

MAKALAH

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

PENENTUAN AKTIVITAS AMILASE DARI UMBI BENGKUANG (*Pachyrrhizus arosus* L. Urb) HASIL EKSTRAKSI DENGAN ETANOL DAN AMONIUM SULFAT



Oleh

Iryani, dkk.

18-1-2010
Hd
KI
31/Hd/2010-P.1 (1)
574.192. IRY P.1

Disampaikan pada Seminar dan Rapat Tahunan (Semirata) XX BKS

Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat Bidang MIPA

Bertempat di Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Tanggal 9 – 10 Juli 2007

JAKARTA

PENENTUAN AKTIVITAS AMILASE DARI UMBI BENGGUANG
(*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) **HASIL EKSTRAKSI DENGAN ETANOL**
DAN AMONIUM SULFAT

Iryani dan Iswendi *)

***) Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA UNP**

ABSTRAK

Amilase merupakan enzim hidrolase yang berperan dalam reaksi hidrolisis amilum dan glikogen menjadi isomaltosa, maltotriosa, maltosa dan glukosa. Amilase dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dari beberapa sumber seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Ekstraksi enzim dapat dilakukan dengan dua cara yaitu penambahan pelarut organik dan garam anorganik. Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas amylase dari umbi bengkuang hasil ekstraksi dengan etanol dan ammonium sulfat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas optimum amylase pada variasi suhu dan pH serta efektifitas pengekstrak. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan rancangan percobaan dua factorial yaitu pH dan suhu. pH terdiri dari 4 variasi yaitu: 4, 4,5, 5,5 dan 6, sedangkan suhu terdiri dari 4 variasi yaitu : 30° C, 40° C, 50° C dan 60° C. Isolasi amylase ditentukan dengan fraksinasi bertingkat dengan menggunakan ammonium sulfat 40, 60, 80 dan 90% b/v jenuh dan etanol 95% dingin. Aktivitas amylase ditentukan berdasarkan kadar glukosa hasil hidrolisis pati dengan menggunakan metode Nelson-Somogy. Aktivitas tertinggi dihasilkan pada fraksi I pH 4 dan suhu 50° C dengan aktivitas 34, 55 unit untuk pelarut etanol dan 30,72 unit untuk ammonium sulfat.

Key words : amylase, aktivitas, isolasi, umbi bengkuang

PENDAHULUAN

Enzim merupakan senyawa protein yang berfungsi sebagai katalis pada reaksi-reaksi kimia dalam organisme atau makhluk hidup. Berbagai bangsa dan etnis di dunia telah lama menggunakan jasa enzim dalam mengolah bahan makanan, seperti proses pembuatan wine (minuman anggur) oleh bangsa Yunani pembuatan tape dan tempe oleh bangsa Indonesia, asinan kol oleh bangsa Cina. dimana semua itu merupakan reaksi yang dikatalis oleh enzim. Pemanfaatan enzim di dalam industri diawali pada tahun 1960, contohnya penggunaan enzim

oksidase dalam sabun bubuk atau deterjen yang dapat membantu menghilangkan noda karat. (Winarno, 1986:1)

Kebutuhan manusia terhadap enzim meningkat dari tahun ke tahun. Hal ini disebabkan karena kegunaan enzim yang sangat luas dalam berbagai bidang industri seperti makanan, minuman dan farmasi. Salah satu contohnya adalah enzim amilase (Sadikin, 2002:18). Amilase merupakan enzim yang berfungsi mengkatalis reaksi hidrolisis pati dan glikogen menjadi maltosa, maltotriosa, isomaltosa dan glukosa. Amilase dapat dibagi menjadi tiga kelompok yaitu: α amilase, β amilase dan glucoamilase. Enzim α amilase disebut juga dengan endoamilase karena enzim ini memutus ikatan glikosida pada bagian tengah atau dalam dari molekul pati atau glikogen, sedangkan β amilase disebut dengan eksoamilase karena memutus ikatan glikosida pada bagian ujung molekul pati (Winarno, 1986 : 57-58). Enzim ini banyak terdapat pada tanaman, hewan dan mikroorganisme. Tanaman yang banyak mengandung pati seperti umbi-umbian umumnya mengandung amilase. Salah satu tanaman yang merupakan sumber amilase adalah bengkuang. Umbi bengkuang (*Pachyrrizus erosus* L.Urb) mengandung 56% pati, 16% gula dan 6% protein, (Forsyth,2002: 361)

Amilase dalam bidang industri banyak digunakan, diantaranya dalam industri kertas, digunakan untuk memodifikasi pati menjadi lem (dekstrin). Dalam industri tekstil, amilase digunakan bersama protease untuk memperhalus tekstur. Dalam bidang farmasi, amilase digunakan untuk membantu pencernaan (Suhartono, 1989:123-124) Dalam industri pangan, amilase digunakan untuk membuat bir, roti ,kue dan sirup. Pada industri sirup, bila diinginkan sirup dengan kadar glukosa rendah maka digunakan α amilase, dan jika diinginkan sirup dengan kadar maltosa tinggi maka digunakan β amilase. Dalam industri tepung amilase digunakan bersama protease untuk meningkatkan mutu tepung (Winarno, 1986 :84-86).

