



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VIII
"Peningkatan Profesionalisme Pendidik dan Periset Sains Kimia di
Era Masyarakat Ekonomi Asean (MEA)"
Program Studi Pendidikan FKIP UNS
Surakarta, 14 Mei 2016



MAKALAH
PENDAMPING

PARALEL C

ISBN : 978-602-73159-1-4

KARAKTERISASI AMILASE DARI KEDELAI HITAM BANTUL

Arthary Gupita*, Purbowatiningrum Ria Sarjono dan Agustina LNA

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro,
Semarang, Indonesia

*Keperluan korespondensi, tel: 085640204257, email : ArtharyGupita@gmail.com

ABSTRAK

Amilase merupakan kelompok enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis amilum menjadi glukosa. Enzim ini dapat diisolasi dari berbagai sumber, salah satunya dari kedelai hitam (Glycine soja). Pemanfaatan amilase sebagai katalis di bidang industri sudah sejak lama dikembangkan terutama pada industri tekstil, hidrolisis pati, bir, roti, sirup, pemanis buatan, etanol, dan detergen. Enzim yang digunakan sebagai katalis dalam skala industri perlu ditentukan karakteristiknya. Penelitian ini bertujuan memperoleh amilase murni parsial dari kedelai hitam, memperoleh data aktivitas spesifik amilase, mendapatkan data karakter pH dan suhu optimum amilase dan mengetahui tipe amilase yang diperoleh dari kedelai hitam Bantul dengan perlakuan yang berbeda yaitu kedelai hitam dengan proses perendaman dan tanpa perendaman. Dalam rangka mencapai tujuan penelitian, dilakukan isolasi amilase dari kedelai hitam Bantul serta pemurnian enzim dengan fraksinasi bertingkat menggunakan amonium sulfat dan dialisis. Tahap selanjutnya adalah karakterisasi yang meliputi penentuan suhu dan pH optimum amilase. Penentuan aktivitas amilase dengan mengukur produk yang terbentuk yaitu glukosa menggunakan reagen DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Pengukuran kadar protein menggunakan metode Lowry. Hasil penelitian memperoleh amilase sampel kedelai hitam kering dan kedelai hitam rendaman murni parsial dengan tingkat kejenuhan amonium sulfat F1 (0-20%), F2 (20-40%), F3(40-60%), F4(60-80%) dan F5(80100%). Amilase dari kedelai hitam Bantul pada sampel kedelai kering diperoleh aktivitas tertinggi pada F5 dan pada sampel kedelai rendaman diperoleh aktivitas tertinggi pada F1. Kedua sampel memiliki aktivitas optimum amilase yaitu pH 6,2 dan suhu 37°C. F5 pada sampel kedelai kering diduga merupakan α -amilase tipe 1 dan/atau 2 sedangkan F1 pada sampel kedelai rendaman diduga merupakan α -amilase tipe 3

Kata Kunci: *Glycine soja, Amilase, Aktifitas spesifik*

PENDAHULUAN

Enzim amilase merupakan enzim dengan kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada molekul amilum. Enzim ini menghidrolisis amilum

melalui pemutusan ikatan α -1,4-glikosida, memutus dua unit glukosa pada saat yang sama dan memotong ikatan α -1,6-glikosida pada non reduksi terakhir amilosa dan amilopektin. Hasil hidrolisis molekul amilum

ini adalah molekul-molekul yang lebih kecil seperti dekstrin, maltosa dan glukosa sebagai unit terkecil [1]. Menurut Aiyer (2005), amilase tersebut adalah alfa amilase, beta amilase dan glucoamilase.

Amilase merupakan kelompok enzim yang sangat dibutuhkan dalam bidang industri, diantaranya industri tekstil, hidrolisis pati, bir, roti, sirup, pemanis buatan, etanol, dan detergen. Enzim ini bernilai komersil, maka perlu ditemukan sumber-sumber yang cukup banyak sebagai penghasil enzim amilase sesuai dengan karakteristik enzim amilase yang dibutuhkan [2].

