



MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

LAPORAN PENELITIAN

AKTIVITAS ENZIM INULINASE UMBI DAHLIA YANG DIEKSTRAKSI DENGAN AMMONIUM SULFAT

Oleh:

Dra. Minda Azhar

M. Si	
NO. DAFTAR	20-1-2010
SIMPULAN	Hd /
KOLEKSI	VI
NO. INVENTARIS	36/Hd/2010-a.1(1)
NO. KOTAK	574.192 Azh a.1

Penelitian ini dibiayai oleh :
Dana DIPA UNP Tahun Anggaran 2008
Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian
No : 1244/H35/KU/DIPA/2008
Tanggal 02 Juni 2008

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG

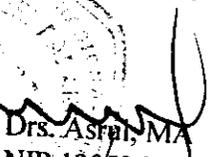
2008

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN DANA DIK UNP**

1. Judul Penelitian	: Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat
a. Bidang Ilmu	: MIPA yaitu Biokimia dan Kimia Pangan
b. Kategori Penelitian	: Kategori I
2. Ketua Peneliti	
a. Nama dan Gelar	: Dra. Minda Azhar, M.Si
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Golongan/ Pangkat dan NIP	: IV-a / Pembina / 131972090
d. Jabatan Fungsional	: Lektor kepala
e. Jabatan Struktural	: -
f. Jurusan / Fakultas	: Kimia / FMIPA
g. Pusat Penelitian	: Lemlit Universitas Negeri Padang
3. Alamat Ketua Peneliti	
a. Alamat Kantor / Telp.	: Kampus FMIPA UNP Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang / 0751-7057420
b. Alamat Rumah/Telp/e-mail	: Jl. Anggrek 28 Komplek UNP Air Tawar Padang / 0751-7051798 / minda_azhar@yahoo.com
4. Jumlah Anggota Peneliti	: -
5. Lokasi Penelitian	: Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA UNP
6. Kerjasama dengan Institusi lain	: -
7. Lama Penelitian	: 6 (enam) bulan
8. Biaya yang Dibelanjakan	
a. Sumber Dana	: Dana DIK UNP
b. Jumlah Dana	: Rp. 5.000.000 (lima juta rupiah)

Padang, Desember 2008

Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UNP


Drs. Asraf, MA
NIP. 130526481

Ketua Peneliti,


Dra. Minda Azhar, M.Si
NIP. 131972090

Disetujui oleh:
Ketua Lembaga Penelitian


Prof. Dr. H. Anas Yasin, MA
NIP. 130365634

ABSTRAK

Pada umbi dahlia terdapat enzim inulinase yang merupakan biokatalis reaksi hidrolisis pada inulin. Tujuan penelitian adalah menentukan aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan ammonium sulfat pada variasi suhu (45, 50, 55 dan 60⁰C), variasi pH (4, 4,5, 5, dan 5,5), variasi konsentrasi inulin (0,5%, 1%, 1,5% dan 2%), variasi waktu inkubasi (15, 30, 45, dan 60 menit). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Enzim inulinase diekstraksi dengan cara fraksinasi. Pada ekstrak hasil fraksinasi ditentukan aktivitas enzim inulinase sesuai metoda Somogyi-Nelson. Inulin (substrat inulinase) diekstraksi dengan air-etanol. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi dengan ammonium sulfat dari umbi dahlia optimum pada pH 5, suhu 55⁰C, dan waktu inkubasi 45 menit dengan konsentrasi substrat 1%.

PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan Pimpinan Universitas, telah memfasilitasi peneliti untuk melaksanakan penelitian tentang *Aktivitas Enzim Inulinase Umbi Dahlia yang Diekstraksi dengan Ammonium Sulfat*, berdasarkan Surat Perjanjian Kontrak Nomor : 1244/H35/KU/DIPA/2008 Tanggal 2 Juni 2008.

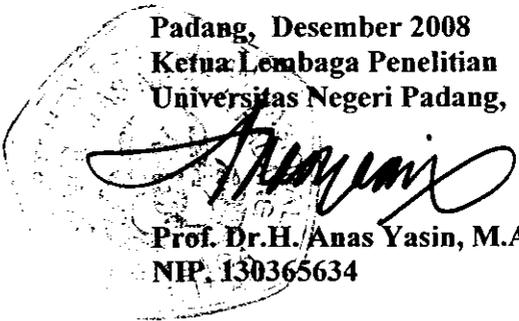
Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang akan dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan ditingkat Universitas. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan khususnya peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait yang menjadi objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, dan tim pereviu Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang. Secara khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Padang yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga kerjasama yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih.

Padang, Desember 2008
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang,



Prof. Dr.H./Anas Yasin, M.A.
NIP. 130365634

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Umbi Dahlia	5
B. Inulin	5
C. Enzim Inulinase.....	8
1. Struktur Enzim Inulinase	8
2. Aktivitas Enzim Inulinase	9
3. Ekstraksi Enzim dengan Ammonium Sulfat	11
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	14
BAB IV. METODE PENELITIAN	15
A. Jenis Penelitian	15
B. Variabel Penelitian	15
C. Objek Penelitian	15
D. Alat dan Bahan	15
E. Prosedur Penelitian	15
F. Pengolahan dan Analisis Data	19
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Hasil Penelitian	20

1. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi	20
2. Ekstrak Inulin	21
3. Kurva Standar Albumin	21
4. Absorbansi Protein Ekstrak Enzim Inulinase	22
5. Kurva Standar Fruktosa	22
6. Absorbansi Fruktosa akibat Aktivitas Enzim Inulinase	23
B. Pembahasan	26
1. Ekstrak Inulin	26
2. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi	26
3. Aktivitas Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi	27
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	34
A. Kesimpulan	34
B. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia inulin	6
2. Deretan residu asam amino inulinase dari <i>Aspergillus awamori</i>	8
3. Struktur inulinase dari <i>Aspergillus awamori</i>	9
4. Reaksi Biuret	27
5. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu	28
6. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH	30

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi umbi dahlia kering	6
2. Kandungan inulin pada pangan manusia	7
3. Fraksinasi dengan ammonium sulfat padat	13
4. Uji kualitatif dan massa ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi	21
5. Absorbansi larutan albumin pada berbagai λ	22
6. Absorbansi larutan albumin pada λ 530 nm	22
7. Absorbansi protein ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi	22
8. Absorbansi larutan fruktosa pada berbagai λ	23
9. Absorbansi larutan fruktosa pada λ 500 nm	23
10. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi pH dan suhu	24
11. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi pH dan suhu	24
12. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi pH dan suhu	24
13. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi	25
14. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi	25
15. Absorbansi inulin pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi	26
16. Uji kualitatif dan kuantitatif ekstrak enzim inulinase	27
17. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu	28
18. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH	29
19. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi.	31
20. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi.	32

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman dahlia merupakan tanaman hias dengan warna bunga yang beragam dan indah. Oleh sebab itu, tanaman ini dijadikan sebagai komoditas florikultura. Tanaman ini banyak tersebar di daerah dataran tinggi Sumatera Barat tetapi umbinya belum dimanfaatkan secara maksimal. Umbinya digunakan hanya sebagai bibit untuk menghasilkan tanaman hias dahlia baru. Padahal nilai komersial tanaman dahlia tidak hanya terletak pada bunganya tetapi juga pada umbinya.

Pada umbi dahlia terdapat enzim inulinase yang merupakan biokatalis reaksi hidrolisis pada inulin. Inulin merupakan polimer alami kelompok karbohidrat. Monomer inulin adalah fruktosa yang jumlahnya bervariasi tergantung sumbernya. Antara monomer fruktosa dihubungkan dengan ikatan $\beta(2\rightarrow1)$ fruktosil-fruktosa membentuk fruktan. Tiap ujung polimer inulin dapat hadir glukosa (Franck, 2003:442).

Enzim inulinase sangat potensial digunakan sebagai biokatalis pada industri pembuatan sirup fruktosa dari inulin (Whiteley, 2003:1). Pembentukan sirup fruktosa dari inulin lebih menguntungkan dibandingkan dari pati. Pembentukan fruktosa dari inulin hanya melibatkan satu reaksi enzimatik yaitu reaksi hidrolisis ikatan antara monomer fruktosa pada inulin ($\beta(2\rightarrow1)$ fruktosil-fruktosa) yang dikatalisis oleh enzim inulinase menghasilkan fruktosa dan atau tanpa fruktooligosakarida (FOS). Fruktosa yang dihasilkan pada proses ini di atas 95 % (Vranesic, 2001:1). FOS yang dihasilkan pada proses ini tidak perlu dipisahkan dari fruktosa karena dapat berfungsi sebagai prebiotik.

Sebaliknya pembentukan sirup fruktosa dari pati melibatkan paling kurang tiga reaksi enzimatik yaitu hidrolisis pati menghasilkan campuran dekstrin yang dikatalisis oleh amilase, hidrolisis dekstrin menghasilkan glukosa yang dikatalisis oleh amiloglukosidase, selanjutnya konversi glukosa menjadi fruktosa yang dikatalisis oleh glukosa isomerase. Fruktosa yang dihasilkan dari pati hanya 45% (Vranesic, 2002:1). Oleh sebab itu, enzim inulinase sangat potensial digunakan pada industri pembuatan sirup fruktosa dari inulin.

