



## LAPORAN PENELITIAN

Program Pengembangan Diri (PPD)  
Tahun Anggaran 2006  
FORUM HEDS

### AKTIVITAS ENZIM INULINASE UMBI DAHLIA HASIL FRAKSINASI DENGAN ETANOL

Oleh:

Dra. Minda Azhar, M.Si

NO. SURAT	28-12-2006
DIKIRIM KE	Hd
NO. SURAT	K1
NO. SURAT	287/K/2006-2.1(1)
NO. SURAT	574.192.5 Azh a.1

**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2006**

TAHUN 2006

**Lembar Pengesahan Laporan Penelitian**

**Program Pengembangan Diri (PPD) TA 2006**

**Forum HEDS**

**Fakultas MIPA**

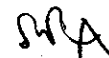
**Universitas Negeri Padang**

**AKTIVITAS ENZIM INULINASE UMBI DAHLIA HASIL  
FRAKSINASI DENGAN ETANOL**

Oleh :

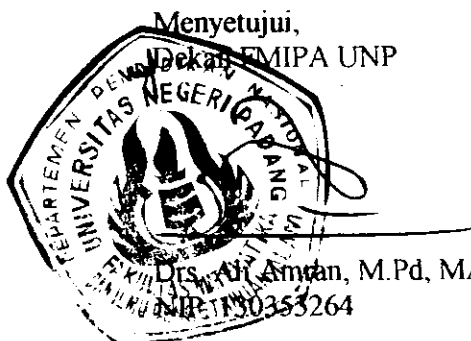
**Dra. Minda Azhar, M.Si**

**Menyetujui,  
Ketua Jurusan Kimia  
FMIPA UNP**



**Dra. Andromeda, M.Si  
NIP.131668022**

**Menyetujui,  
Dekan, FMIPA UNP**



**Drs. H. Amran, M.Pd, MA, Ph.D  
NIP.130353264**

**Lembar Identitas Laporan Penelitian  
Program Pengembangan Diri (PPD)  
Forum HEDS**

- 
1. a. Judul Penelitian : Aktivitas Enzim Inulinase Umbi Dahlia Hasil Fraksinasi dengan Etanol  
b. Jenis Kegiatan : Kategori Penelitian I yaitu Perkembangan IPTEK  
c. Bidang Ilmu : Biokimia  
d. Universitas : Universitas Negeri Padang
2. Ketua Peneliti  
a. Nama Lengkap : Dra. Minda Azhar, M.Si.  
b. Umur : 42 tahun  
c. Pangkat / Golongan. : Pembina / IV-a  
d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
e. Alamat Instansi / Telp. : Kampus FMIPA UNP Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang / 0751-7057420  
f. Alamat Rumah /Telp./ e-mail : Jl. Angrek 28 Komplek UNP Air Tawar Padang / 0751-7051798 / [mindaz@telkom.net](mailto:mindaz@telkom.net)  
g. Bidang Keahlian : Biokimia
3. Jumlah Anggota dalam Tim : -  
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Penelitian FMIPA UNP  
5. Lama Penelitian : 3 bulan (Juli 2006-September 2006)  
6. Biaya Penelitian : Rp. 3.000.000 (Tiga juta rupiah).
- 

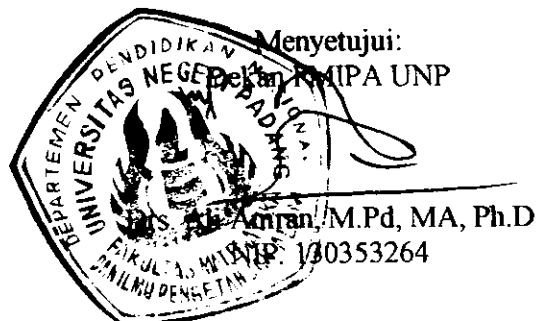
Padang, Desember 2006

Menyetujui,  
Ketua Jurusan Kimia  
FMIPA UNP

Dra. Andromeda, M.Si  
NIP.131668022

Ketua Peneliti,

Dra. Minda Azhar, M.Si  
NIP. 131972090



## ABSTRAK

Pada umbi dahlia terdapat enzim inulinase yang merupakan biokatalis reaksi hidrolisis pada inulin. Tujuan penelitian adalah menentukan aktivitas optimum enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol pada variasi suhu (45, 50, 55 dan 60<sup>0</sup>C), 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 optimum enzim inulinase hasil fraksinasi dengan etanol dari umbi dahlia adalah  $171,4037 \cdot 10^{-5}$  unit/mL pada inulin 1%, pH 5, suhu 55<sup>0</sup>C, dan waktu inkubasi 15 menit.

## PENGANTAR

Kegiatan penelitian merupakan bagian dari darma Perguruan Tinggi disamping pendidikan dan pengabdian kepada masyarakat. Kegiatan penelitian yang berjudul '*Aktivitas Enzim Inulinase Umbi Dahlia Hasil Fraksinasi dengan Etanol*' telah selesai dilakukan. Penelitian ini merupakan tahap awal dari penelitian yang bertemakan '*inulinase dari umbi dahlia*'. Mudah-mudahan hasil penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu biokimia khususnya enzim.

Penelitian ini tidak akan terlaksana tanpa bantuan berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dekan FMIPA UNP, Ibu Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNP dan teknisi Laboratorium Penelitian Kimia FMIPA UNP. Secara khusus penulis menyampaikan terimakasih kepada FORUM HEDS (*Forum for Higher Education Development Support*) yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini.

Terimakasih

Padang, Desember 2006

Penulis,

Dra. Minda Azhar, M.Si  
NIP. 131972090

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	i
<b>LEMBAR IDENTITAS</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	ix
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Masalah Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
A. Umbi Dahlia .....	5
B. Inulin .....	5
C. Enzim Inulinase.....	8
D. Ekstraksi Enzim .....	10
<b>BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b> .....	12
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN</b> .....	13
A. Jenis Penelitian .....	13
B. Variabel Penelitian .....	13
C. Objek Penelitian .....	13
D. Alat dan Bahan .....	13
E. Prosedur Penelitian .....	13
F. Pengolahan dan Analisis Data .....	17

<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	18
A. Hasil Penelitian .....	18
1. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi .....	18
2. Ekstrak Inulin .....	19
3. Kurva Standar Albumin .....	19
4. Absorbansi Protein Ekstrak Enzim Inulinase .....	20
5. Kurva Standar Fruktosa .....	20
6. Absorbansi Fruktosa akibat Aktivitas Enzim Inulinase .....	21
B. Pembahasan .....	24
1. Ekstrak Inulin .....	24
2. Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi .....	24
3. Aktivitas Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi .....	25
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	33
A. Kesimpulan .....	33
B. Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	34
<b>LAMPIRAN</b> .....	36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia inulin .....	6
2. Deretan residu asam amino inulinase dari <i>Aspergillus awamori</i> .....	9
3. Reaksi Biuret .....	25
4. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu .....	26
5. Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu .....	27
6. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH .....	28
7. Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase pada variasi pH .....	29
8. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi .....	30
9. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi .....	32
10. Absorbansi albumin pada berbagai $\lambda$ .....	38
11. Kurva kalibrasi standar albumin pada $\lambda$ 510 nm .....	38
12. Absorbansi fruktosa pada berbagai $\lambda$ . .....	39
13. Kurva kalibrasi standar fruktosa pada $\lambda$ 540 nm .....	39
14. Ekstrak inulinase substrat fruktosa setelah penambahan reagen Nelson's .....	40
15. Ekstrak inulinase substrat fruktosa setelah penambahan reagen Nelson's dan reagen Arsenomolibdat .....	40