Enzim dapat diisolasi dengan dua cara yaitu dengan penambahan pelarut organik, seperti metanol, etanol, aseton; dan dengan penambahan garam seperti ammonium sulfat, natrium sulfat dan natrium fosfat (Suhartono,1998: 180-181). Ekstraksi amilase dari berbagai umbi tumbuhan telah dilakukan oleh peneliti

terdahulu, diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Hagenimana, et al (1992) telah mengisolasi amilase dari ubi jalar. Hagenimana mendapatkan aktivitas amilase pada ubi jalar sebesar 103,92 unit untuk α -amilase dan 133,406 unit untuk β -amilase. Mardiah (1995) juga telah mengisolasi amilase dari ubi talas, dan mendapatkan aktivitas amilase sebesar 3,5 unit pada kondisi pH 5,6; suhu 40 °C, lama inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 1,5% (b/v). Amrina (2004) juga telah melakukan penelitian tentang ekstraksi amilase dari umbi bengkuang dengan menggunakan amonium sulfat 65% b/v sebagai pengendap protein (enzim) , dari hasil penelitiannya diperoleh aktivitas amilase sebesar 36,713 unit pada pH 5,8 , waktu inkubasi 120 menit dan konsentrasi substrat 3,5% b/v. Berdasarkan penelusuran literatur, belum ditemukan adanya penelitian tentang isolasi amilase dari umbi bengkuang dengan menggunakan etanol dan amonium sulfat dengan cara fraksinasi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas amilase dari umbi bengkuang yang diekstraksi dengan menggunakan etanol dan amonium sulfat pada variasi pH dan suhu serta melihat efektifitas pengestrak. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat pada perkembangan IPTEK dalam bidang biokimia dan kimia pangan serta dapat meningkatkan nilai ekonomis dari tanaman bengkuang.

BAHAN DAN METODA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilaksanakan pada bulan Agustus-November 2006 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bengkuang (*Pachyrrizus erosus* L.Urb) yang berasal dari kota Padang. Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan terikat. Sebagai variabel bebas adalah pH dengan variasi 4, 4,5, 5, 5,5, dan 6 serta suhu dengan variasi 30, 40, 50 dan 60°C . Variabel terikat adalah aktivitas amilase.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 faktorial, yaitu pH dan suhu, dimana untuk pH terdiri dari 5 variasi sedangkan untuk suhu

terdiri dari 4 variasi. Dengan demikian penelitian ini dilakukan sebanyak 20 kali, dengan 2 kali pengulangan.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : peralatan gelas, timbangan analitik, blender, inkubator, kulkas, penangas air, alat sentrifus, spectronik 20, pH meter, termometer. Bahan yang digunakan adalah : umbi bengkuang, serbuk amonium sulfat, etanol 95%, glukosa, amilum, NaOH, NaCl, ZnSO₄, CaCl₂, Ba(OH)₂, reagen Biuret, reagen Nelson, Larutan buffer sitrat fosfat pH 5, reagen arseno molibdat

Langkah kerja dalam penelitian ini adalah : Umbi bengkuang sebanyak 250 g yang telah dikupas kulitnya dan dipotong kecil-kecil ditambah 0,75 g NaCl, 0,5 g CaCl₂ dan buffer sitrat fosfat pH 5 sebanyak 250 mL kemudian diblender sehingga diperoleh homogenat dan disimpan semalam dalam kulkas. Homogenat ini di saring dan disentrifus sehingga didapatkan supernatan dan endapan yang berwarna putih. Selanjutnya bagian supernatan diambil dan dilakukan fraksinasi dengan menggunakan etanol dan amonium sulfat. Fraksinasi dengan etanol dilakukan dengan menambahkan etanol 95% dingin ke dalam supernatan dengan perbandingan 1:1, campuran ini dibiarkan 1 malam pada suhu -10°C . Larutan disentrifus selama 15 menit pada 9000 rpm. Endapan dipisahkan dan dikeringkan. Supernatan pada fraksi I ini difraksinasi kembali dengan penambahan etanol 95%. (Alexander, R.R & Griffiths, 1991 :43) Fraksinasi dengan amonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan amonium sulfat kedalam supernatan dengan variasi 20,40,60 dan 80% b/v jenuh