Pemutusan ikatan $\beta(2\rightarrow1)$ fruktosil-fruktosa pada inulin untuk pembuatan sirup fruktosa selain dapat digunakan enzim inulinase, dapat juga digunakan asam (Ertan, 2003:1). Andyani (2001:43) telah menghidrolisis inulin dari umbi tanaman *Dahlia pinnata* Cav. menggunakan asam klorida (HCl), asam oksalat ($C_2H_2O_4$), asam trikloroasetat (TCA) dan asam trifluoroasetat (TFA). Penggunaan enzim inulinase menghasilkan mutu produk yang jauh lebih baik dibandingkan dengan asam (Admin,2003:1). Dengan demikian enzim ini merupakan alternatif yang tepat untuk membuat sirup fruktosa dari inulin.

Selain pada umbi dahlia, tanaman lain yang mengandung enzim inulinase adalah chicory, jerusalem artichoke. Enzim inulinase juga terdapat pada beberapa fungi dan beberapa mikroba. Setelah diteliti ternyata aktivitas optimum enzim inulinase dari berbagai sumber berbeda. Aktivitas optimum enzim inulinase yang dimurnikan dari *Aspergillus niveus* adalah pada pH 4,0 dan 4,8, dan suhu $45^{\circ}C$ pada medium yang mengandung 20 gL^{-1} inulin (Souza-Motta, 2005: 1). Aktivitas optimum enzim inulinase dari *Kluyveromyces marxianus* ditemukan pada pH 5 dan suhu $60^{\circ}C$ (Pessoa, 1999:4-5). Enzim inulinase dari *Aspergillus fumigatus*, aktivitas optimumnya pada pH 5.5 dan suhu $45^{\circ}C$ (Gouda, 2002:589).

Sampai saat ini, enzim inulinase yang telah dipelajari secara detail adalah enzim inulinase dari *Aspergillus awamori*. Enzim ini merupakan satu untai polipeptida dengan 518 buah residu asam amino dengan massa molekul relatif 57133. Pada enzim inulinase dari *Aspergillus awamori* terdapat dua residu asam amino katalitik yang penting yaitu Asp41, suatu katalitik nukleophile dan Glu241, suatu katalitik asam basa. Asp189 menyediakan ikatan hidrogen yang penting untuk pengenalan substrat (Nagem, 2004:1). Enzim inulinase dari *Aspergillus fumigatus* diinhibisi sempurna oleh 1mM Ag^+ dan diaktifkan oleh 1mM Ca^{2+} atau Mg^{2+} (Gauda, 2002:1).

Informasi detail enzim inulinase dari umbi dahlia belum ditemukan. Sebagai tahap awal mempelajarinya adalah melakukan ekstraksi menggunakan pelarut organik atau garam anorganik. Garam anorganik yang dapat digunakan adalah ammonium sulfat, natrium klorida dan natrium posfat. Pelarut organik yang dapat digunakan adalah methanol, etanol, isopropanol, aseton dan kloroform (Heinicke dan Gortner, 1957:229).

Jenis pengekstraksi yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim yang diekstraksi. Enzim bromelain yang diekstraksi dengan aseton dingin ($-15^{\circ}C$) memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pengekstraksi ammonium sulfat, metanol dan isopropanol (Heinicke, 1957: 229). Aktivitas enzim kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum* lebih tinggi menggunakan pengekstraksi ammonium sulfat dibandingkan pengekstraksi etanol dan aseton. (Wijaya, 2002:30). Aktivitas enzim inulinase yang diekstraksi dengan ammonium sulfat dari umbi dahlia belum dilaporkan sebelum ini. Padahal garam ini paling sering digunakan untuk ekstraksi protein karena sangat larut dalam air (Colowick, 1955:75). Oleh sebab itu diteliti aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat.

B. Perumusan Masalah

Yang menjadi masalah pada penelitian ini adalah bagaimana aktivitas optimum enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat. Aktivitas enzim inulinase yang dimaksud adalah kemampuan enzim tersebut mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin yang sebanding dengan fruktosa yang terbentuk pada kondisi reaksi tertentu. Kondisi reaksi yang diamati adalah pada variasi pH dan suhu, variasi waktu inkubasi dan konsentrasi inulin (substrat inulinase). Penelitian ini terbatas pada enzim inulinase yang diekstraksi dari umbi tanaman dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua yang tumbuh di Kota Padang Panjang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Umbi Dahlia

Tanaman dahlia tumbuh sampai mencapai ketinggian 1,5 m. Kuantum bunga dahlia mempunyai bentuk, ukuran dan warna yang amat bervariasi. Berdasarkan bentuk bunganya, dahlia dibedakan menjadi delapan kelompok yaitu *Cactus dahlia*, *Single dahlia*, *Pompon dahlia*, *Decoratif formal dahlia*, *Decoratif informal dahlia*, *Collarette dahlia*, *Anemone dahlia* dan *Peony dahlia* (Rukmana, 2005:15).

Tanaman dahlia merupakan flora hias berumbi besar. Pada satu rumpun tanaman dahlia dapat dihasilkan umbi 2 sampai 5 kg (Rukmana, 2005:13). Susunan tubuh tanaman dahlia terdiri dari umbi, batang, daun, bunga, buah dan biji. Umbi akar adalah akar yang jaringannya berubah bentuk menjadi tebal dan berubah fungsinya sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Bentuk umbi dahlia bervariasi mulai dari bulat kecil sampai besar atau panjang hingga lonjong.

Struktur umbi dahlia terdiri atas kulit umbi berwarna putih kekuningan sampai kecoklatan, daging umbi tebal berwarna putih. Umbi dahlia merupakan tempat penyimpanan bahan makanan untuk tunasnya yang baru. Umbi dahlia kaya dengan inulin. Pada umbi dahlia kering kadar inulin dapat mencapai 65,7%. Selain inulin, pada umbi dahlia juga terdapat air, protein, selulosa dan lemak (Tabel 1)

2. Inulin.

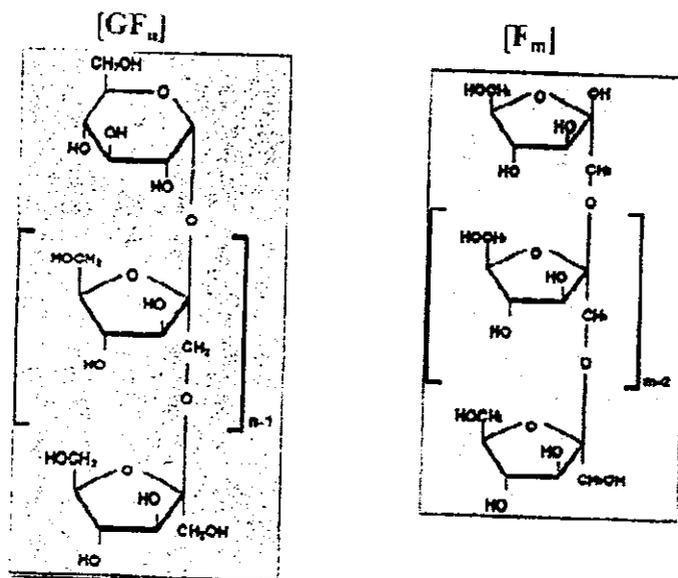
Inulin merupakan substrat enzim inulinase. Inulin adalah polimer alami kelompok karbohidrat. Monomer inulin adalah fruktosa yang jumlahnya bervariasi tergantung sumbernya. Antara monomer fruktosa dihubungkan dengan ikatan $\beta(2\rightarrow1)$ fruktosil-

fruktosa membentuk fruktan. Tiap ujung polimer inulin dapat hadir glukosa (Franck, 2003:442). Oleh sebab itu polimer inulin dapat ditulis GF_n yaitu fruktan dengan ujung terminal glukosa atau F_n yaitu fruktan tanpa ujung terminal glukosa (Gambar 1). Simbol n pada rumus tersebut adalah derajat polimerisasi (DP). 2 < DP ≤ 10 dikenal sebagai oligofruktosa.

Tabel 1. Komposisi umbi dahlia kering

Komposisi (per 100g)	Kadar (%)
Air	2,97
Abu	4,52
Protein	3,71
Inulin	65,7
Bahan-bahan lain (selulosa, lemak dan lain-lain)	23,10

(Toni dalam Fitriani, 1999:7)



Gambar 1. Struktur kimia inulin
(Franck, 2003:443)

Inulin merupakan serbuk yang berwarna putih. Inulin sukar larut dalam air dingin dan pelarut organik seperti etanol, sebaliknya inulin mudah larut dalam air panas

(Bergner, 2004:1; Yurmizar, 1989:53). Oleh sebab itu, prinsip ekstraksi inulin dari tanaman adalah memanfaatkan kelarutan inulin dalam air dan etanol tersebut. Inulin dengan resorsinol dalam larutan HCl menghasilkan warna merah (Yurmizar, 1989:53). Reaksi ini dapat digunakan untuk uji kualitatif inulin.

Inulin mempunyai kemampuan untuk membentuk mikrokrystal jika disebar dalam air atau susu. Kristal-kristal ini tidak mengendap di dalam mulut tetapi berinteraksi untuk membentuk suatu tekstur krem yang halus (Niness, 1999:2). Inulin dapat berfungsi sebagai emulsifier, stabilizer dan teskturizer pada konsentrasi 2-5 % dalam makanan yang mengandung daging (Rulis, 2003:3). Inulin juga dapat berfungsi sebagai prebiotik (Bergner, 2004:1).