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi umbi dahlia kering .....	6
2. Kandungan inulin pada pangan manusia .....	7
3. Uji kualitatif dan massa ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi .....	19
4. Absorbansi larutan albumin pada berbagai $\lambda$ .....	20
5. Absorbansi larutan albumin pada $\lambda$ 500 nm .....	20
6. Absorbansi protein ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi .....	20
7. Absorbansi larutan fruktosa pada berbagai $\lambda$ .....	21
8. Absorbansi larutan fruktosa pada $\lambda$ 540 nm .....	21
9. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi pH dan suhu .....	22
10. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi pH dan suhu .....	22
11. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi pH dan suhu .....	22
12. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi .....	23
13. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi .....	23
14. Absorbansi dan kadar fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi .....	24
15. Uji kualitatif dan kuantitatif ekstrak enzim inulinase .....	25
16. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu .....	26
17. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH .....	28
18. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi. ....	30
19. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi. ....	31

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Curriculum vitae .....	36
2. Kurva kalibrasi standar albumin .....	38
3. Kurva kalibrasi standar fruktosa .....	39
4. Ekstrak inulinase substrat fruktosa .....	40

# 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). Oleh sebab itu, 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, 2001:1). 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 inulinase merupakan alternatif yang tepat digunakan untuk memproduksi 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  $20\text{ gL}^{-1}$  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<sup>+</sup> dan diaktifkan oleh 1mM Ca<sup>2+</sup> atau Mg<sup>2+</sup> (Gauda, 2002:1).

Informasi detail enzim inulinase dari umbi tanaman 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 metanol, etanol, isopropanol, aseton dan kloroform (Heinicke dan Gortner, 1957:229).

Jenis pengestraksi yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim yang diekstraksi. Enzim bromelain yang diekstraksi dengan aseton dingin (-15<sup>0</sup>C) memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pengestraksi ammonium sulfat, metanol dan isopropanol (Heinicke, 1957: 229). Aktivitas enzim kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum* lebih tinggi menggunakan pengestraksi ammonium sulfat dibandingkan pengestraksi etanol dan aseton. (Wijaya, 2002:30). Aktivitas optimum ekstrak enzim inulinase dari umbi dahlia dengan pengestraksi aseton dingin adalah 0,0705 unit/mL pada pH 4, suhu 50<sup>0</sup>C dengan konsentrasi substrat 1% dan lama inkubasi 30 menit (Maizona, 2005).

Etanol sebagai pengekstraksi enzim inulinase dari umbi dahlia secara fraksinasi belum pernah dilaporkan sebelum ini. Pada hal etanol termasuk pengekstraksi yang paling sering digunakan untuk mengekstraksi enzim secara fraksinasi. Hal ini karena senyawa tersebut sangat larut dalam air, tidak bereaksi dengan protein dan mudah menguap (Scopes, 1987: 57). Oleh sebab itu diteliti aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol.

## **B. Masalah Penelitian**

Yang menjadi masalah pada penelitian ini adalah bagaimanakah aktivitas optimum enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol. Aktivitas optimum 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 *decoratif formal* berwarna merah tua.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. 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).

#### B. Inulin.

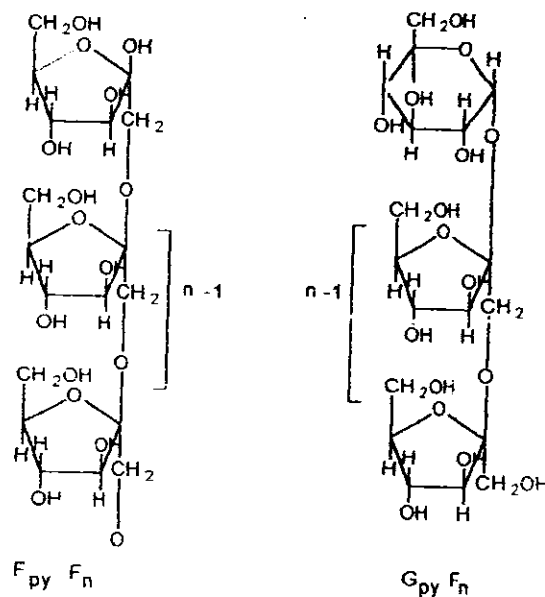
Inulin merupakan substrat enzim inulinase. Inulin adalah polimer alami kelompok karbohidrat. Monomer inulin adalah fruktosa yang jumlahnya bervariasi tergantung sumbernya. Antara monomer fruktosa dihubungkan dengan ikatan  $\beta(2\rightarrow1)$  fruktosil-fruktosa membentuk fruktan. Tiap ujung polimer inulin dapat hadir glukosa (Franck,

2003:442). Oleh sebab itu polimer inulin dapat ditulis GF<sub>n</sub> yaitu fruktan dengan ujung terminal glukosa atau F<sub>n</sub> 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  
(Frank, 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 panas 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 selau berubah  
(Frank, 2003:445)

## C. 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, mikroorganisme dan tanaman yang mengandung inulin.

### 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  $\beta$ -pleated-sheet.

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  $Ca^{2+}$  atau  $Mg^{2+}$  (Gauda, 2002:1).

### 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 inulinase yang dapat

mengkatalisis pembentukan 1  $\mu\text{mol}$  fruktosa setiap menitnya pada kondisi reaksi tertentu. Definisi ini dinamakan juga satu unit inulinase (U). Aktivitas spesifik enzim inulinase adalah jumlah aktivitas enzim inulinase per miligram protein. Semakin tinggi aktivitas spesifik enzim inulinase semakin murni enzim tersebut.

```
1  FNYDQPYRGQ YHFSPQKNWM NDPNGLLYHN GTYHLFFQYN PGGIEWGNIS
51  WGHAISEDLT HWEEKPVALL ARGFGSDVTE MYFSGSAVAD VNNTSGFGKD
101 GKIPLVAMYT SYYPVAQTLF SGQTVQEDQQ SQSIAYSLDD GLTWTTYDAA
151 NPVIPNPPSP YEAEYQNFRD PFVFWHDESQ KWVVVTSIAE LHKLAIYTS
201 NLKDWKLVSE FGPYNAQGGV WECPLVKLP LDSGNSTKWV ITSGLNPGGP
251 PGTVGSQTQY FVGEFDGTFE TPDADTVYPG NSTANWMDWG PDFYAAAGYN
301 GLSLNDHVHI GWMNNWQYGA NIPTYPWRSA MAIPRHMALK TIGSKATLVQ
351 QPQEAWSSIS NKRPIYSRTF KTLSEGSTNT TTTGETFKVD LSFSAKSKAS
401 TFAIALRASA NFTEQTLVGY DFAKQQIFLD RTHSGDVSFD ETFASVYHGP
451 LTPDSTGVVK LSIFVDRSSV EVFGGQGETT LTAQIFPSSD AVHARLASTG
501 GTTEDVRADI YKIASTWN
```

Gambar 2. Deretan residu asam amino inulinase dari *Aspergillus awamori* (Nagem, 2004:1)

Kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin akibat aktivitas 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 enadiol. Gugus aldehid pada aldosa tersebut dalam suasana basa dapat dioksidasi oleh ion kupri ( $\text{Cu}^{2+}$ ) menjadi suatu asam aldonat dan kupro oksida ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Ion kupro ( $\text{Cu}^+$ ) selanjutnya direaksikan dengan reagen arsenomolibdat menghasilkan warna biru (*molybdenum blue*). Warna biru yang terbentuk diukur absorbansinya

dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  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 dan 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 dikoreksikan pada kurva standar fruktosa sehingga diperoleh banyaknya fruktosa yang terbentuk akibat hidrolisis inulin dengan katalis enzim inulinase. Pada penelitian ini kadar protein ditentukan dengan metoda Lowry karena metoda ini lebih sensitif dibandingkan metoda lain. Data kadar protein diperlukan untuk menentukan aktivitas spesifik enzim.