Salah satu sumber amilase adalah dari biji-bijian, hal ini dibuktikan dari beberapa penelitian, antara lain oleh Sari (2004) menghubungkan aktivitas amilase dengan perkecambahan pada tiga varietas kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) yang berbeda, yaitu varietas Kawi, Mahameru, dan Pangrango sebesar 25,434; 13,542 dan 10,417 Unit/mL. Pada penelitian yang lain Arthasalina (2015) telah melakukan isolasi, karakterisasi dan penentuan parameter kinetika amilase dari kedelai kuning Lamongan dengan altivitas spesifik amilase tertinggi pada F1 sebesar 2,2628 unit/mg protein.

Berdasarkan penelitian terdahulu maka pada penelitian ini dilakukan isolasi, purifikasi dan karakterisasi amilase dari kedelai hitam Bantul. Kedelai hitam dipilih sebagai objek penelitian karena Indonesia memiliki beberapa varietas kedelai dan sudah pernah dilaporkan adanya aktivitas amilase dari kedelai, sehingga diperlukan adanya pendekatan. Pada penilitian ini amilase dari kedelai hitam Bantul di isolasi

dengan perlakuan yang berbeda yaitu kedelai hitam dengan proses perendaman dan tanpa perendaman, hal ini untuk mengetahui tipe amilase yang terisolasi dengan pendekatan yang berbeda. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memperoleh sumber alternatif baru amilase dan memberikan informasi karakter amilase dari kedelai hitam.

Tujuan penelitian ini adalah memperoleh amilase murni parsial dari kedelai hitam Bantul, memperoleh data aktivitas spesifik amilase, mendapatkan data karakter pH dan suhu optimum amilase dari kedelai hitam Bantul, mengetahui tipe amilase yang diperoleh dari kedelai hitam Bantul dengan perlakuan yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Bahan Dan Alat

Bahan

Kedelai hitam, bufer Fosfat, Amonium sulfat, amilum, Trichloro acetate (TCA), Bovine Serum Albumin (BSA), reagen Folin-ciocalteau, Asam 3,5-Dinitrosalisilat (DNS), Glukosa, Fenol, Natrium bisulfit, membran Selofan, Barium klorida, Natrium karbonat, Kalium-Natrium tartrat, tembaga sulfat dan akuades.

Alat

Sentrifugasi (Centrif-228), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), inkubator, lumpang dan mortar, timbangan, neraca analitik (kern 870), magnetic stirer (Quart), kulkas, membran selofan, kertas saring, gunting, tali, botol semprot,

aluminium foil, plastic wrap, dan alat-alat gelas untuk analisis.

Cara Kerja

1. Isolasi Amilase

Sampel penelitian berupa 250 g kedelai hitam yang diblender kemudian ditambahkan dengan 500 mL akuades dan dihomogenkan. Homogenat yang diperoleh selanjutnya disaring dan filtratnya disentrifugasi pada 3400 rpm selama 10 menit. Diperoleh endapan berisi sisa komponen-komponen sel dan supernatan yang merupakan ekstrak kasar enzim (EK).
Pemurnian Enzim

2. Pengendapan Dengan Garam Amonium Sulfat

Pengendapan dengan garam amonium sulfat dilakukan untuk memurnikan enzim (enzim kasar) dengan prinsip pengendapan. Amonium sulfat ditimbang sesuai fraksi yang dikehendaki 0-20% (dari tabel fraksinasi) dimasukkan dalam gelas beaker berisi ekstrak kasar sambil diaduk dengan magnetic stirrer dalam keadaan dingin. Campuran didiamkan selama 1 jam dalam keadaan dingin kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit sehingga diperoleh endapan dan filtrat untuk fraksi 0-20% (F1). Endapan dipisahkan dan disuspensi dengan 0,1 M bufer fosfat pH 6. Endapan tersebut merupakan fraksi 0-20%. Filtrat diperlakukan sama dengan di atas sehingga diperoleh fraksi fraksi dengan tingkat kejenuhan 20-40%, 40-60%, 60-80%, 80-100%.