Inulin banyak terdapat pada chicory, jerusalem artichoke dan dahlia. Inulin juga terdapat pada pisang, bawang putih dan gandum dalam jumlah yang sedikit Kandungan inulin pada pangan manusia dimuat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan inulin pada pangan manusia

Sumber	Bagian yang dimanfaatkan	Kandungan zat padat kering	Kandungan inulin (%)
Bawang merah	Umbi	6-12	2-6
Jerusalem artichoke	Umbi	19-25	14-19
Chicory	Akar	20-25	15-20
Daun bawang	Umbi	15-20*	3-10
Bawang putih	Umbi	40-45*	9-16
Artichoke	Daun	14-16	3-10
Pisang	Buah	24-26	0,3-0,7
Gandum	Sereal	88-90	0,5-1*
Barley	Sereal	Na	0,5-1,5*
Dandelion	Daun	50-55*	12-15
Camas	Umbi	31-50	12-22
Yacon	Akar	13-21	3-19

Keterangan : Na : data tidak tersedia * : nilai selalu berubah
(Frank, 2003:445)

3. Enzim Inulinase

Enzim inulinase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan glikosida pada inulin menghasilkan fruktosa dan atau tanpa fruktooligosakarida. Enzim ini dapat diekstraksi dari fungi, mikroorganismen dan tanaman yang mengandung inulin.

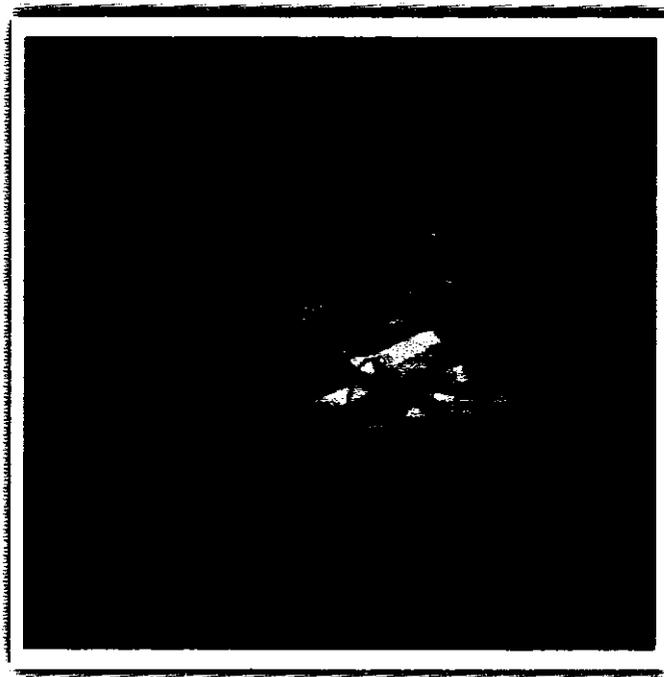
3.1. Struktur Enzim Inulinase

Enzim inulinase yang telah dipelajari secara detail adalah inulinase dari *Aspergillus awamori* merupakan satu untai polipeptida dengan 518 buah residu asam amino (Nagem, 2004). Massa molekul relatif enzim ini adalah 57133. Deretan residu asam amino (struktur primer) dimuat pada Gambar 2. Bentuk tiga dimensi enzim ini akibat struktur sekunder dan struktur tersier. Struktur sekunder disebabkan oleh ikatan hidrogen antara hidrogen amina dan oksigen karbonil pada ikatan peptida. Struktur tersier disebabkan oleh interaksi antara rantai samping residu asam amino. Struktur sekunder enzim ini didominasi oleh struktur β -pleated-sheet (Gambar 3).

```
1  FNYDQPYRGQ YHFSPQKNWM NDPNGLLYHN GTYHLFFQYN PGGIEWGNIS
51  WGHAISEDLT HWEEKPVALL ARGFGSDVTE MYFSGSAVAD VNNTSGFGKD
101  GKTPLVAMYT SYYPVAQTLP SGQTVQEDQQ SQSLAYSLDD GLTWTTYDAA
151  NPVIPNPPSP YEAEQNFRD PFVFWHDESQ KWVVVTSIAE LHKLAIYTS
201  NLKDWKLVSE FGPYNAQGGV WECPLVKLP LDGNSKWKV ITSGLNPGGP
251  PGTVGSGTQY FVGEFDGTF TPDADTVYPG NSTANWMDWG PDFYAAAGYN
301  GLSLNDHVHI GWMNNWQYGA NIPTYWRSA MAIPRHMALK TIGSKATLVQ
351  QPQEAWSSIS NKRPISRTF KTLSEGSTNT TTTGETFKVD LSFSAKSKAS
401  TFAIALRASA NNFTEQTLVGY DFAKQQIFLD RTHSGDVSTF ETFASVYHGP
451  LTPDSTG'VK LSIFVDRSSV EVFGGQGETT LTAQIFPSSD AVHARLASTG
501  GTTEDVRADI YKIASTWN
```

Gambar 2. Deretan residu asam amino inulinase dari *Aspergillus awamori* (Nagem, 2004)

Pada pusat aktif enzim inulinase dari *Aspergillus awamori* terdapat dua residu asam amino katalitik yang penting adalah Asp41, suatu katalitik nukleophile dan Glu241, suatu katalitik asam basa. Asp189 menyediakan ikatan hidrogen yang penting untuk pengenalan substrat (Nagem, 2004:1). Inulinase dari *Aspergillus fumigatus* diinhibisi sempurna oleh 1mM Ag⁺ dan diaktifkan oleh 1mM Ca²⁺ atau Mg²⁺ (Gauda, 2002:1).



Gambar 3. Struktur inulinase dari *Aspergillus awamori* (Nagem, 2004)

3.2. Aktivitas Enzim Inulinase

Aktivitas enzim inulinase adalah kemampuan enzim inulinase mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin yang sebanding dengan fruktosa yang terbentuk pada kondisi reaksi tertentu. Semakin banyak fruktosa yang dihasilkan semakin aktif enzim inulinase. Aktivitas inulinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dapat mengkatalisis pembentukan 1 μ mol fruktosa setiap menitnya pada kondisi reaksi

tertentu. Definisi ini dinamakan juga satu unit enzim inulinase (U). Aktivitas spesifik enzim inulinase adalah jumlah aktivitas enzim inulinase per miligram protein. Semakin tinggi aktivitas spesifik enzim inulinase semakin murni enzim tersebut.

Kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin akibat aktivitas katalitik inulinase dapat diukur menggunakan spektrofotometer. Penentuan kadar fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase dapat digunakan metoda Somogyi-Nelson (Plummer, 1978:184-185). Dalam larutan basa, fruktosa (ketosa) berada dalam kesetimbangan dengan aldosa lewat zat antara tautomerik enediol. Gugus aldehyd pada aldosa tersebut dalam suasana basa dapat dioksidasi oleh ion kupri (Cu^{2+}) menjadi suatu asam aldonat dan kupro oksida (Cu_2O). Ion kupro (Cu^+) selanjutnya direaksikan dengan reagen arsenomolibdat menghasilkan warna biru (*molybdenum blue*). Warna biru yang terbentuk diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada λ maksimum. Intensitas warna biru sebanding dengan konsentrasi fruktosa dalam larutan.

Metoda lain yang dapat digunakan untuk menentukan kadar fruktosa akibat aktivitas inulinase adalah reaksi antara fruktosa dengan karbazol membentuk warna violet. Reaksi fruktosa dengan karbazol menunjukkan intensitas warna lebih besar dibandingkan dengan reaksi glukosa dengan karbazol yaitu sekitar 30:1. Aktivitas enzim inulinase adalah selisih serapan antara cuplikan dan blanko. Serapan ini dikonversikan pada kurva standar fruktosa sehingga diperoleh banyaknya fruktosa yang terbentuk akibat hidrolisis inulin dengan katalis enzim inulinase. Data kadar fruktosa selanjutnya dapat diolah menjadi aktivitas enzim inulinase dan aktivitas spesifik enzim inulinase. Untuk menentukan aktivitas spesifik enzim inulinase diperlukan lagi data kadar protein. Pada penelitian ini kadar protein ditentukan dengan metoda Lowry karena metoda ini lebih sensitif dibandingkan metoda lain.

Aktivitas suatu enzim dipengaruhi oleh kondisi dimana enzim tersebut berada seperti pH, suhu, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat. Aktivitas optimum enzim inulinase dari berbagai sumber berbeda. Aktivitas optimum inulinase yang dimurnikan dari *Aspergillus niveus* adalah pada pH 4,0 dan 4,8, dan suhu 45⁰C pada medium yang mengandung 20 gL⁻¹ inulin (Souza-Motta, 2005: 1). Aktivitas optimal inulinase dari *Kluyveromyces marxianus* ditemukan pada pH 5 dan suhu 60⁰C (Pessoa, 1999:4-5). Inulinase dari *Aspergillus fumigatus*, aktivitas optimumnya adalah pada pH 5.5 dan suhu 45⁰C (Gouda, 2002:589).

3.3. Ekstraksi Enzim dengan Ammonium Sulfat

Ekstraksi enzim inulinase dari umbi dahlia dapat dilakukan dengan cara pengendapan. Proses pengendapan merupakan proses awal pemurnian enzim dengan tujuan meningkatkan konsentrasi enzim. Proses ini berdasarkan kelarutan protein pada garam anorganik atau pelarut organik. Garam anorganik yang dapat digunakan adalah ammonium sulfat, natrium klorida dan natrium posfat. Pelarut organik yang dapat digunakan adalah metanol, etanol, isopropanol, aseton dan kloroform (Heinicke dan Gortner, 1957:229). Ammonium sulfat, etanol dan aseton merupakan pengekstraksi yang paling sering digunakan untuk mengekstraksi enzim (Scopes, 1987: 52,57).

Jenis pengekstraksi yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim yang diekstraksi. Enzim bromelain yang diekstraksi dengan aseton dingin (-15⁰C) memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pengekstraksi ammonium sulfat, metanol dan isopropanol (Heinicke, 1957: 229). Aktivitas enzim kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum* lebih tinggi menggunakan pengekstraksi ammonium sulfat dibandingkan pengekstraksi etanol dan aseton. (Wijaya, 2002:30). Aktivitas optimum ekstrak enzim inulinase dari umbi dahlia dengan

pengekstraksi etanol adalah $171,4037 \cdot 10^{-5}$ unit/mL pada inulin 1%, pH 5, suhu 55°C dan waktu inkubasi 15 menit (Azhar, 2007:11).