Endapan tiap fraksi ditentukan aktivitasnya pada variasi pH dan suhu. Aktivitas amilase ditentukan berdasarkan kadar glukosa hasil hidrolisis pati dengan menggunakan metoda Nelson-Smoggy (Plummer,1978 :185).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis data diperoleh aktivitas optimum amilase yang diekstraksi dengan etanol dan amonium sulfat adalah pada fraksi I. Untuk pengestrak etanol aktivitas optimum amilase adalah 39,26 unit pada pH 5 dan suhu 50°C dan waktu inkubasi 120 menit, dan untuk amonium sulfat diperoleh

aktivitas optimum sebesar 30,72 unit pada pH 5, suhu 50°C dan waktu inkubasi 120 menit. Aktivitas amilase fraksi I untuk setiap variasi pH dan suhu dapat dilihat pada tabel 1 dan 2

Tabel 1. Aktivitas Amilase Hasil Fraksinasi Pertama Dari 250 Gram Umbi Bengkuang (Unit) Pada Variasi Suhu dan pH dengan Pengekstrak etanol

pH \ Suhu (C)	4	4.5	5	5.5	6
30	36,02	1,8	30,25	33,65	15,97
40	29,03	13,55	33,83	16,53	25,67
50	36,52	3,28	39,26	9,55	10,43
60	34,88	3,20	35,31	2,68	1,38

Tabel 2. Aktivitas Amilase Hasil Fraksinasi Pertama Dari 250 Gram Umbi Bengkuang (Unit) Pada Variasi Suhu dan pH dengan Pengekstrak Amonium Sulfat

pH \ Suhu (C)	4	4.5	5	5.5	6
30	18,81	16,41	21,25	26,05	16,79
40	25,71	20,95	23,98	24,19	20,62
50	27,26	24,44	30,72	19,48	26,04
60	19,10	12,45	10,81	9,67	7,50

Dari tabel 1 dan 2 terlihat bahwa aktivitas optimum enzim amilase diperoleh pada suhu 50°C dan pH 5. 5 dengan aktivitas 39,26 unit untuk pengekstrak etanol dan 30, 72 unit untuk pengekstrak amonium sulfat. Enzim mempunyai pH dan suhu optimum , di bawah suhu 50°C aktivitas enzim rendah karena energi aktivasi belum tercapai sehingga tumbukan antara molekul enzim dengan substrat kurang atau sedikit. di atas dan di bawah pH Di atas suhu optimum aktivitas enzim akan turun karena pada suhu tinggi enzim akan

terdenaturasi, sehingga substrat sukar berikatan dengan sisi aktif enzim sehingga produk yang dihasilkan sedikit (Sadikin, 2002: 139). Aktivitas enzim di atas dan di bawah pH optimum akan turun , karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim akibatnya proses katalisis berlangsung tidak maksimal (Sadikin, 2002 : 138). Aktivitas amilase yang diekstraksi dengan etanol lebih tinggi dibanding amonium sulfat, hal ini disebabkan amilase hasil ekstraksi dengan amonium sulfat lebih kotor dibanding hasil ekstraksi.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aktifitas tertinggi dari amilase hasil ekstraksi diperoleh pada fraksi I . Aktivitas optimum amilase hasil ekstraksi dengan etanol dan amonium sulfat berturut-turut adalah 39,26 unit dan 30,72 unit pada pH 5 dan suhu 50°C serta suhu inkubasi 120 menit. Amilase hasil ekstraksi dengan etanol mempunyai aktifitas yang lebih tinggi dibanding amonium sulfat.. Pengekstrak amilase yang efektif adalah etanol

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander,R.R & Griffiths, J.M. 1991. *Basic Biochemical Methods* .Wiley-Liss
Publction : Newyork
- Amrina, Mardiati ,2004. Ekstraksi dan Penentuan Aktivitas Enzim Amilase dari
Umbi Bengkuang (*Pachyrizus L. Urb*) .Skripsi Jurusan Kimia FMIPA
UNP Padang
- Forsyth,J L. Et.al, 2002.*Characterization of Starch from Tubers of Yam Bean
(Pachyrrizus ahipa)* .*Journal of agricultur and food chemistry*. Vol
50,No 2
- Hagenimana. V, et. Al. 1992, *Distribution of Amylases within Sweet Ptato (ipomoea sbatatas) Root Tissue*. *Jurnal Agricultural Food Chemistry* vol
40

574.192

124

p. 2

31/4d/2010 - p 1

- Mardiah, Elida, 1996. Studi Pendahuluan Isolasi Dan Penentuan Aktivitas Enzim Amilase dari Talas (*Colocasta esculenta*) Laporan Penelitian .
Depdikbud Lembaga Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Plummer, D.T. 1978. *Introduction to Practical Biochemistry* (2nd ed).
McGrawHill Book Company (UK) Limited London
- Sadikin, M.2002. Biokimia Enzim, Wydia Medika Jakarta.
- Suhartono, Maggy T. 1989, Enzim dan Bioteknologi. Depdikbud Dirjen Dikti
IPB, Bogor
- Winarno, FG. 1986, Enzim Pangan. PT gamedia Pustaka Utama, Jakarta.