3. Dialisis Enzim

Dialisis dilakukan dengan membran selofan yang sebelumnya dipanaskan

dahulu larutan EDTA 0,1 M dalam akuades mendidih selama 30 menit. Selofan diisi dengan larutan enzim hasil fraksinasi, kemudian diikat pada kedua ujungnya. Selofan yang telah berisi enzim direndam dalam bufer fosfat 0,001 M pH 6 dalam keadaan dingin. Bufer diaduk dengan magnetic stirrer dan dilakukan pengujian kandungan amonium sulfatnya setiap 1 jam dengan penambahan BaCl₂. Dialisis dihentikan jika hasil pengujian tidak menghasilkan endapan putih BaSO₄.

4. Penentuan Aktivitas Amilase

Satu unit amilase didefinisikan sebagai aktivitas enzim yang dapat menghasilkan 1 mg glukosa pada kondisi optimum per satuan waktu. Untuk penentuan unit aktivitas amilase, larutan substrat 1 mL amilum ditambahkan dengan 0,2 mL enzim dan 0,5 mL bufer fosfat 0,1 M pH 6 diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit kemudian ditambahkan larutan TCA 1,5 M sebanyak 0,5 mL. Larutan hasil inkubasi diambil sebanyak 1 mL dan 1 mL larutan DNS kemudian dilakukan pemanasan dalam gelombang optimum (465,5 nm) dengan spektrometer UV-Vis. Larutan kontrol dibuat dari 0,2 mL enzim yang telah dihilangkan aktivitasnya dengan penambahan 0,5 mL TCA 1,5 M) ditambah 0,5 mL bufer fosfat 0,1 M pH 6 dan 1 mL amilum. Aktivitas enzim ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar glukosa.

5. Penentuan kadar protein dengan metode lowry

Sebanyak 9,8 mL larutan Na₂CO₃ ditambah 0,1 mL larutan K-Na tartrat dan 0,1 mL larutan CuSO₄ kemudian dikocok perlahan. Campuran ini kemudian

ditambahkan 0,2 mL larutan ekstrak kasar atau enzim (F1, F2, F3, F4 dan F5) dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Campuran ini ditambahkan 1 mL folin-ciocalteau, kemudian diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan tersebut selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum BSA (726 nm). Dibuat kurva standar BSA dengan berbagai macam konsentrasi menggunakan

an metode Lowry. Kadar protein ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar BSA.

6. Karakterisasi enzim

6.1 Penentua suhu optimum enzim amilase

Larutan substrat amilum 1 mL, ditambah 0,2 mL enzim dan 0,5 mL buffer fosfat 0,1 M pH 6 dan diinkubasi selama 30 menit dengan variasi suhu (27, 32, 37, 42, 47)°C. Tahap selanjutnya ditambahkan larutan TCA 1,5 M sebanyak 0,5 mL. Filtrat ini diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 1 mL larutan DNS kemudian dilakukan pemanasan dalam air mendidih selama 10 menit dan dilakukan pendinginan dalam air dingin, kemudian ditambah dengan akuades hingga volume 10 mL. Campuran ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum (465,5 nm) dengan spektrometer UV-Vis. Larutan kontrol dibuat dari 0,2 mL enzim yang telah dihilangkan aktivitasnya dengan penambahan 0,5 mL TCA 1,5 M) ditambah 0,5 mL bufer fosfat 0,1 M pH 6 dan 1 mL amilum. Aktivitas enzim ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar glukosa.