Distribusi residu asam amino dengan rantai samping hidropilik dan hidropobik pada permukaan molekul protein adalah gambaran yang menentukan kelarutan protein tersebut di dalam berbagai pelarut. Kelarutan protein juga dipengaruhi oleh konsentrasi garam. Kelarutan protein menurun dengan naiknya konsentrasi garam dikenal sebagai *salting out*. Pada *salting in*, kelarutan protein naik dengan naiknya konsentrasi garam.

Proses *salting out* dapat mengakibatkan terjadi dehidrasi dari molekul protein yang mengakibatkan molekul protein dapat berasosiasi dan mengendap. Pengendapan ini terjadi karena kemampuan ion garam untuk terhidrasi sehingga berkompetisi dengan molekul protein untuk mengikat air. Dengan demikian proses *salting out* tergantung pada gugus hidropobik dari rantai samping residu asam amino pada protein, sedangkan *salting in* tergantung pada distribusi muatan pada permukaan protein dan interaksi polar protein dengan pelarut (Scopes, 1987 :46)

Proses pengendapan protein mempunyai dua tujuan utama adalah sebagai awal proses pemurniaan protein dan meningkatkan konsentrasi protein. Penambahan ammonium sulfat pada larutan protein diistilahkan dengan “persen *saturation*”. Sebagai contoh adalah volume yang sama antara larutan protein dan larutan garam disebut “50% *saturation*”. Proses pengendapan enzim inulinase dengan ammonium sulfat dilakukan secara fraksinasi. Penambahan ammonium sulfat pada pada setiap larutan protein menggunakan Tabel 3 yaitu fraksinasi dengan ammonium sulfat padat (Alexander, 1993:105). Endapan hasil fraksinasi dan filtrat dilakukan uji protein. Pada endapan hasil fraksinasi ditentukan kadar protein. Uji protein yang digunakan adalah pereaksi Biuret. Kadar protein ditentukan dengan metoda Lowry.

Tabel 3. Fraksinasi dengan ammonium sulfat padat

	Solid ammonium sulfate to add to 100 mL of solution																	
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
Initial concentration of ammonium sulfate (% saturation at 0°C)	0	10.6 ^a	13.4	16.4	19.4	22.6	25.8	29.1	32.6	36.1	39.8	43.6	47.6	51.6	55.9	60.3	65.0	69.7
5	7.9	10.8	13.7	16.6	19.7	22.9	26.2	29.6	33.1	36.8	40.5	44.4	48.4	52.6	57.0	61.5	66.2	
10	5.3	8.1	10.9	13.9	16.9	20.0	23.3	26.6	30.1	33.7	37.4	41.2	45.2	49.3	53.6	58.1	62.7	
15	2.6	5.4	8.2	11.1	14.1	17.2	20.4	23.7	27.1	30.6	34.3	38.1	42.0	46.0	50.3	54.7	59.2	
20	0	2.7	5.5	8.3	11.3	14.3	17.5	20.7	24.1	27.6	31.2	34.9	38.7	42.7	46.9	51.2	55.7	
25		0	2.7	5.6	8.4	11.5	14.6	17.9	21.1	24.5	28.0	31.7	35.5	39.5	43.6	47.8	52.2	
30			0	2.8	5.6	8.6	11.7	14.8	18.1	21.4	24.9	28.5	32.3	36.2	40.2	44.5	48.8	
35				0	2.8	5.7	8.7	11.8	15.1	18.4	21.8	25.4	29.1	32.9	36.9	41.0	45.3	
40					0	2.9	5.8	8.9	12.0	15.3	18.7	22.2	25.8	29.6	33.5	37.6	41.8	
45						0	2.9	5.9	9.0	12.3	15.6	19.0	22.6	26.3	30.2	34.2	38.3	
50							0	3.0	6.0	9.2	12.5	15.9	19.4	23.0	26.8	30.8	34.8	
55								0	3.0	6.1	9.3	12.7	16.1	19.7	23.5	27.3	31.3	
60									0	3.1	6.2	9.5	12.9	16.4	20.1	23.9	27.9	
65										0	3.1	6.3	9.7	13.2	16.8	20.5	24.4	
70											0	3.2	6.5	9.9	13.4	17.1	20.9	
75												0	3.2	6.6	10.1	13.7	17.4	
80													0	3.3	6.7	10.3	13.9	
85														0	3.4	6.8	10.5	
90															0	3.4	7.0	
95																0	3.5	
100																	0	

^aReprinted from Segel, p. 400.

^aValues are final concentrations of ammonium sulfate (% saturation at 0°C).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas optimum enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat pada variasi pH dan suhu, variasi konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi.

B. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah memberikan kontribusi pada perkembangan IPTEK dalam bidang biokimia yaitu memberikan informasi tentang aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat yang dapat digunakan sebagai katalis pada pembuatan fruktosa dari inulin.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Penelitian FMIPA UNP dari Juni sampai September 2008.

B. Variabel Penelitian

Variabel bebas penelitian ini adalah variasi pH, variasi suhu, variasi konsentrasi inulin (substrat inulinase), dan variasi waktu inkubasi. Variabel terikat adalah aktivitas dan enzim inulinase umbi dahlia.

C. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah umbi dahlia jenis bunga *decoratif formal* berwarna merah tua yang tumbuh di Kotamadya Padang Panjang.

D. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, timbangan analitik, termometer, oven, pH meter, spektroskop-20, inkubator, lemari pendingin, magnetik stirer, sentrifus dan desikator. Bahan yang digunakan adalah umbi dahlia, buffer asetat, etanol, karbon aktif, Na_2CO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, KNa tartarat, reagen folin ciocalteu, aquades, albumin, fruktosa, NaOH, H_2SO_4 , Na_2SO_4 , ammonium sulfat, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ dan ZnSO_4 .

E. Prosedur penelitian

Langkah-langkah penelitian adalah sebagai berikut :

- 1) Mengekstraksi inulin sebagai substrat enzim inulinase dari umbi dahlia
- 2) Mengekstraksi enzim inulinase dari umbi dahlia dengan ammonium sulfat

- 3) Menentukan konsentrasi protein ekstrak enzim dengan metoda Lowry
- 4) Menentukan aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH dan suhu, variasi konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi.

Secara rinci langkah menentukan aktivitas enzim inulinase hasil ekstraksi dengan ammonium sulfat pada variasi pH dan suhu, variasi konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi adalah sebagai berikut :

1. Ekstraksi inulin

Ekstraksi inulin dari ubi dahlia dilakukan sesuai prosedur Andyani (2001:21-23) sebagai berikut : Umbi dahlia yang sudah bersih, dipotong dan diblender dengan air 1:2 (b:v). Kemudian campuran ini dipanaskan pada penangas air (80-90⁰C, sekitar 30 menit). Selagi hangat, disaring dan diambil filtratnya. Selanjutnya ditambahkan etanol 30% pada filtrat sebanyak 40% dari volume filtrat. Larutan ini disimpan di dalam *freezer* selama 18 jam.

Larutan dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam lalu disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit). Endapan (inulin basah I) ditambahkan air (1:2) kemudian dipanaskan di penangas air (70⁰C, 30 menit). Ke dalam larutan ini ditambahkan karbon aktif 1-2%(b/v). Larutan disaring, filtrat diukur volumenya dan didinginkan pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume larutan. Lalu didinginkan di dalam *freezer* selama 18 jam. Setelah pendinginan tahap II ini, larutan dikeluarkan dari *freezer* dan dicairkan pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit) sampai diperoleh endapan putih (inulin basah II). Endapan ini dikeringkan (50-60⁰C, 6-7 jam) lalu dihaluskan.

574.192

A26

a.1

36/HQ/2010-01

2. Ekstraksi enzim inulinase

Metoda ekstraksi enzim inulinase disadur dari Sari (1991) yang dimodifikasi. Umbi dahlia dingin 500 g dan 250 mL buffer asetat 0,2M pH 5 dingin diblender, kemudian disaring dengan kain kasa. pH campuran diatur tetap 5 dengan penambahan asam asetat 1 N. Sari umbi dahlia yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin selama 24 jam. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan sentrifugasi. Pada supernatan dilakukan fraksinasi.

Fraksinasi I : Supernatan ditambah ammonium sulfat 20 % b/v jenuh dan diaduk sampai semua larut. Larutan ini didiamkan dalam lemari pendingin selama 24 jam. Supernatan disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam buffer asetat pH 5. Fraksi cairnya digunakan untuk fraksinasi kedua. Fraksinasi II : fraksi cair I ditambahkan ammonium sulfat 40 % b/v jenuh dan diaduk sampai semua larut. Selanjutnya dilakukan seperti pada fraksinasi I. Untuk fraksinasi III digunakan ammonium sulfat 60 % b/v jenuh.

3. Pengukuran konsentrasi protein

Kadar protein ditentukan dengan metoda Lowry (Alexander, 1993:277). Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL reagen Lowry C (4,9 mL Lowry A; 2 % Na_2CO_3 dalam 0,1 N NaOH ditambah 0,1 mL Lowry B; 0,5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam KNa tartarat 1%) lalu diaduk dengan magnetik stirer dan didiamkan selama 20 menit. Kemudian diaduk dengan menambahkan 1 mL reagen Lowry D (0,5 mL folin ciocalteu 2 N diencerkan dengan aquades dengan perbandingan volume 1:1) dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansinya diukur pada λ maksimum. Sebagai larutan standar digunakan larutan albumin.