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 45°C pada medium yang mengandung 20 gL<sup>-1</sup> inulin (Souza-Motta, 2005: 1). Aktivitas optimal 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).

#### **D. Ekstraksi Enzim**

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).

Jika pelarut organik (misalnya etanol) ditambahkan pada larutan mengandung protein (pelarut air), maka kelarutan protein turun dengan turunnya temperatur. Campuran ini tidak membeku pada 0<sup>0</sup>C. Pada temperatur rendah (di bawah 10<sup>0</sup>C) molekul pelarut organik tidak dapat memasuki struktur internal protein yang dapat menyebabkan ketidakstabilan struktur protein. Sebaliknya pada temperatur tinggi (di atas 10<sup>0</sup>C) molekul organik kecil dapat memasuki celah permukaan protein yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi. Pada keadaan ini, molekul organik berinteraksi dengan residu asam amino internal hidrofobik protein. Pada temperatur yang lebih tinggi interaksi hidrofobik intramolekul pada molekul protein lebih kuat dan relatif lebih penting dalam memelihara integritas molekul. Kehilangan interaksi ini dapat mengakibatkan denaturasi autokatalitik (Scopes, 1987:58). Dengan demikian protein lebih mudah terdenaturasi dalam pelarut organik pada temperatur di atas 10<sup>0</sup>C. Oleh sebab itu suhu ekstraksi enzim dilakukan di bawah 10<sup>0</sup>C dan sebaiknya di bawah 0<sup>0</sup>C.

Jenis pengestraksi yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim yang diekstraksi. Enzim bromelain yang diekstraksi dengan aseton dingin (-15<sup>0</sup>C) memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pengestraksi ammonium sulfat, metanol dan isopropanol (Heinicke, 1957: 229). Aktivitas enzim kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum* lebih tinggi menggunakan pengestraksi ammonium sulfat dibandingkan pengestraksi etanol dan aseton. (Wijaya, 2002:30). Aktivitas optimum ekstrak enzim inulinase dari umbi dahlia dengan pengestraksi aseton dingin adalah 0,0705 unit/mL pada pH 4 dan suhu 50<sup>0</sup>C dengan konsentrasi substrat 1% dan lama inkubasi 30 menit (Maizona, 2005).

## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **A. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas optimum enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol 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 etanol 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 Juli sampai September 2006.

#### **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 enzim inulinase umbi dahlia.

#### **C. Objek Penelitian**

Objek penelitian adalah umbi dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua yang tumbuh di desa Padangluar Kotamadya Bukittinggi.

#### **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, asam asetat, etanol, karbon aktif,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KNa}$  tartarat, reagen folin ciocalteu, aquades, albumin, fruktosa,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ammonium molybdat,  $\text{Na}$  arsenat,  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  dan  $\text{ZnSO}_4$ .

#### **E. Prosedur penelitian**

Langkah-langkah penelitian adalah sebagai berikut :

- 1) Mengekstraksi enzim inulinase dari umbi dahlia dengan etanol

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

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

### **1. 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 4 dingin diblender, kemudian disaring dengan kain kasa. pH campuran diatur tetap 4 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 dilakukan pada suhu 0-4°C.

Fraksinasi I : Supernatan ditambah etanol 95% sebanyak volume supernatan dan diaduk sampai homogen. Larutan ini didiamkan dalam *freezer* selama 24 jam. Supernatan disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan dalam lemari pendingin dan dilarutkan dalam buffer asetat 0,2M pH 4. Fraksi cairnya digunakan untuk fraksinasi ke II dengan cara seperti fraksinasi I. Fraksinasi dilakukan sampai tiga kali.

### **2. 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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 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  $\lambda$  maksimum. Sebagai larutan standar digunakan larutan albumin.

### **3. Ekstraksi inulin**

Ekstraksi inulin dari ubi dahlia dilakukan sesuai prosedur Andyani (2001:21-23) sebagai berikut : Ubi dahlia yang sudah bersih, dipotong dan diblender dengan air 1:2 (b:v). Kemudian campuran ini dipanaskan pada penangas air ( $80-90^{\circ}\text{C}$ , 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 (inulian basah I) ditambahkan air (1:2) kemudian dipanaskan di penangas air ( $70^{\circ}\text{C}$ , 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 ( $50-60^{\circ}\text{C}$ , 6-7 jam) lalu dihaluskan.qw

### **4. Pengukuran absorbansi larutan standar fruktosa**

Absorbansi larutan standar fruktosa ditentukan sesuai prosedur Nelson's (Alexander, 1993:57). Penentuan  $\lambda$  absorbansi maksimum fruktosa digunakan larutan

standar fruktosa 30 ppm. Absorbansi diukur pada variasi  $\lambda$  500-560 nm. Absorbansi untuk kurva kalibrasi larutan standar fruktosa dilakukan pada  $\lambda$  maksimum penyerapan fruktosa. Pada masing-masing tabung reaksi dimasukkan larutan standar fruktosa 1 mL dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm. Kemudian ke dalam setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen Nelson's [50 mL larutan Nelson's A (tiap L mengandung 25 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 25 g NaK tartrat, 20 g  $\text{NaHCO}_3$  dan 200g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat)], tabung reaksi ditutup dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit. Larutan segera didinginkan ( $25^\circ\text{C}$ ) kemudian ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat (tiap liter mengandung 50 g ammonium molybdat, 42 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\lambda$  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  $\text{ZnSO}_4$  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 ( $25^{\circ}\text{C}$ ). 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  $\lambda$  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 hasil fraksinasi dengan etanol 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 dari umbi tanaman dahlia diekstraksi dengan etanol dingin ( $-15^{\circ}\text{C}$ ) 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 3. Setiap endapan hasil fraksinasi ditentukan massanya dengan timbangan digital Mettler AE200. Massa semua endapan ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi adalah 9,3997 g yang diperoleh dari 200 g umbi dahlia yang telah dikupas dan dipotong. Hasil yang diperoleh dimuat pada Tabel 3.

Tabel 3. 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
++	+++	+	0,5051	1,2628	7,6318

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 desa Padangluar Kotamadya Bukittinggi. Inulin yang diperoleh 47,1133 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 spektrometri-20 dengan metoda Lowry. Pada metoda ini digunakan albumin sebagai standar. Penentuan  $\lambda$  maksimum digunakan larutan albumin 100 ppm. Panjang gelombang yang dideteksi adalah 480, 490, 500, 510 dan 520 nm (Tabel 4). Pada  $\lambda$  500 nm diukur absorbansi larutan albumin konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm. Data yang diperoleh dimuat pada Tabel 5.

Tabel 4. Absorbansi larutan albumin pada berbagai  $\lambda$

No	$\lambda$ (nm)	Absorbansi
1	480	0,1457
2	490	0,1528
3	500	0,1557
4	510	0,1537
5	520	0,1526

Tabel 5. Absorbansi larutan albumin pada  $\lambda$  500 nm

No	Konsentrasi albumin (ppm)	Absorbansi
1	50	0,0562
2	75	0,1094
3	100	0,1605
4	125	0,1959
5	150	0,2314

#### 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  $\lambda$  500 nm. Absorbansi protein setiap hasil fraksinasi dimuat pada Tabel 6.

Tabel 6. Absorbansi protein ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi

No	Ekstrak enzim inulinase	Absorbansi
1	E1	0,0419
2	E2	0,0635
3	E3	0,0348

#### 5. Kurva Standar Fruktosa

Kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin dengan katalis inulinase pada setiap hasil fraksinasi ditentukan dengan mengukur absorbansi fruktosa menggunakan spektrometri dengan prosedur Nelson. Pada metoda ini digunakan fruktosa sebagai standar.