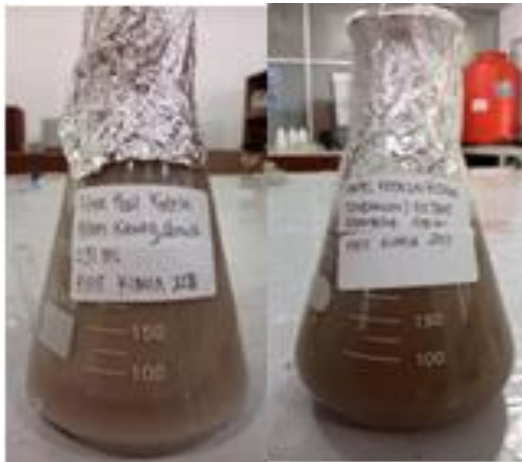
6.2 Penentuan pH optimum enzim amilase

Larutan substrat amilum 1 mL, ditambah 0,2 mL enzim dan 0,5 mL buffer fosfat 0,1 M dengan variasi pH (5,6; 5,8; 6; 6,2; 6,4) dan diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Campuran ini ditambahkan larutan TCA 1,5 M sebanyak 0,5 mL. Filtrat ini diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 1 mL larutan DNS kemudian dilakukan pemanasan dalam air mendidih selama 10 menit dan dilakukan pendinginan dalam air dingin, kemudian ditambah dengan akuades hingga volume 10 mL. Campuran ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum (465,5 nm) dengan spektrometer UV-Vis. Larutan kontrol dibuat dari 0,2 mL enzim yang telah dihilangkan aktivitasnya dengan penambahan 0,5 mL TCA 1,5 M ditambah 0,5 mL bufer fosfat 0,1 M pH 6 dan 1 mL amilum. Aktivitas enzim ditentukan secara regresi linier terhadap kurva glukosa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Dan Purifikasi Amilase dari Kedelai Hitam

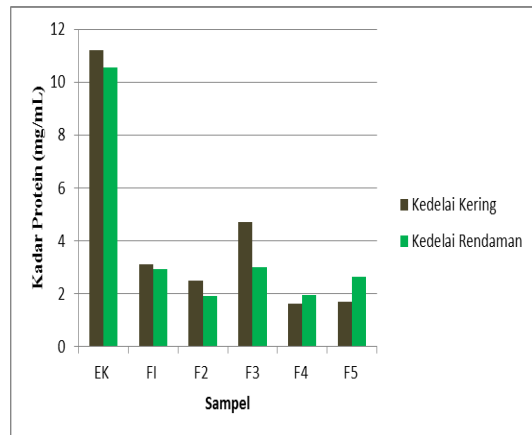
Amilase dari kedelai hitam di isolasi dengan perlakuan yang berbeda, yaitu kedelai hitam kering dan kedelai hitam yang direndam selama 30 menit dalam air hangat. Isolasi amilase dilakukan secara mekanik yaitu dengan mengekstrak kedelai hitam melalui pemecahan jaringan kedelai hitam. Kemudian diperoleh hasil ekstraksi kedelai hitam dalam bentuk larutan berwarna coklat kehitaman yang dapat dilihat pada lampiran Gambar I.



Gambar I. Ekstrak Kasar Kedelai Hitam Bantul

Ekstrak kasar enzim merupakan campuran protein enzim dan protein non enzim yang diperoleh dari proses ekstraksi kedelai hitam. Untuk memperoleh enzim amilase dengan tingkat kemurnian yang tinggi maka perlu dilakukan pemurnian terhadap ekstrak kasar. Pemurnian yang dilakukan adalah dengan pengendapan protein menggunakan garam amonium sulfat, sentrifugasi dan dialisis.

Hasil pemurnian yang diperoleh berupa fraksi endapan protein dengan berbagai tingkat kemurnian. Fraksi yang diperoleh mempunyai volume berbeda, hal ini disebabkan oleh jumlah protein yang diendapkan oleh garam amonium sulfat. Pengendapan dilakukan dengan menambahkan garam amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan berbeda-beda yaitu pada fraksi 1 (0-20%), fraksi 2 (20-40%), fraksi 3 (40-60%), fraksi 4 (60-80%), dan fraksi 5 (80-100%) sehingga diperoleh beberapa fraksi protein. Hal ini dapat dibuktikan dari jumlah kadar protein yang diperoleh dapat dilihat pada lampiran Gambar II.