4. Pengukuran absorbansi larutan standar fruktosa

Absorbansi larutan standar fruktosa ditentukan sesuai prosedur Nelson's (Alexander, 1993:57). Penentuan λ absorbansi maksimum fruktosa digunakan larutan standar fruktosa 300 ppm. Absorbansi diukur pada variasi λ 480-600 nm. Absorbansi untuk kurva kalibrasi larutan standar fruktosa dilakukan pada λ maksimum penyerapan fruktosa. Pada masing-masing tabung reaksi dimasukkan larutan standar fruktosa 1 mL dengan variasi konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Kemudian ke dalam setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen Nelson's [50 mL larutan Nelson's A (tiap L mengandung 25 g Na_2CO_3 , 25 g NaK tartrat, 20 g NaHCO_3 dan 200g Na_2SO_4) dengan 2 mL larutan Nelson's B (tiap 100 mL mengandung 15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 2 tetes H_2SO_4 pekat)], tabung reaksi ditutup dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan segera didinginkan (25°C) kemudian ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat (tiap liter mengandung 50 g ammonium molybdat, 42 mL H_2SO_4 pekat dan 6 g Na arsenet) dan diaduk dan tabung reaksi didiamkan sampai buih hilang (sekitar 5 menit). Selanjutnya ditambahkan aquades 7 mL dan absorbansi diukur pada λ maksimum larutan fruktosa. Blanko yang digunakan adalah aquades yang diperlakukan sama dengan sampel.

5. Aktivitas ekstrak enzim inulinase umbi dahlia

Penentuan aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi dilakukan sesuai metoda Somogyi-Nelson (Plummer,1978:184-185). Inulin 1% (b/v) sebanyak 2mL dimasukkan ke dalam sederetan tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1mL enzim inulinase 1 mg/mL larutan 0,2 M buffer asetat variasi pH dan diinkubasi selama 30 menit pada variasi suhu. Reaksi enzimatik diinaktifkan dengan mencelupkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan 1,5

mL larutan $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,3 N, dikocok, kemudian ditambahkan 1,5 mL ZnSO_4 5%, dikocok sampai homogen dan dibiarkan selama 5 menit. Setelah itu disentrifugasi selama 20 menit, filtratnya dipisahkan. Filtrat merupakan larutan bening bebas protein.

Pada masing-masing 1 mL filtrat bebas protein ditambahkan 1 mL reagen Nelson's, tabung reaksi ditutup dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan segera didinginkan sampai suhu kamar (25°C). Selanjutnya pada larutan ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat, diaduk dan biarkan beberapa menit sampai buih hilang. Selanjutnya ditambahkan aquades 7 mL dan absorbansi diukur pada λ maksimum fruktosa. Sebagai blanko adalah aquades yang diperlakukan sama seperti sampel. Sebagai kontrol adalah larutan inulin ditambah air 1 mL dan diperlakukan sama seperti sampel. Kadar fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase pada inulin ditentukan dengan memasukkan nilai absorbansinya pada persamaan regresi larutan standar fruktosa. Hal yang sama dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi.

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi ditentukan kadarnya fruktosanya, kemudian dihitung aktivitas enzim. Grafik dibuat untuk masing-masing variasi. Sebagai sumbu x adalah masing-masing variasi yaitu pH, suhu, konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi. Sebagai sumbu y adalah aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi. Pada grafik tersebut dapat dilihat kecenderungan aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi pada inulin terhadap variasi pH, suhu, konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat dilakukan pada: (1) Variasi pH dan suhu; (2) Variasi konsentrasi inulin (substrat inulinase) dan waktu inkubasi. Pada penelitian ini digunakan buffer asetat sebagai pelarut ekstrak enzim. Enzim inulinase diekstraksi dengan ammonium sulfat dengan cara fraksinasi. Fraksinasi dilakukan tiga kali. Pada masing-masing endapan hasil fraksinasi dilakukan uji kualitatif dengan reagen Biuret, diukur massanya, ditentukan kadar proteinnya dan ditentukan aktivitas enzim inulinase.

Kadar protein setiap hasil fraksinasi ditentukan dengan cara mengukur absorbansi menggunakan spektronik-20 dengan metoda Lowry. Pada metoda ini digunakan albumin sebagai standar. Kadar fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase ditentukan dengan cara mengukur absorbansi menggunakan spektronik-20 dengan metoda Somogyi-Nelson. Pada metoda ini digunakan fruktosa sebagai standar. Hasil penelitian dikelompokkan sebagai berikut : (1) Ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi; (2) Ekstrak inulin; (3) Kurva standar albumin; (4) Absorbansi protein ekstrak enzim inulinase; (5) Kurva standar fruktosa dan (6) Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi.

1. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi

Setiap endapan enzim inulinase hasil fraksinasi diambil 1 mg dan dilarutkan dalam 1 mL buffer asetat dan dilakukan uji protein dengan reagen Biuret. Warna yang timbul akibat reaksi antara protein dan reagen Biuret adalah warna ungu dengan tingkat kepekatan warna yang berbeda. Hasil uji kualitatif endapan hasil fraksinasi yang

diperoleh dimuat pada Tabel 4. Setiap endapan hasil fraksinasi ditentukan massanya dengan timbangan digital Mettler AE200. Massa semua endapan ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi adalah 19,2834 g yang diperoleh dari 200 g umbi dahlia yang telah dikupas dan dipotong. Hasil yang diperoleh dimuat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji kualitatif dan massa ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi

Uji Ekstrak Enzim Inulinase dengan Pereaksi Biuret			Massa Ekstrak Enzim Inulinase (g)		
E1	E2	E2	E1	E2	E3
+	++	+++	9,890	8,8362	0,5522

Keterangan :

+ = warna agak encer
 ++ = warna agak pekat
 +++ = warna lebih pekat

E1 = endapan hasil fraksinasi ke-1
 E2 = endapan hasil fraksinasi ke-2
 E3 = endapan hasil fraksinasi ke-3

2. Ekstrak Inulin

Inulin yang digunakan sebagai substrat enzim inulinase diekstraksi dari umbi tanaman dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua yang tumbuh di Kotamadya Padang Panjang. Inulin yang diperoleh 18,4856 g dari 500 g umbi dahlia yang telah dikupas dan dipotong. Uji kualitatif inulin dengan Iodium menunjukkan tidak berwarna (uji positif) dan dengan resolsinol dalam larutan HCl menunjukkan warna merah (uji positif).

3. Kurva Standar Albumin

Kadar protein setiap hasil fraksinasi pada ekstrak enzim inulinase ditentukan dengan mengukur absorbansi menggunakan spektronik-20 dengan metoda Lowry. Pada metoda ini digunakan albumin sebagai standar. Penentuan λ maksimum digunakan larutan albumin 300 ppm. Panjang gelombang yang dideteksi adalah 500-560 nm (Tabel 5). Pada λ 530 nm diukur absorbansi larutan albumin konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Data yang diperoleh dimuat pada Tabel 6.

Tabel 5. Absorbansi larutan albumin pada berbagai λ

No	λ (nm)	Absorbansi
1	500	0,364
2	510	0,363
3	520	0,369
4	530	0,375
5	540	0,361
6	550	0,360
7	560	0,359

Tabel 6. Absorbansi larutan albumin pada λ 530 nm

No	Konsentrasi albumin (ppm)	Absorbansi
1	100	0,191
2	200	0,264
3	300	0,352
4	400	0,447
5	500	0,548

4. Absorbansi Protein Ekstrak Enzim Inulinase

Konsentrasi protein ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi ditentukan dengan cara mengukur absorbansi larutan ekstrak enzim inulinase 1mg/1mL buffer asetat. Absorbansi diukur pada λ 530 nm. Absorbansi protein setiap hasil fraksinasi dimuat pada Tabel 7.

Tabel 7. Absorbansi protein ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi

No	Ekstrak enzim inulinase	Absorbansi
1	E1	0,095
2	E2	0,112
3	E3	0,154

5. Kurva Standar Fruktosa

Kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin dengan katalis inulinase pada setiap hasil fraksinasi ditentukan dengan mengukur absorbansi fruktosa menggunakan spektrometrik-

20 dengan prosedur Nelson. Pada metoda ini digunakan fruktosa sebagai standar. Penentuan λ maksimum digunakan larutan fruktosa 300 ppm. Panjang gelombang yang didekteksi adalah 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, dan 550 nm (Tabel 8). Pada λ 500 nm diukur absorbansi larutan fruktosa konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm (Tabel 9).

Tabel 8. Absorbansi larutan fruktosa pada berbagai λ

No	λ (nm)	Absorbansi
1	480	0,346
2	490	0,353
3	500	0,358
4	510	0,353
5	520	0,350
6	530	0,347
7	540	0,345
8	550	0,344

Tabel 9. Absorbansi larutan fruktosa pada λ 500 nm

No	Konsentrasi fruktosa (ppm)	Absorbansi
1	100	0,119
2	200	0,232
3	300	0,356
4	400	0,429
5	500	0,568

6. Absorbansi Fruktosa akibat Aktivitas Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi

Variasi pH dan suhu

Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase pada variasi pH dan suhu dilakukan pada inulin 1% (b/v), waktu inkubasi 30 menit dengan 2 kali ulangan. Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi diukur pada λ 500 nm. Pengukuran dilakukan pada fraksinasi I, II dan III. Data dimuat pada Tabel 10,11

dan 12. Pada tabel tersebut kadar fruktosa pada pH 5 variasi suhu dan pada suhu 55°C variasi pH dicetak lebih tebal.