Penentuan  $\lambda$  maksimum digunakan larutan fruktosa 30 ppm. Panjang gelombang yang didekteksi adalah 500, 510, 520, 530, 540, 550, dan 560 nm (Tabel 7). Pada  $\lambda$  540 nm diukur absorbansi larutan fruktosa konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm (Tabel 8).

Tabel 7. Absorbansi larutan fruktosa pada berbagai  $\lambda$

No	$\lambda$ (nm)	Absorbansi			
		1	2	3	Rerata
1	500	0,550	0,549	0,549	0,549
2	510	0,552	0,553	0,551	0,551
3	520	0,555	0,554	0,554	0,554
4	530	0,555	0,555	0,555	0,555
5	540	0,558	0,560	0,558	0,559
6	550	0,553	0,553	0,553	0,553
7	560	0,554	0,554	0,554	0,554

Tabel 8. Absorbansi larutan fruktosa pada  $\lambda$  540 nm

No	Konsentrasi fruktosa (ppm)	Absorbansi			
		1	2	3	Rerata
1	10	0,241	0,240	0,240	0,240
2	20	0,390	0,391	0,391	0,391
3	30	0,554	0,554	0,554	0,554
4	40	0,725	0,725	0,725	0,725
5	50	0,903	0,903	0,903	0,903
6	60	1,033	1,033	1,034	1,033

## 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  $\lambda$  540 nm. Pengukuran dilakukan pada fraksinasi I, II dan III. Data dimuat pada Tabel 9,10 dan 11. Pada tabel tersebut juga dimuat kadar fruktosa pada pH 5 variasi suhu dan pada suhu 55<sup>0</sup>C variasi pH.

Tabel 9. Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi pH dan suhu

PH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi I pada variasi suhu ( <sup>0</sup> C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,430; 0,431	A: 0,444; 0,443	A: 0,452; 0,451	A: 0,422; 0,423
			F: 23,3062	
4,5	A: 0,413; 0,413	A: 0,424; 0,423	A: 0,434; 0,433	A: 0,419; 0,420
			F: 22,1955	
5,0	A: 0,443; 0,443	A: 0,460; 0,461	A: 0,479; 0,478	A: 0,427; 0,427
	F: 22,7817	F: 23,8615	F: 24,9722	F: 21,7944
5,5	A: 0,436; 0,435	A: 0,441; 0,439	A: 0,460; 0,457	A: 0,422; 0,423
			F: 23,7381	

Keterangan : A adalah absorbansi

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

Absorbansi fruktosa pada substrat ekstrak inulin (kontrol) adalah 0,410; 0,409

Kadar fruktosa pada substrat ekstrak inulin (kontrol) adalah 20,7146  $\mu\text{L}/\text{mL}$

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

PH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi II pada variasi suhu ( <sup>0</sup> C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,438; 0,437	A: 0,438; 0,437	A: 0,492; 0,492	A: 0,431; 0,429
			F: 25,8053	
4,5	A: 0,430; 0,429	A: 0,433; 0,433	A: 0,488; 0,487	A: 0,425; 0,427
			F: 25,4967	
5,0	A: 0,445; 0,445	A: 0,463; 0,460	A: 0,526; 0,526	A: 0,504; 0,504
	F: 22,9051	F: 23,9232	F: 27,9032	F: 26,5457
5,5	A: 0,439; 0,438	A: 0,449; 0,450	A: 0,505; 0,505	A: 0,492; 0,491
			F: 26,6074	

Keterangan : A adalah absorbansi

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

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

PH	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi suhu ( <sup>0</sup> C)			
	45	50	55	60
4,0	A: 0,397; 0,395	A: 0,400; 0,399	A: 0,404; 0,405	A: 0,378; 0,376
			F: 20,4060	
4,5	A: 0,387; 0,388	A: 0,393; 0,393	A: 0,398; 0,400	A: 0,366; 0,368
			F: 20,0666	
5,0	A: 0,401; 0,401	A: 0,407; 0,408	A: 0,409; 0,409	A: 0,397; 0,397
	F: 20,1901	F: 20,5911	F: 20,6837	F: 19,9432
5,5	A: 0,396; 0,397	A: 0,403; 0,404	A: 0,406; 0,404	A: 0,381; 0,279
			F: 20,4369	

Keterangan : A adalah absorbansi

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



## Variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi dilakukan pada pH 5 dan suhu 55<sup>0</sup>C dengan dua kali ulangan. Absorbansi fruktosa akibat aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi diukur pada  $\lambda$  540 nm. Pengukuran dilakukan pada fraksinasi I, II dan III (Tabel 12, 13 dan 14). Pada tabel tersebut juga dimuat kadar fruktosanya.

Tabel 12. 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: 0,242; 0,243 F: 10,4097	A: 0,419; 0,421 F: 21,3625	A: 0,666; 0,667 F: 36,5729	A: 0,957; 0,958 F: 54,5292
30	A: 0,248; 0,249 F: 10,7800	A: 0,445; 0,446 F: 22,9359	A: 0,694; 0,696 F: 38,2698	A: 0,970; 0,971 F: 55,3313
45	A: 0,259; 0,262 F: 11,5204	A: 0,474; 0,474 F: 24,6946	A: 0,745; 0,744 F: 41,3859	A: 0,997; 0,998 F: 56,9974
60	A: 0,251; 0,253 F: 10,9959	A: 0,464; 0,465 F: 24,1084	A: 0,719; 0,722 F: 39,9050	A: 0,976; 0,976 F: 55,6707
Kontrol	A: 0,241; 0,240 F: 10,2863	A: 4,416; 0,417 F: 21,1465	A: 0,661; 0,661 F: 36,2335	0,955; 0,953 F: 54,3132

Keterangan : A adalah absorbansi dan F adalah kadar fruktosa dalam  $\mu\text{L}/\text{mL}$   
Kontrol adalah substrat ekstrak inulin

Tabel 13. 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: 0,255; 0,256 F: 11,2119	A: 0,492; 0,491 F: 25,7744	A: 0,734; 0,737 F: 40,7380	A: 0,996; 0,995 F: 56,8740
30	A: 0,264; 0,265 F: 11,7673	A: 0,520; 0,519 F: 27,5022	A: 0,756; 0,757 F: 42,1264	A: 1,030; 1,028 F: 58,9411
45	A: 0,267; 0,266 F: 11,8907	A: 0,509; 0,508 F: 26,8234	A: 0,710; 0,709 F: 39,2262	A: 1,015; 1,015 F: 58,0773
60	A: 0,256; 0,257 F: 11,2736	A: 0,497; 0,498 F: 26,1446	A: 0,704; 0,704 F: 38,8868	A: 1,022; 1,019 F: 58,4166

Keterangan : A adalah absorbansi  
F adalah kadar fruktosa dalam  $\mu\text{L}/\text{mL}$

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

Waktu inkubasi (menit)	Absorbansi fruktosa aktivitas inulinase fraksinasi III pada variasi konsentrasi inulin (%)			
	0,5	1,0	1,5	2,0
15	A: 0,180; 0,182	A: 0,389; 0,387	A: 0,641; 0,643	A: 0,921; 0,921
	F: 6,6148	F: 19,3879	F: 35,0611	F: 52,2769
30	A: 0,206; 0,207	A: 0,412; 0,413	A: 0,659; 0,658	A: 0,950; 0,949
	F: 8,1883	F: 20,8997	F: 36,0792	F: 54,0355
45	A: 0,193; 0,192	A: 0,401; 0,403	A: 0,651; 0,653	A: 0,944; 0,945
	F: 7,3244	F: 20,2518	F: 35,6781	F: 53,7270
60	A: 0,185; 0,185	A: 0,399; 0,398	A: 0,649; 0,651	A: 0,937; 0,939
	F: 6,8617	F: 20,0358	F: 35,5547	F: 53,3259