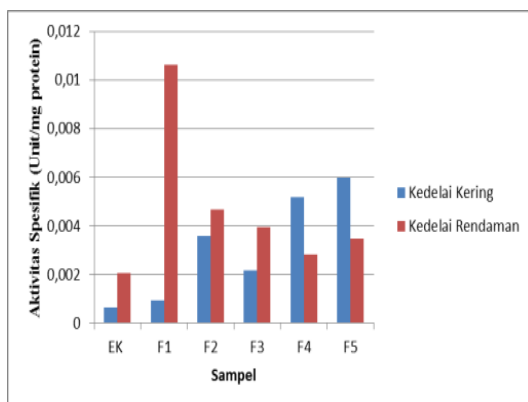
Gambar II. Grafik kadar protein kedelai hitam pada setiap fraksi

Gambar II menunjukkan kadar protein pada setiap fraksi amonium sulfat. Sampel kedelai kering dan sampel kedelai rendaman memiliki kadar protein tertinggi pada fraksi 3, sehingga dapat diketahui apabila komposisi asam-asam amino hidrofobik dan asam-asam amino hidrofilik mayoritas penyusun protein pada kedelai hitam keberadaannya seimbang. Menurut [3], protein yang mengandung asam-asam amino hidrofobik akan mengendap pada konsentrasi garam yang lebih rendah dibandingkan protein yang mengandung asam-asam amino hidrofilik. Hal tersebut dikarenakan pada tingkat kejenuhan garam amonium sulfat 0-20% ion-ion garam amonium sulfat berikatan dengan molekul air, sedangkan protein yang mengandung asam amino hidrofobik paling banyak akan mengendap. Protein dengan asam amino hidrofilik tidak akan mengendap dan berada pada filtrat. Protein yang bersifat lebih hidrofilik akan mengendap jika sudah berada pada tingkat kejenuhan garam tertinggi (80-100%). Semakin banyak molekul air yang berikatan dengan ion-ion garam akan menyebabkan penarikan molekul air yang mengelilingi permukaan protein. Peristiwa ini mengakibatkan protein

saling berinteraksi, teragregasi, dan mengendap [4].

2. Uji Aktivitas Spesifik Amilase

Aktivitas spesifik adalah jumlah unit enzim per miligram protein, dimana satu unit aktivitas amilase adalah banyaknya amilase yang dapat membentuk 1 mg glukosa per menit pada kondisi optimum. Penentuan aktivitas spesifik ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kemurnian amilase pada masing-masing fraksi hasil pemurnian. Pada penentuan unit aktivitas enzim amilase (Unit/mL), glukosa sebagai produk enzimatik bereaksi dengan reagen DNS. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya asam-3-amino-5-dinitrosalisilat menghasilkan warna orange kekuningan yang dapat diukur pada panjang gelombang maksimum 465,5 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Lowry sehingga diperoleh kompleks berwarna biru yang bisa diukur pada panjang gelombang maksimum 726 nm. Aktivitas spesifik enzim amilase dari kedelai hitam dengan perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada lampiran Gambar III.