Tabel 10. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi pH dan suhu

pH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi suhu (°C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,399; 0,400	A: 0,428; 0,430	A: 0,515; 0,516	A: 0,471; 0,473
			F: 459,5434	
4,5	A: 0,426; 0,424	A: 0,445; 0,446	A: 0,528; 0,526	A: 0,502; 0,499
			F: 470,0457	
5,0	A: 0,465; 0,467	A: 0,499; 0,500	A: 0,561; 0,562	A: 0,530; 0,529
	F: 414,3379	F:444,9315	F:501,5525	F: 472,3288
5,5	A: 0,434; 0,433	A: 0,459; 0,459	A: 0,530; 531	A: 0,496; 0,495
			F: 473,2420	
Kontrol	A: 0,115; 0,116	A: 0,120; 0,119	A: 0,166; 0,165	A: 0,183; 0,180
	F:94,2466	F:97,8995	F:139,9087	F:154,9771

Keterangan : A adalah absorbansi; F adalah kadar fruktosa dalam µg/mL
Kontrol adalah substrat ekstrak inulin

Tabel 11. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi pH dan suhu

pH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi suhu (°C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,410; 0,409	A: 0,438; 0,437	A: 0,525; 0,524	A: 0,496; 0,495
			F: 467,7626	
4,5	A: 0,439; 0,438	A: 0,456; 0,456	A: 0,536; 0,535	A: 0,514; 0,515
			F: 477,8082	
5,0	A: 0,478; 0,477	A: 0,520; 0,519	A: 0,566; 0,566	A: 0,549; 0,548
	F:424,8402	F:463,1963	F: 505,6621	F:489,6804
5,5	A: 0,454; 0,454	A: 0,470; 0,469	A: 0,540; 0,539	A: 0,520; 0,519
			F: 481,4612	

Tabel 12. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi pH dan suhu

pH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi suhu (°C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,360; 0,361	A: 0,405; 0,404	A: 0,457; 0,456	A: 0,426; 0,427
			F: 405,6621	
4,5	A: 0,402; 0,401	A: 0,429; 0,428	A: 0,486; 0,485	A: 0,451; 0,451
			F: 432,1461	
5,0	A: 0,425; 0,426	A: 0,458; 0,459	A: 0,544; 544	A: 0,496; 0,497
	F:377,3516	F:407,4886	F: 485,5708	F:442,1918
5,5	A: 0,407; 0,407	A: 0,435; 0,436	A: 0,496; 0,495	A: 0,466; 0,464
			F: 441,2785	

Variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi dilakukan pada pH 5 dan suhu 55⁰C dengan dua kali ulangan. Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi diukur pada λ 500 nm. Pengukuran dilakukan pada fraksinasi I, dan II (Tabel 13, dan 14). Sebagai kontrol adalah absorbansi substrat inulin (Tabel 15). Pada tabel tersebut juga dimuat kadar fruktosanya.

Tabel 13. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin (%)			
	0,5	1,0	1,5	2,0
15	A: 0,130; 0,131 F:107,9452	A: 0,194; 0,195 F: 166,3927	A: 0,236; 0,235 F:203,8356	A: 0,607; 0,607 F: 543,1050
30	A: 0,304; 0,305 F: 266,8493	A: 0,384; 0,385 F: 339,9087	A: 0,411; 0,412 F: 364,5662	A: 0,547; 0,546 F: 487,8539
45	A: 0,322; 0,321 F: 282,3744	A: 0,398; 0,397 F: 351,7808	A: 0,436; 0,434 F:386,0274	A: 0,535; 0,534 F: 476,8950
60	A: 0,244; 0,245 F: 212,0548	A: 0,333; 0,332 F:292,4201	A: 0,346; 0,347 F: 305,2055	A: 0,450; 0,451 F: 400,1826

Keterangan : A adalah absorbansi

F adalah kadar fruktosa dalam $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 14. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin (%)			
	0,5	1,0	1,5	2,0
15	A: 0,142; 0,143 F: 118,9041	A: 0,231; 0,233 F:200,6393	A: 0,311; 0,312 F: 273,2420	A: 0,669; 0,670 F: 600,1826
30	A: 0,352; 0,351 F: 309,7717	A: 0,403; 0,402 F:356,3470	A: 0,423; 0,422 F: 374,6119	A: 0,631; 0,632 F: 565,4795
45	A: 0,366; 0,366 F: 323,0137	A: 0,418; 0,419 F: 370,9589	A: 0,442; 0,443 F: 392,8767	A: 0,564; 0,565 F: 504,2922
60	A: 0,278; 0,279 F: 243,1050	A: 0,381; 0,380 F: 336,2557	A: 0,433; 0,432 F:383,7443	A: 0,535; 0,535 F: 477,8082

Tabel 15. Absorbansi inulin pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	Absorbansi inulin pada variasi konsentrasi inulin (%)			
	0,5	1,0	1,5	2,0
15	A: 0,038	A: 0,047	A: 0,052	A: 0,075
	F: 23,4703	F: 31,6895	F: 36,2557	F: 57,2603
30	A: 0,044	A: 0,051	A: 0,058	A: 0,087
	F: 29,4064	F: 35,3425	F: 41,7352	F: 68,2192
45	A: 0,046	A: 0,057	A: 0,062	A: 0,090
	F: 30,7763	F: 40,8219	F: 45,3881	F: 70,9589
60	A: 0,034	A: 0,052	A: 0,054	A: 0,074
	F: 24,3836	F: 36,2557	F: 38,0822	F: 56,3470

B. Pembahasan

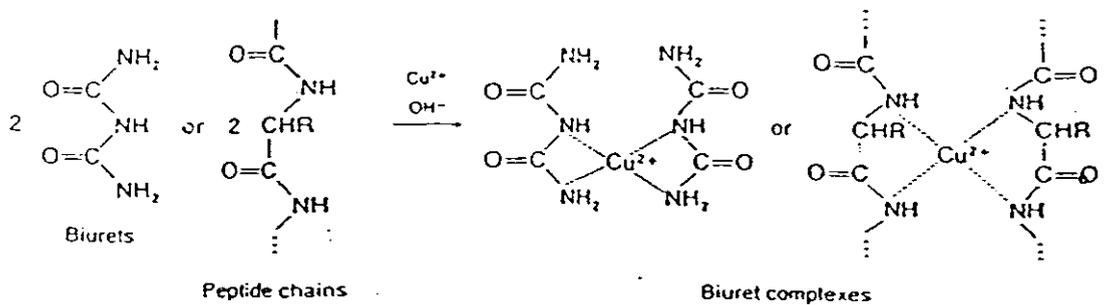
1. Ekstrak Inulin

Inulin yang digunakan sebagai substrat enzim inulinase diekstraksi dari umbi tanaman dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua yang tumbuh di Kotamadya Padang Panjang. Inulin yang diperoleh 18,4856 g dari 500 g umbi dahlia yang telah dikupas dan dipotong.

Uji kualitatif inulin dengan resolsinol dalam larutan HCl memberikan warna merah (uji positif). Warna ini terbentuk karena reaksi antara 5-hidroximetil-furfural dengan resolsinol. Senyawa 5-hidroximetil-furfural merupakan produk kondensasi fruktosa dalam suasana asam. Fruktosa berasal dari hidrolisis inulin dengan HCl.

2. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi

Hasil uji Biuret ketiga endapan hasil fraksinasi masing-masing ekstrak enzim inulinase dari umbi dahlia memberikan uji positif terhadap protein dengan perbedaan kepekatan warna ungu (Tabel 16). Warna ungu timbul akibat terbentuknya kompleks Biuret yang merupakan kompleks koordinasi dari atom Cu^{2+} pada reagen Biuret dengan empat atom nitrogen pada untai peptida/protein dalam larutan alkalin (Clark, 1977:75) (Gambar 3). Dengan demikian perbedaan kepekatan warna ungu dengan uji Biuret dapat menunjukkan perbedaan kandungan protein yang berbeda pula.



Gambar 3. Reaksi Biuret
(Clark, 1977:75)

Kandungan protein yang tinggi secara kualitatif ditunjukkan oleh absorbansi yang tinggi pula. Besarnya absorbansi ini tidak ada hubungannya dengan massa setiap hasil fraksinasi walaupun digunakan pengekstraksi lain. Pada proses ekstraksi enzim bromelain dengan pelarut aseton protein murni hanya sekitar 50% dari total endapan kering. Senyawa lainnya adalah campuran dari banyak koloid, garam-garam anorganik dan senyawa organik sederhana (Heinicke, 1957:5).

Tabel 16. Uji kualitatif dan kuantitatif ekstrak enzim inulinase

Uji kualitatif dan kuantitatif	Ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi		
	E1	E2	E3
Massa (g)	9,8900	8,8362	0,5522
Kadar protein (ppm)	4,1249	23,0769	69,8990
Uji Biuret	+	++	+++

3. Aktivitas Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi

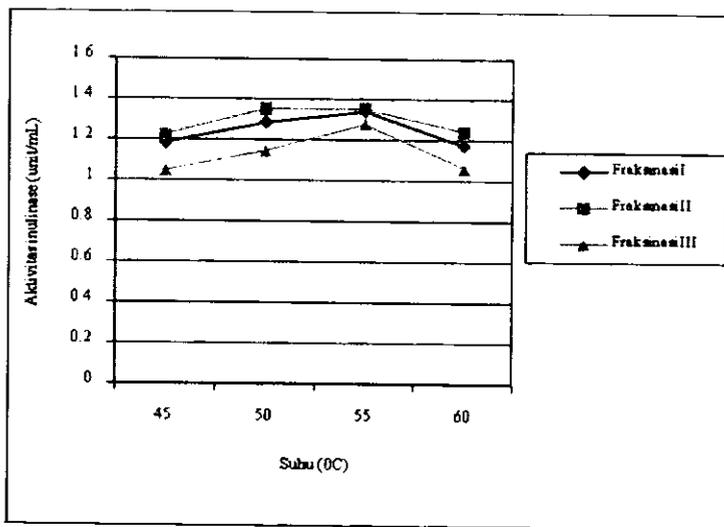
Variasi suhu

Aktivitas enzim inulinase didefinisikan sebagai μmol fruktosa yang dihasilkan setiap menitnya pada kondisi reaksi tertentu (Gouda, 2002:4). Definisi ini dinamakan juga satu unit inulinase (U). Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu, pH 5, konsentrasi inulin 1% dan waktu inkubasi 30 menit dimuat pada Tabel 17.