## B. Pembahasan

### 1. Ekstrak Inulin

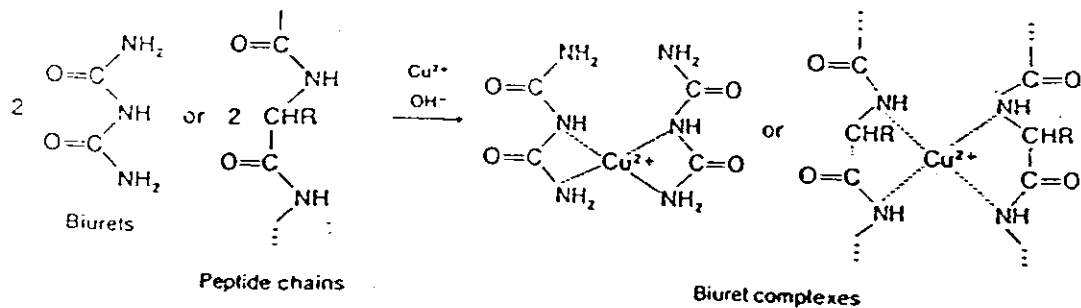
Inulin yang digunakan sebagai substrat enzim inulinase diekstraksi dari umbi tanaman dahlia jenis bunga *decorative formal* berwarna merah tua yang tumbuh di desa Padangluar Kotamadya Bukittinggi. Inulin yang diperoleh 47,1133 g dari 500 g umbi dahlia yang telah dikupas dan dipotong.

Uji kualitatif inulin dengan resolsinol dalam larutan HCl memberikan warna merah (uji positif). Warna ini terbentuk karena reaksi antara 5-hidroksimetil-furfural dengan resolsinol. Senyawa 5-hidroksimetil-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 15). 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 pengestraksi aseton. 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 15. Uji kualitatif dan kuantitatif ekstrak enzim inulinase

Uji kualitatif dan kuantitatif	Ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi		
	E1	E2	E3
Massa (g)	0,5051	1,2628	7,6318
Kadar protein (ppm)	40,3542	52,3077	36,4250
Uji Biuret	++	+++	+

### 3. Aktivitas Ekstrak Enzim Inulinase Hasil Fraksinasi

#### Variasi suhu

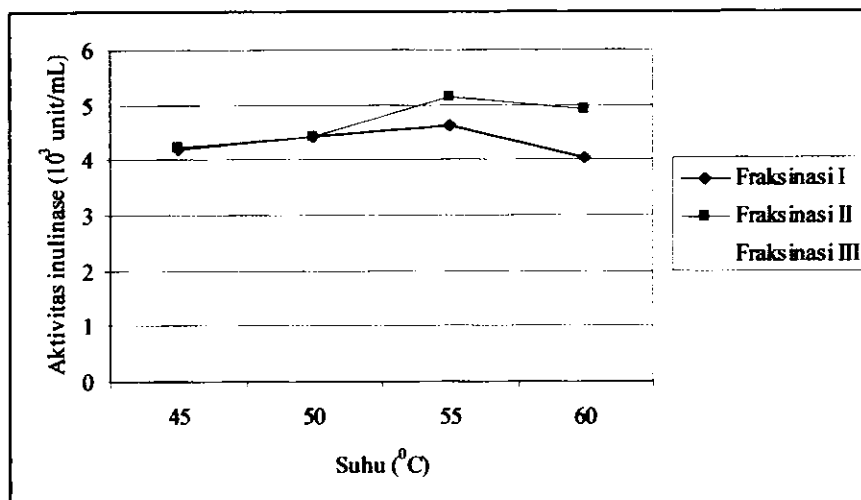
Aktivitas enzim inulinase didefinisikan sebagai  $\mu\text{mol}$  fruktosa yang dihasilkan setiap menitnya pada kondisi reaksi tertentu (Gouda, 2002:4). Definisi ini dinamakan

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 16.

Tabel 16. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu

Suhu (°C)	Aktivitas ekstrak enzim inulinase ( $10^{-3}$ unit/mL)			Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase ( $10^{-3}$ unit/mg protein)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
45	4,2188	4,2417	3,7389	104,5450	81,0910	102,6465
50	4,4188	4,4302	3,8132	109,5004	84,6955	104,6856
55	4,6245	5,1673	3,8303	114,5974	98,7860	105,1562
60	4,0360	4,9159	3,6932	100,0144	93,9799	1013917

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 45°C dan 50°C sampai 55°C (Gambar 4). Pada suhu 55°C dihasilkan fruktosa setiap menitnya paling besar.

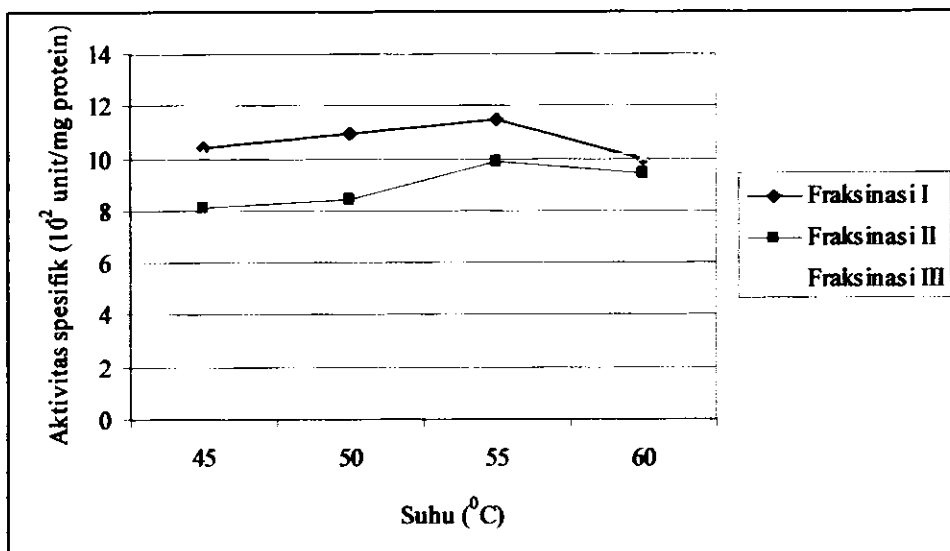


Gambar 4. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu

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 (Denniston,2004:584). Hal ini dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi. Denaturasi mengakibatkan aktivitas enzim turun. Keadaan ini terjadi pada suhu 60<sup>0</sup>C (Gambar 4). Dengan demikian suhu optimum ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi adalah 55<sup>0</sup>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 (Gambar 5). Enzim inulinase paling aktif terdapat pada hasil fraksinasi II karena dihasilkan fruktosa paling besar setiap menitnya (Gambar 4).



