 unit/butir (Tabel 3 dan Gambar 3).

Daging buah mempunyai total aktivitas lipase tiap butir paling tinggi karena daging buah. Hal ini karena

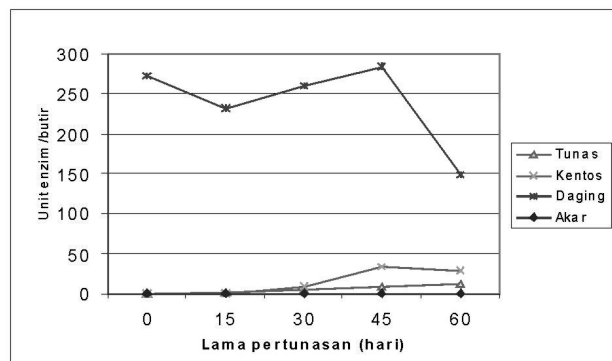
daging buah kelapa memiliki berat paling tinggi sehingga menghasilkan ekstrak enzim jauh lebih banyak dibanding bagian lainnya. Disamping jumlah ekstrak enzimnya paling tinggi, daging buah juga memiliki aktivitas enzim yang cukup tinggi pula.

Sedangkan tunas, meskipun aktivitas enzim lipasanya paling tinggi, tetapi karena jumlah ekstrak enzim pada tunas sangat sedikit sehingga total aktivitas enzim lipase untuk setiap butir kelapa masih lebih rendah dibandingkan daging buah dan kentos.

Dengan demikian, daging buah menghasilkan enzim lipase (total aktivitas) paling banyak dibanding bagian lain dari buah kelapa. Sedangkan kentos dan tunas kelapa menghasilkan enzim lipase dengan tingkat kemurnian yang tinggi meskipun total enzimnya lebih rendah. Untuk mendapatkan enzim lipase yang lebih murni, maka enzim lipase dari daging buah kelapa harus melalui tahap pemurnian terlebih dahulu.

Tabel 3. Total aktivitas enzim lipase tiap butir pada masing-masing bagian kelapa selama pertunasan

| Lama pertunasan (hari) | Sumber Enzim | Total aktivitas enzim tiap butir (unit/butir) |
|------------------------|--------------|---|
| 0 | Tunas | |
| | Kentos | |
| | Daging | 272,8984 |
| 15 | Akar | 0 |
| | Tunas | 1,887432 |
| | Kentos | 0,504742 |
| 30 | Daging | 232,2368 |
| | Akar | 0 |
| | Tunas | 4,937259 |
| 45 | Kentos | 8,986406 |
| | Daging | 258,996 |
| | Akar | 0 |
| 60 | Tunas | 7,952842 |
| | Kentos | 34,49255 |
| | Daging | 284,1537 |
| 60 | Akar | 0,558042 |
| | Tunas | 12,28338 |
| | Kentos | 28,90706 |
| 60 | Daging | 148,078 |
| | Akar | 0,206583 |



Gambar 3. Total aktivitas enzim lipase tiap butir kelapa pada masing-masing bagian kelapa selama pertunasan

Kesimpulannya, semua bagian kelapa (tunas, daging buah dan akar) memiliki aktivitas enzim lipase. Tunas, daging buah dan akar memiliki aktivitas spesifik tertinggi pada 45 hari. Sedangkan kentos, aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada pertunasan 30 hari. Dari seluruh bagian kelapa, tunas umur 30 dan 45 hari serta kentos umur 30 hari memiliki aktivitas spesifik enzim lipase yang tertinggi. Total aktivitas enzim lipase tiap butir kelapa tertinggi pada daging buah kelapa.

Berdasarkan hasil penelitian sebaiknya melakukan karakterisasi lipase kelapa, yaitu kondisi optimum enzim meliputi pH optimum, suhu optimum, dan waktu inkubasi optimum.

KEPUSTAKAAN

- Acquaah G, 2005. Horticulture: Principles and Practices, 3rd edition, Pearson Education Inc., London.
- Bewley JD and Black M, 1985. Seeds Physiology of Development and Germination, Plenum Press, New York.
- Bhardwaj K, A Raju, and Raja SR, 2001. Identification, Purification and Characterization of a Thermally Stable Lipase from Rice Bran. A New Member of the (Phospho) Lipase Family, *Plant Physiology*, 127: 1728–1738.
- Lin YH, Wimer LT, and Huang AHC, 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 KC and Stumpf PK, 1983. Some Enzymic Activities in The Germinating Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seedling, *Plant Physiol* (1983), 73, 1028–1032.
- Pahoja VM, Dahot MU, and Sethar MA, 2001. Characteristic Properties of Lipase Crude Extract of *Caesalpinia bonducella* L. Seeds, *J. of Biological Sciences* 1(8), 775–778.
- Sana, Hossin I, Haque EM, and Shaha RK, 2004. Identification, Purification and Characterization of Lipase from Germination Oil Seed (*Brassica napus* L.), *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7 (2): 246–252.
- Simpson BB and Ogorzaly MC, 2001. Economic Botany: Plants in Our World, 3rd edition, Mc-Graw Hill Companies Inc., New York.
- Villalobos AL, Dodds PF, and Hornung R, 2001. Change in Fatty Acid Composition during Development of Tissues of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Embryos in the intact nut and in vitro, *Journal of Experimental Botany*, 52(358): 933–942.

Reviewer: **Dr. Afaf Baktir, Dra., M.S.**