Tabel 17. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu

Suhu (°C)	Aktivitas ekstrak enzim inulinase (unit/mL)			Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase (unit/mg protein)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
45	1.1855	1.2244	1.0485	287.4066	53.0583	15.0006
50	1.2853	1.3530	1.1466	311.5963	58.6279	16.4040
55	1.3394	1.3546	1.2802	324.7161	58.7012	18.3154
60	1.1754	1.2396	1.0638	284.9467	53.7179	15.2185

Aktivitas enzim yang tinggi dapat diartikan kecepatan reaksi enzimatik tinggi. Kecepatan reaksi enzimatik meningkat dengan meningkatnya suhu di dalam range temperatur dimana enzim tetap stabil dan aktif. Kecepatan reaksi hidrolisis inulin dengan katalis enzim inulinase meningkat pada suhu 45⁰C dan 50⁰C sampai 55⁰C (Gambar 4). Pada suhu 55⁰C dihasilkan fruktosa setiap menitnya paling besar.



Gambar 4. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu

Jika temperatur dinaikan terus maka ikatan di dalam molekul enzim bergerak lebih kuat. Sebagai akibatnya adalah ikatan yang lemah seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang menentukan struktur protein terganggu (Deniston,2004:584). Hal ini dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi. Denaturasi mengakibatkan

aktivitas enzim turun. Keadaan ini terjadi pada suhu 60°C (Gambar 4). Dengan demikian suhu optimum ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi adalah 55°C.

Aktivitas spesifik enzim inulinase adalah jumlah aktivitas enzim inulinase per miligram protein. Semakin tinggi aktivitas spesifik enzim inulinase semakin murni enzim tersebut. Aktivitas spesifik enzim inulinase yang paling besar terdapat pada hasil fraksinasi I. Hal ini berarti enzim inulinase lebih murni terdapat pada hasil fraksinasi I. Enzim inulinase paling aktif terdapat pada hasil fraksinasi II karena dihasilkan fruktosa paling besar setiap menitnya (Gambar 4).

Variasi pH

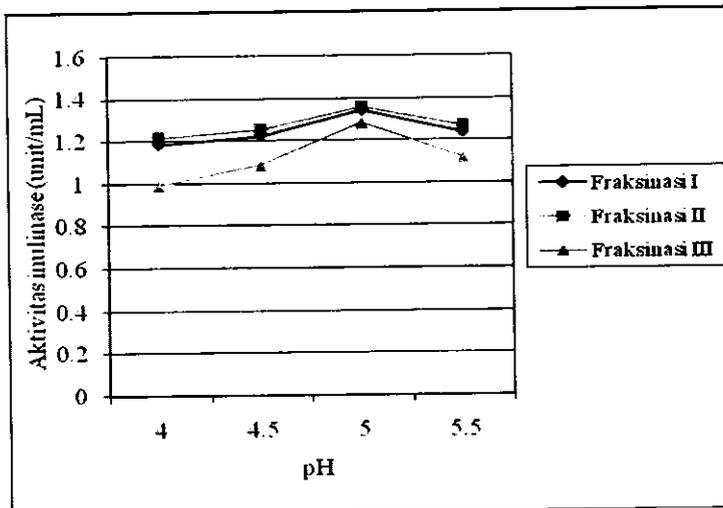
Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH, suhu 55°C, konsentrasi inulin 1% dan waktu inkubasi 30 menit dimuat pada Tabel 18. Perubahan pH lingkungan enzim dapat merubah derajat ionisasi gugus rantai samping residu asam amino. Gugus rantai samping residu asam amino enzim mempunyai karakteristik muatan listrik tertentu. Dengan demikian merubah pH lingkungan enzim dapat merubah muatan pada permukaan molekul enzim. Perubahan muatan ini akan mempengaruhi aktivitas enzim. Hal ini dapat diamati pada aktivitas enzim inulinase pada pH 4, 4,5, 5,0 dan 5,5.

Tabel 18. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH

pH	Aktivitas ekstrak enzim inulinase (unit/mL)			Aktivitas spesifik ekstrak enzim (unit/mg protein)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
4,0	1.1838	1.2143	0.9893	286.9966	52.6186	14.0813
4,5	1.2227	1.2515	1.0824	296.4265	54.2308	15.4846
5,0	1.3394	1.3546	1.2802	324.7161	58.7012	18.3154
5,5	1.2346	1.2650	1.1162	299.2964	54.8171	15.9685

Aktivitas enzim yang berhubungan dengan pH tergantung pada sifat asam atau basa dari enzim dan substrat. Profil aktivitas pH optimum enzim menggambarkan pH

pada saat pemberi dan penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada dalam tingkat ionisasi yang tepat untuk aktivitas optimum (Lehninger, 1982:247). Keadaan ini untuk enzim inulinase berada pada pH 5 (Gambar 5). Pada pH tersebut dihasilkan fruktosa setiap menitnya paling tinggi untuk setiap aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi (Gambar 5). Dengan demikian pH optimum enzim inulinase adalah 5.



Gambar 5. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH

Aktivitas spesifik enzim inulinase yang paling besar terdapat pada hasil fraksinasi I (Tabel 18). Hal ini berarti enzim inulinase lebih murni pada hasil fraksinasi I. Enzim inulinase yang paling aktif terdapat pada hasil fraksinasi II karena dihasilkan fruktosa paling besar setiap menitnya (Gambar 5).

Variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi, pH 5, suhu 55°C dimuat pada Tabel 19. Aktivitas enzim yang tinggi dapat diartikan kecepatan reaksi enzimatik tinggi. Kecepatan reaksi enzimatik pada batas tertentu tergantung konsentrasi substrat. Pada konsentrasi substrat amat rendah

kecepatan reaksi amat rendah. Kecepatan reaksi akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Hal ini terjadi pada penambahan substrat inulin 0,5%, 1 %, 1,5% dan 2%. Ketika konsentrasi substrat sangat tinggi, semua enzim berikatan dengan substrat. Pada saat ini enzim dikatakan jenuh dengan substrat dan kecepatan reaksi mencapai maksimum.

Tabel 19. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi.

Waktu inkubasi (menit)	Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin (unit/mL)			
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
15	0,3129	1,4989	0,6207	1,7994
30	0,8794	1,1280	1,1957	1,5542
45	0,9318	1,1517	1,2616	1,5035
60	0,6951	0,9488	1,02317	1,2735

Jika konsentrasi substrat terus dinaikkan, kecepatan reaksi tetap dengan kata lain jumlah fruktosa yang dihasilkan tetap. Pengamatan pada konsentrasi substrat inulin 0,5%, 1% dan 1,5% ternyata jumlah fruktosa yang dihasilkan naik sampai waktu inkubasi 45 menit. Penurunan aktivitas enzim inulinase ini diamati pada waktu inkubasi 60 menit. Hal ini diduga pada ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi I terdapat enzim yang dapat mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain. Hal ini juga diduga terjadi pada konsentrasi substrat 2% pada waktu inkubasi 30, 45 dan 60 menit.

Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi, pH 5, suhu 55⁰C dimuat pada Tabel 20. Hal yang sama diamati juga pada fraksinasi II. Pada konsentrasi substrat inulin 0,5%, 1% dan 1,5% ternyata jumlah fruktosa yang dihasilkan naik sampai waktu inkubasi 45 menit, kemudian turun pada waktu inkubasi 60 menit. Pada substrat inulin 2%, penambahan waktu inkubasi akan menurunkan kadar fruktosa. Oleh sebab itu, waktu inkubasi untuk hidrolisis inulin

menggunakan ekstrak inulinase ini sebaiknya tidak melebihi 45 menit. Kenyataan yang diamati adalah kadar fruktosa makin turun. Dengan kata lain aktivitas enzim inulinase turun. Penurunan aktivitas enzim inulinase juga terjadi pada waktu inkubasi 60 menit. Penurunan ini diduga disebabkan pada ekstrak enzim inulinase aktif enzim yang mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain. Kemungkinan lain adalah gula pereduksi mengalami oksidasi karena pengaruh panas.

Tabel 20. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi.

Waktu inkubasi (menit)	Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin (unit/mL)			
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
15	0,3535	0,6257	0,8777	2,0142
30	1,0384	1,1889	1,2329	1,8417
45	1,0824	1,2227	1,2870	1,6049
60	0,8101	1,1111	1,3141	1,5610

Dugaan pada ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi aktif enzim yang mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain diuji dengan penambahan ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi pada larutan fruktosa. Hasil uji menunjukkan ketiga ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi dapat mengubah fruktosa menjadi senyawa lain. Perubahan ini ditandai dengan terbentuknya warna hijau setelah ditambahkan reagen Nelson's (mengandung Cu^{++}) dan berwarna biru setelah ditambahkan reagen Nelson's dan reagen arsenomolibdat. Warna ini lebih pekat pada larutan fruktosa tanpa penambahan ekstrak enzim inulinase.