Gambar 5. Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase pada variasi suhu

### Variasi pH

Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH, suhu 55<sup>0</sup>C, konsentrasi inulin 1% dan waktu inkubasi 30 menit dimuat pada Tabel 17. 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

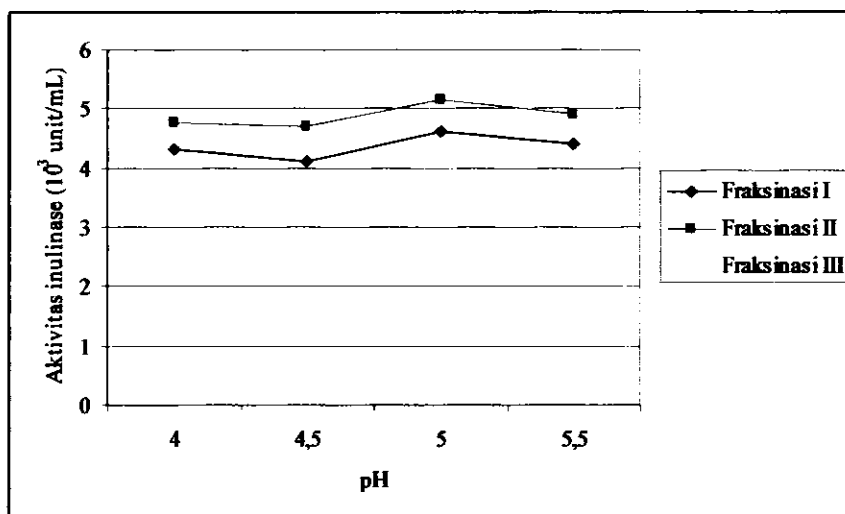
tertentu. Dengan demikian merubah pH lingkungan enzim dapat merubah muatan pada permukaan molekul enzim. Perubahan muatan ini akan mempengaruhi aktivitas enzim.

Hal ini dapat diamati pada aktivitas enzim inulinase pada pH 4, 4,5, 5,0 dan 5,5.

Tabel 17. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH

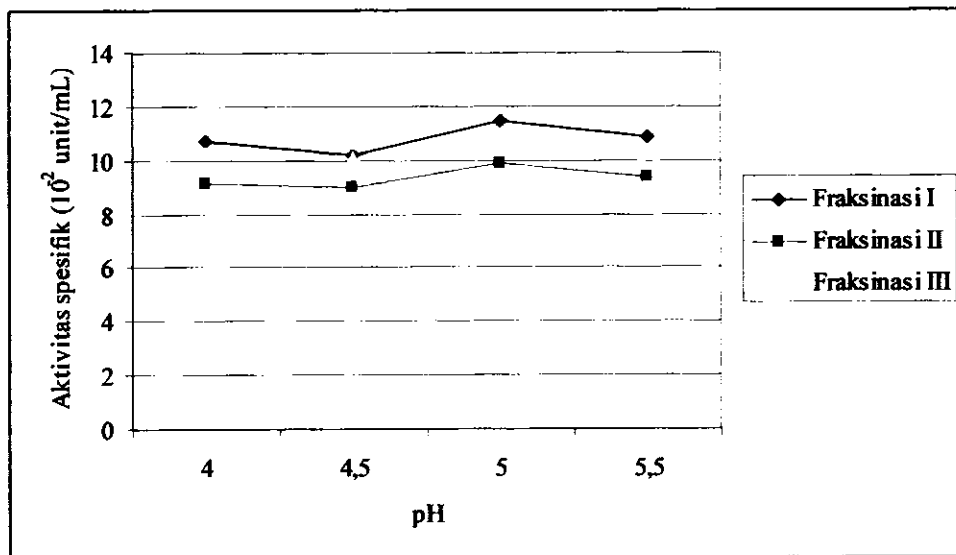
pH	Aktivitas ekstrak enzim inulinase ( $10^{-3}$ unit/mL )			Aktivitas spesifik ekstrak enzim ( $10^{-3}$ unit/mg protein)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
4,0	4,3161	4,7788	3,7789	106,9519	91,3585	103,7485
4,5	4,1103	4,7216	3,7160	101,8549	90,2662	102,0191
5,0	4,6245	5,1673	3,8303	114,5974	98,7860	105,1562
5,5	4,3959	4,9273	3,7846	108,9341	94,1984	103,9013

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 6). Pada pH tersebut dihasilkan fruktosa setiap menitnya paling tinggi untuk setiap aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi (Gambar 6). Dengan demikian pH optimum enzim inulinase adalah 5.



Gambar 6. Aktivitas ekstrak enzim inulinase pada variasi pH

Aktivitas spesifik enzim inulinase yang paling besar terdapat pada hasil fraksinasi I. Hal ini berarti enzim inulinase lebih murni pada hasil fraksinasi I (Gambar 7). Enzim inulinase yang paling aktif terdapat pada hasil fraksinasi II karena dihasilkan fruktosa paling besar setiap menitnya (Gambar 6).



Gambar 7. Aktivitas spesifik ekstrak enzim inulinase pada variasi pH

### Variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

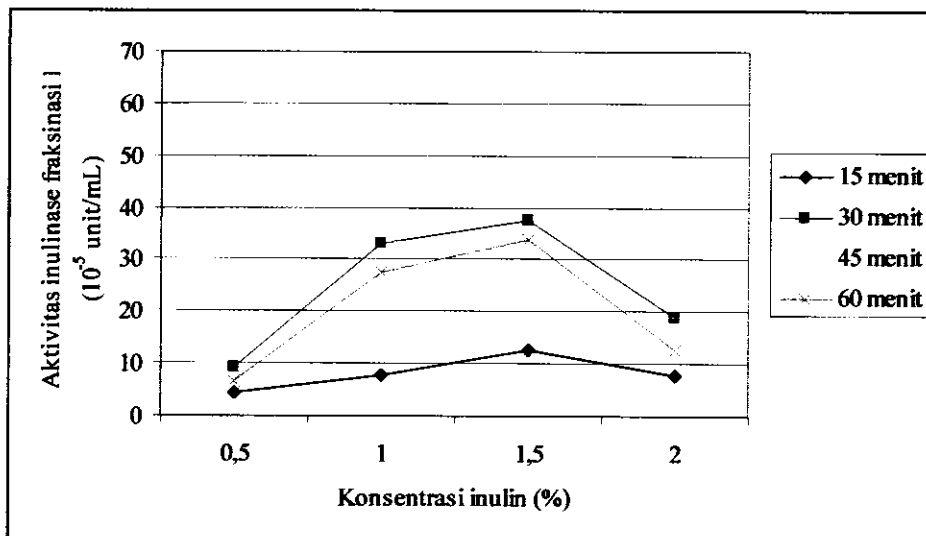
Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinaasi I pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi, pH 5, suhu 55<sup>0</sup>C dimuat pada Tabel 18. Aktivitas enzim yang tinggi dapat diartikan kecepatan reaksi enzimatik tinggi. Kecepatan reaksi enzimatik pada batas tertentu tergantung konsentrasi substrat. 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% dan 1 %. Ketika konsentrasi substrat sangat tinggi, semua enzim berikatan dengan substrat. Pada saat ini enzim dikatakan jenuh dengan substrat dan kecepatan reaksi mencapai maksimum. Keadaan ini kemungkinan besar terjadi pada konsentrasi substrat inulin 1,5% dengan waktu inkubasi 45 menit. Pada kondisi ini aktivitas enzim inulinase paling

besar yaitu  $63,6099 \cdot 10^{-5}$  unit /mL. Dengan demikian kondisi optimum enzim inulinase hasil fraksinasi I adalah pada konsentrasi inulin 1,5% dengan waktu inkubasi 45 menit.

Tabel 18. 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 ( $10^{-5}$ unit/mL)			
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
15	4,5704	8,000	12,5704	8,000
30	9,1426	33,1370	37,7093	18,8537
45	15,2358	43,8037	63,6099	33,1383
60	06,5704	27,4250	33,9954	12,5694

Jika konsentrasi substrat terus dinaikkan, kecepatan reaksi tetap dengan kata lain jumlah fruktosa yang dihasilkan tetap. Pengamatan pada konsentrasi substrat inulin 2% ternyata jumlah fruktosa yang dihasilkan turun (aktivitas enzim inulinase turun). Penurunan aktivitas enzim inulinase ini diamati pada waktu inkubasi 15, 30, 45 dan 45 menit (Gambar 8). Hal ini diduga pada ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi I terdapat enzim yang dapat mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain.