Gambar III. Grafik aktivitas spesifik amilase dari kedelai hitam Bantul pada berbagai fraksi hasil pemurnian

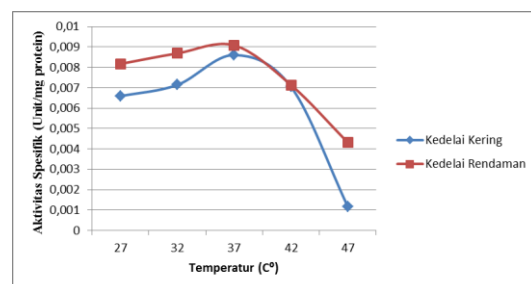
Gambar III menunjukkan bahwa setiap fraksi amilase dari kedelai kering dan kedelai rendaman memiliki aktivitas spesifik yang berbeda. Sampel kedelai kering memiliki nilai aktivitas spesifik tertinggi pada F5, sedangkan sampel kedelai rendaman memiliki nilai aktivitas spesifik tertinggi pada F1. Tingginya nilai aktivitas spesifik menunjukkan pada fraksi tersebut keberadaan amilase paling banyak dibandingkan dengan protein lainnya yang terdapat pada fraksi tersebut.

3. Penentuan Karakter Optimum

Karakterisasi amilase bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum dari enzim tersebut. Fraksi enzim yang dikarakterisasi merupakan fraksi enzim yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi yaitu F5 sampel kedelai kering sedangkan sampel kedelai rendaman pada F1. Karakterisasi enzim dilakukan dengan pengukuran karakter optimum enzim, yaitu suhu dan pH optimum.

3.1 Suhu optimum amilase

Ditinjau dari struktur protein, suhu berpengaruh terhadap kerenggangan dan kerapatan ikatan pada struktur protein enzim. Penentuan suhu optimum dilakukan dengan mereaksikan enzim dengan substrat pada variasi suhu : 27, 32, 37, 42, 47 °C. Hasil penentuan suhu optimum amilase dapat dilihat pada lampiran Gambar IV.



Gambar IV. Grafik hubungan antara suhu dan aktivitas spesifik amilase

Berdasarkan gambar IV dapat diketahui bahwa suhu optimum amilase adalah 37°C yang ditunjukkan dengan aktivitas enzim tertinggi. Suhu 42 – 47°C mengalami penurunan aktivitas yang cukup drastis sehingga dapat disimpulkan bahwa amilase dari kedelai hitam Bantul sangat sensitif terhadap suhu tinggi. Amilase dari sampel kedelai hitam rendaman cenderung lebih termostabil dibandingkan dengan amilase yang diperoleh dari sampel kedelai hitam kering karena amilase pada kedelai rendaman pada suhu 47°C masih memiliki aktivitas, sedangkan amilase dari kedelai kering pada suhu 47°C aktivitasnya mendekati nol. Hal ini didukung dengan fakta bahwa pada sampel kedelai hitam rendaman yang diukur pada F1 dan pada sampel kedelai kering yang diukur pada fraksi 5. Protein yang mengendap pada F1 merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino hidrofobik yang lebih banyak dibandingkan asam-asam amino hidrofiliknya sehingga menyebabkan strukturnya yang lebih padat dan bersifat lebih termostabil dan protein yang mengendap pada F5 merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino hidrofilik yang lebih banyak dibandingkan asam-asam amino hidrofobiknya.

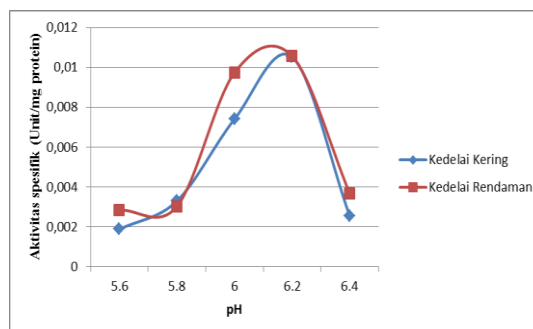
Pada suhu optimum, konformasi struktur protein enzim berada tepat untuk mengikat substrat dalam membentuk produk sehingga menghasilkan aktivitas optimum. Enzim merupakan protein yang tersusun dari ratusan asam-asam amino. Peningkatan temperatur mengakibatkan protein dapat mengalami denaturasi atau perubahan konformasi protein di mana terjadi

pemutusan ikatan-ikatan non kovalen seperti interaksi Van der Waals dan ikatan ionik.