Aktivitas optimum ekstrak enzim inulinase umbi dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua pada inulin 1% yang ditemukan pada penelitian ini adalah pH 5, suhu 55°C , waktu inkubasi 45 menit. Aktivitas optimum inulinase yang dimurnikan dari *Aspergillus niveus* adalah pada pH 4,0 dan 4,8, dan suhu 45°C pada

medium yang mengandung 20 gL^{-1} inulin (Souza-Motta, 2005:1). Aktivitas optimum inulinase dari *Kluyveromyces marxianus* ditemukan pada pH 5 dan suhu 60°C (Pessoa, 1999:4-5). Inulinase dari *Aspergillus fumigatus*, aktivitas optimumnya adalah pada pH 5,5 dan suhu 45°C (Gouda, 2002:589).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan ammonium sulfat dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi dengan ammonium sulfat dari umbi dahlia optimum pada pH 5, suhu 55⁰C, dan waktu inkubasi 45 menit dengan konsentrasi substrat 1%.

B. Saran

Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, maka disarankan :

1. Meneliti lanjut aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi menggunakan pengestrak dengan tingkat kepolaran berbeda-beda.
2. Memurnikan ekstrak enzim inulinase menggunakan gel filtrasi

DAFTAR PUSTAKA

- Admin, (2003). *Dahlia cantik bunganya manis umbinya*. Halal MUI
- Alexander, R.R; Griffiths, J.M. (1993), *Basic Biochemical Methods*. New York: John Wiley & Sons.
- Andyani, N.F (2001). Produksi Sirup Fruktosa dari Inulin *Dahlia Pinata Cav* secara Hidrolisis Asam. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pangan IPB. Bogor
- Azhar, M. (2007). Aktivitas enzim inulinase yang diekstraksi dengan etanol dari umbi tanaman dahlia. *Jurnal Eksakta*. Vol.x.No1:11-23.
- Bergner, P.(2004). Inulin. <http://www.medherb.com>. Diakses 5 April 2004
- Clark, J.M and Switzer, R.L. (1977). *Experimental Biochemistry*, second edition. San Francisco: WH Freeman and Company.p.75.
- Colowick, S.P; Kaplan, N.O.(1955). *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press Inc.
- Denniston, K.J; Topping, J.J; Caset, K.L.(2004). *General, Organic and Biochemistry*. Fourth edition. New York: Mc Graw-Hill.
- Ertan, F. (2003). Determination of Optimum Cultivation Condition on the Production of Onulinase from *Rhizoctonia solani*. *Pakistan Journal of Sciences* 6(16):1386-1388
- Franck, A; Leenheer, L.D.(2003). Inulin. Email: ann.franck@orafti.com. Diakses 25 Maret 2004
- Gouda, M.K. (2002). Some properties of inulinase from *Aspergillus fumigatus*. *Pakistan Journal of Biological Science* 5(5). p.589
- Heinicke, R.M and Gortner, W.A. (1957). Stem Bromelain a New Protease Preparation from Pineapple Plants. Honolulu: Pineapple Research Institute of Hawaii.
- Lehninger, A.L.(1982). *Dasar-dasar Biokimia* (terjemahan). Jilid I. Jakarta: Erlangga
- Nagem, R.A.P; Rojas, A.L; Golubev, A.M; Korneeva, O.S. (2004). Crystal structure of exo-inulinase from *Aspergillus awamori*: the enzyme fold and structural determinant of substrate recognition. *J.Mol.Biol.* Vol.344 pp.471.
- Niness, K.R. (1999). Inulin and oligofruktosa: what are they. *Journal of Nutrition*. 1999;129:1402S-1406S. <http://www.nutrition.org>. Diakses tanggal 4 April 2004.
- Pessoa, and Vitolo (1999). Inulinase from *Kluyveromyces marxianus*: culture medium composition and enzyme extraction. *J.Chem Eng.* Vol.16. No 3

- Plummer, D.T.(1978). *Antroduction to Practical Biochemistry*. Second edition. New Delhi: Mc. Graw Hill Publishing Company.
- Rukmana, R.(2005). *Dahlia Prospek Agribisnis dan Teknik Budi Daya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Rulis, A.M. (2003). Center for food safety and applied nutrition office of food additive safety. Diakses 3 April 2004.
- Sari, D.U. (1991). Penentuan aktivita enzim bromelain dari buah, batang dan tangkai nenas dengan metoda Anson. *Tesis*. Padang : Universitas Andalas.
- Scopes, R.K. (1987). *Protein Purification Principles and Praticce*. Second edition New York: Springer-Verlag.
- Souza-Motta, C.M; Cavaicanti, M.A.Q; Porto, A.L.F; Moreira, K.A; Filho, J.L.L. (2005). *Aspergillus niveus* Blochwitz 4128URM: new source for inulinase production. *Braz arc.biol.technol*. Vol.48. No 3
- Vranesic, D; Kurtanjek, Z; Santos A.M.P; Maugeri, F.(2002). Optimization of Inulinase Production by *Kluyveromyces bulgaricus*. *Food Technol. Biotechnol*. 40(2002) 67-73.
- Whiteley, C. (2003). *Chicory*. Rhodes University.
- Wijaya, S.K.S.(2002). Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol .3. No 1. p.30-35.
- Yurmizar. (1989). Penandaan Inulin dengan Radionuklida Teknesium-99m dan Biodistribusinya pada Tikus Putih. *Skripsi FMIPA*. Padang: Universitas Andalas.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

CURICULUM VITAE

Peneliti

1. Nama : Dra. Minda Azhar, M.Si
2. NIP : 131972090
3. Tempat dan Tanggal Lahir : Bukittinggi, 24 November 1964
4. Pangkat / Golongan : Pembina / IV-a
5. Jabatan : Lektor kepala
6. Jabatan Struktural : -
7. Jurusan : Kimia
8. Fakultas : FMIPA
9. Nama Instansi : Universitas Negeri Padang
10. Alamat Instansi : Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang
11. Bidang Keahlian : Biokimia
12. Pendidikan

Jenjang Pendidikan	Tahun Selesai	Bidang Studi /Keahlian	Perguruan Tinggi / Sekolah	Tempat
S-2	1996	Biokimia	ITB	Bandung
S-1	1990	Pendidikan Kimia	IKIP Padang	Padang
SMA	1984	IPA/PALMA	PPSP IKIP Padang	Padang
SMP	1982	-	PPSP IKIP Padang	Padang
SD	1979	-	Angkasa II	Padang

13. Publikasi / Penelitian dalam Bidang Studi / Keahlian

Publikasi melalui jurnal

- a. Menulis artikel pada Jurnal Kimia Andalas dengan judul “Kloning gen *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae* dengan metoda *Allele Rescue*” (1997).
- b. Menulis artikel pada Forum Pendidikan IKIP Padang dengan judul “Penentuan urutan nukleotida mutan *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae*” (1997)
- c. Menulis artikel pada Buletin IKIP Padang dengan judul “AZT sebagai terapi AIDS” (1998)
- d. Menulis artikel pada Jurnal Kimia Andalas dengan judul “Proses translasi pada ragi *Saccharomyces cerevisiae*” (1999)
- e. Menulis artikel pada Jurnal Saintek dengan judul “Kloning gen mutan *sal4* pada ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan vector plasmid pUKC-802” (2000)
- f. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul “Dideoksi-Sanger, suatu metoda penentuan urutan nukleotida DNA” (2000)
- g. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul “Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* amobil dengan media pendukung agar-bentonit untuk pembuatan minyak secara fermentasi” (2001)
- h. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul “Amobilisasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan agar-zeolit, agar-perlit untuk pemisahan minyak dari santan kelapa” (2001)
- i. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul “Penentuan waktu dan suhu optimum pemisahan minyak dari santan kelapa menggunakan bromelain bongkol nenas” (2004)

- j. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul “Hidroksilapatit sebagai material biokeramik” (2004)
- k. Menulis artikel pada Jurnal Pembelajaran dengan judul “Pembelajaran konsep mol dengan cara faktor-label dan cara rumus”(2004)
- l. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul “Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol buah dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa” (2006)
- m. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul “Aktivitas enzim inulinase yang diekstraksi dengan etanol dari umbi tanaman dahlia” (2007)

Publikasi melalui seminar

- a. Presentasi pada Seminar Reguler PK-PKLH di IKIP Padang dengan judul “Sianida sebagai inhibitor rantai pernafasan” (1977)
- b. Presentasi pada Seminar Reguler di Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA IKIP Padang dengan judul “PCR, suatu metoda perbanyak DNA secara invitro”(1999)
- c. Presentasi pada Seminar dan Rapat Tahunan ke-20 di UIN Jakarta dengan judul “Karakteristik set yoghurt dari susu skim akibat penambahan inulin”(2007).

Penelitian

- a. Penentuan M_r polistirena dengan cara viskometer Ostwald dan pengaruh temperatur terhadap viskositas cairan (1994)
- b. Kloning dan penentuan urutan nukleotida mutan *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae* (1996)
- c. Amobilisasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan zeolit, bentonit, dan perlit untuk pembuatan minyak kelapa secara fermentasi berulang (1999)
- d. Menentukan taraf intensitas (tingkat kebisingan) bunyi dalam angkutan kota di Kodya padang (2000)
- e. Pemanfaatan bromelain bongkol nenas pada proses pemisahan minyak dari santan kelapa (2000)
- f. Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa (2005)
- g. Pengaruh penambahan inulin pada karakteristik set yoghurt dari susu skim (2006)
- h. Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol (2006)

Padang, Desember 2008

Dra. Minda Azhar, M.Si
NIP. 131972090