Gambar 8. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi I pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi



Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin, waktu inkubasi, pH 5, suhu 55<sup>0</sup>C dimuat pada Tabel 19. Ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi II jenuh dengan substrat pada konsentrasi inulin 1%. Oleh sebab itu penambahan substrat menjadi 1,5% dan 2 % tidak memperbanyak  $\mu$ mol fruktosa yang terbentuk setiap menitnya (Gambar 9). Kenyataan yang diamati adalah kadar fruktosa makin turun. Dengan kata lain aktivitas enzim inulinase turun. Penurunan aktivitas enzim inulinase juga terjadi pada waktu inkubasi 30, 45 dan 60 menit (Gambar 9). Penurunan ini diduga disebabkan pada ekstrak enzim inulinase aktif enzim yang mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain. Dengan demikian kondisi optimum aktivitas enzim inulinase hasil fraksinasi II adalah pada konsentrasi inulin 1% dan waktu inkubasi 15 menit.

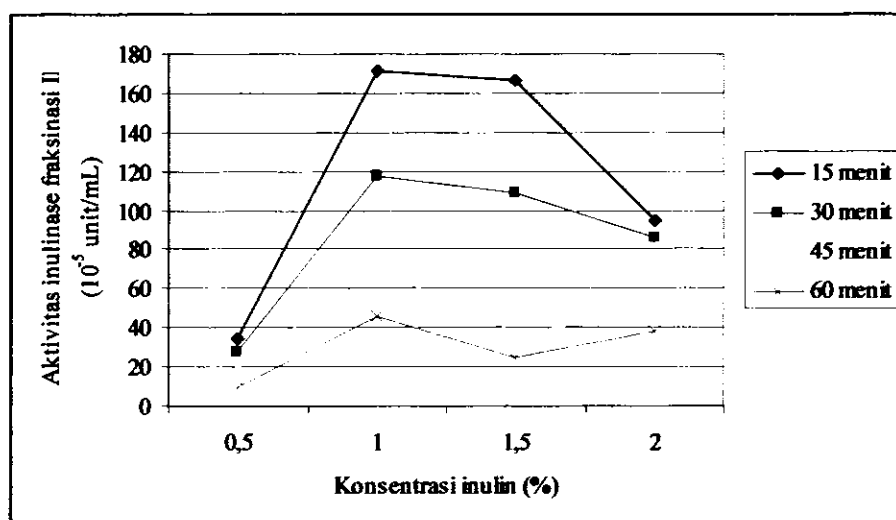
Tabel 19. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi.

Waktu inkubasi (menit)	Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin ( $10^{-5}$ unit/mL)			
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
15	34,2815	171,4037	166,8333	94,8444
30	27,4259	117,6981	109,1278	85,7019
45	19,8074	70,0852	36,9469	46,4704
60	09,1417	46,2787	24,5676	37,9944

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 (Lampiran 4).

Enzim yang mengkatalisis perubahan fruktosa menjadi senyawa lain diduga paling aktif pada ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi III. Hal ini dapat diamati pada absorbansi inulin tanpa penambahan ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi (kontrol) lebih besar dibandingkan absorbansi fruktosa akibat aktivitas ekstrak enzim inulinase hasil fraksinasi III (Tabel 12 dan 14).



Gambar 9. Aktivitas ekstrak enzim inulinase fraksinasi II pada variasi konsentrasi inulin dan waktu inkubasi

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<sup>0</sup>C, waktu inkubasi 15 menit. Aktivitas optimum inulinase yang dimurnikan dari *Aspergillus niveus* adalah pada pH 4,0 dan 4,8, dan suhu 45<sup>0</sup>C pada medium yang mengandung 20 gL<sup>-1</sup> inulin (Souza-Motta, 2005:1). Aktivitas optimum inulinase dari *Kluyveromyces marxianus* ditemukan pada pH 5 dan suhu 60<sup>0</sup>C (Pessoa, 1999:4-5). Inulinase dari *Aspergillus fumigatus*, aktivitas optimumnya adalah pada pH 5,5 dan suhu 45<sup>0</sup>C (Gouda, 2002:589).

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Penelitian aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol dapat disimpulkan bahwa aktivitas optimum enzim inulinase hasil fraksinasi dengan etanol dari umbi dahlia adalah  $171,4037 \cdot 10^{-5}$  unit/mL pada inulin 1%, pH 5, suhu  $55^{\circ}\text{C}$ , dan waktu inkubasi 15 menit.

#### **B. Saran**

Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, maka disarankan :

1. Menentukan aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan pengeksrak yang lebih polar seperti ammonium sulfat
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
- Bergner, P.(2004). Inulin. . 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: . 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
- Maizona, D. (2005). Penentuan Aktivitas Inulinase Hasil Ekstraksi dari Umbi Dahlia. *Skripsi*.. FMIPA UNP Padang.
- 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. 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 Prattice*. 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.

## Lampiran 1. Curriculum 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	Perguruan Tinggi / Sekolah	Tempat
S-2	1996	Biokimia	ITB	Bandung
S-1	1990	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

- 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)

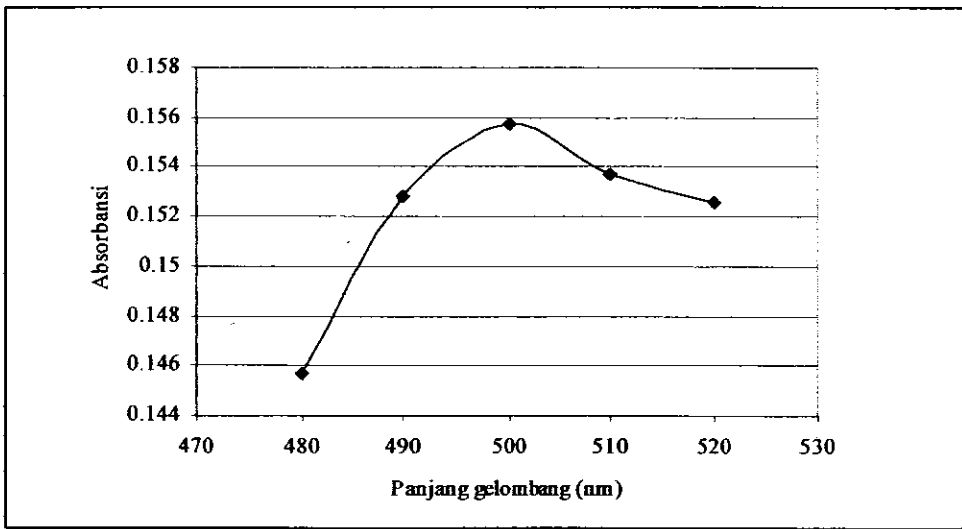
#### **Penelitian**

- 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. Pemanfaatan bromelain bongkol nenas pada proses pemisahan minyak dari santan kelapa (2000)
- e. Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa (2005)
- f. Pengaruh penambahan inulin pada karakteristik set yoghurt dari susu skim (2006)

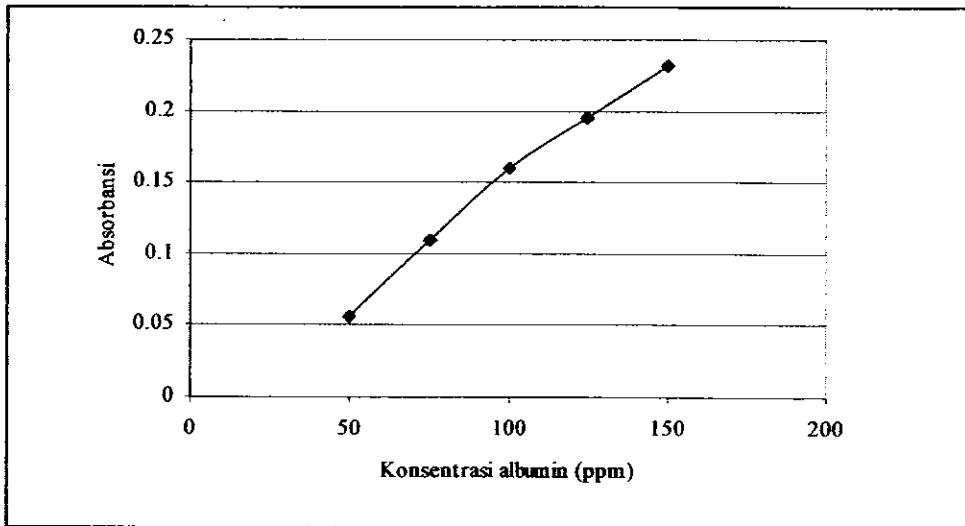
Padang, Desember 2006

Dra. Minda Azhar, M.Si  
NIP. 131972090

Lampiran 2. Kurva kalibrasi standar albumin

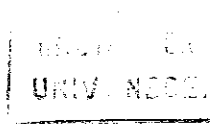


Gambar 10. Absorbansi albumin pada berbagai  $\lambda$



Gambar 11. Kurva kalibrasi standar albumin pada  $\lambda$  510 nm

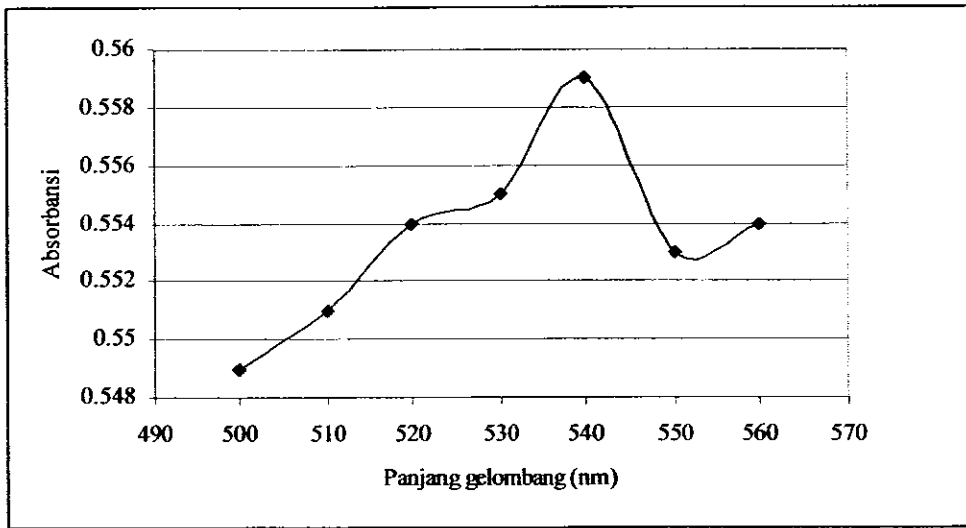
Keterangan :  $r = 0,99$  ;  $A = -3,102 \cdot 10^{-2}$  ;  $B = 1,807 \cdot 10^{-3}$   
Persamaan garis  $y = -3,102 \cdot 10^{-2} + 1,807 \cdot 10^{-3} x$



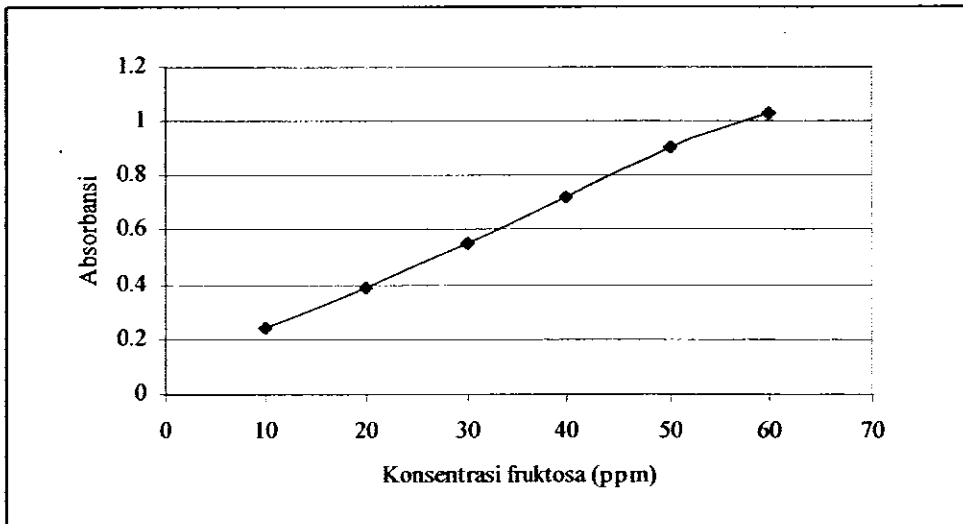




Lampiran 3. Kurva kalibrasi standar fruktosa



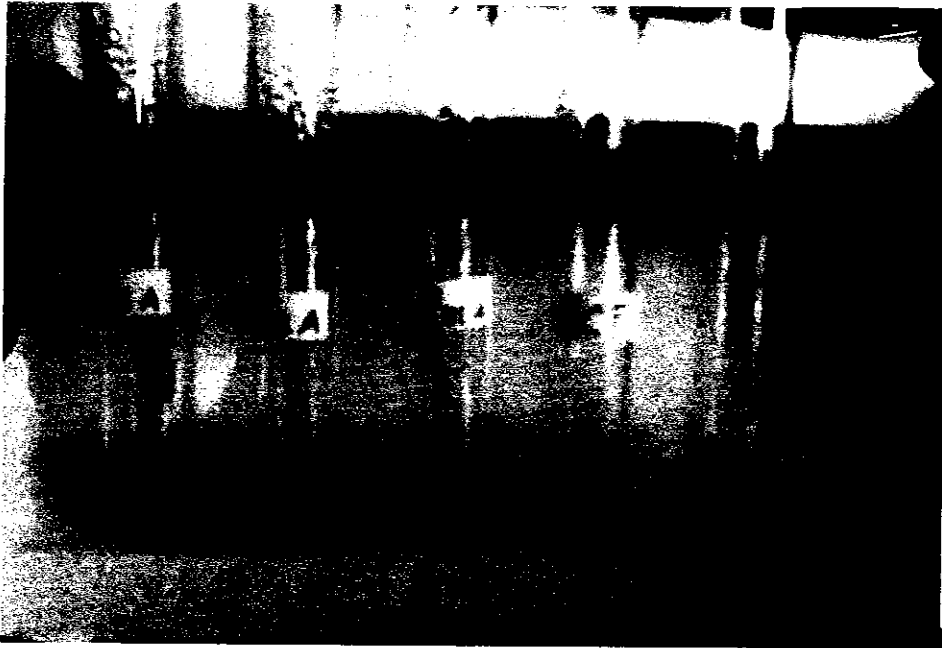
Gambar 12. Absorbansi fruktosa pada berbagai  $\lambda$



Gambar 13. Kurva kalibrasi standar fruktosa pada  $\lambda$  540 nm

Keterangan :  $r = 0,9993$  ;  $A = 7,38 \cdot 10^{-2}$  ;  $B = 1,6206 \cdot 10^{-2}$   
Persamaan garis  $y = 7,38 \cdot 10^{-2} + 1,6206 \cdot 10^{-2} x$

**Lampiran 4. Ekstrak inulinase substrat fruktosa**



**Gambar 14. Ekstrak inulinase substrat fruktosa setelah penambahan reagen Nelson's**



**Gambar 15. Ekstrak inulinase substrat fruktosa setelah penambahan reagen Nelson's dan reagen arsenomolibdat**