Adanya perubahan suhu juga akan mempengaruhi ikatan hidrogen yang berperan dalam menjaga konformasi molekul enzim. Perubahan konformasi akan mempengaruhi sisi aktif dari enzim, kondisi panas tertentu menyebabkan ikatan hidrogen tersebut akan putus. Putusnya satu ikatan hidrogen akan menyebabkan mudahnya pemutusan ikatan hidrogen selanjutnya dalam rantai polipeptida tersebut, sehingga protein enzim mengalami denaturasi [5]. Penurunan temperatur terjadi pengerutan pada bagian sisi aktif akibat adanya meningkatnya kerapatan ikatan antara asam-asam amino. Dengan demikian perubahan suhu berpengaruh pada ketidaktepatan interaksi antara sisi aktif enzim dengan substrat.

3.2 pH optimum amilase dari kedelai hitam

Struktur protein enzim salah satunya dipengaruhi oleh pH. Penentuan pH optimum ini dilakukan dengan mereaksikan amilase dengan substrat amilum pada kondisi variasi pH : 5,6; 5,8; 6; 6,2 dan 6,4. Hasil penentuan pH optimum amilase dapat dilihat pada lampiran Gambar V.



Gambar V. Grafik hubungan antara pH lingkungan enzim dan aktivitas spesifik amilase

gambar V dapat diketahui bahwa pH optimum amilase dari kedua sampel adalah 6,2. Pada pH tersebut, enzim berada pada konformasi struktur enzim tiga dimensi yang tepat untuk mengikat substrat. Kondisi di luar pH optimum, konformasi enzim mulai berubah menyebabkan posisi substrat berada tidak tepat pada sisi aktif enzim. Hal ini menyebabkan proses katalisis tidak berjalan optimal sehingga aktivitas enzim menurun atau kurang optimal [6]. Sisi aktif enzim dipengaruhi oleh ion H^+ atau ion OH^- dari senyawa asam dan basa. Ion-ion ini yang mempengaruhi rantai samping dari asam amino penyusun enzim. Asam amino tersusun atas gugus amin, rantai samping dan gugus karboksil. Saat pH di bawah kondisi optimum, suasana lingkungan menjadi lebih asam (H^+ meningkat) sehingga gugus $R-NH_2$ pada enzim akan menangkap H^+ membentuk $R-NH_3^+$ menyebabkan terjadinya protonasi.

Selain itu, ion H^+ dari gugus karboksilat ($COOH$) pada sisi aktif enzim akan sulit lepas sehingga reaksi enzimatik berlangsung lambat. Namun pH di atas kondisi optimum, suasana lingkungan akan semakin basa (OH^- semakin meningkat) sehingga ion OH^- akan lebih banyak menarik ion H^+ dari gugus karboksilat ($COOH$) menyebabkan terjadinya deprotonasi (Esteves dkk., 2004). Semakin banyak jumlah ion OH^- akan mengganggu reaksi enzimatik, dimana ion OH^- bersifat nukleofil yang bisa berinteraksi dengan substrat. Hal ini menyebabkan struktur 3 dimensi enzim berubah dan sisi aktifnya ikut berubah, sehingga enzim tidak bisa berikatan dengan substrat. Kondisi optimum OH^- dari lingkungan yang bersifat nukleofil akan menarik H^+ dari gugus karboksilat

($COOH$) pada sisi aktif enzim sehingga struktur 3 dimensi enzim berada pada kondisi yang paling optimum dalam mengikat substrat dan diperoleh aktivitas spesifiknya yang tertinggi.

Sampel kedelai hitam kering dan kedelai hitam rendaman memiliki aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi yang berbeda. Hal ini disebabkan oleh efek perlakuan yang berbeda. Sampel kedelai rendaman diproduksi dengan melalui perendam kedelai hitam selama 30 menit dalam air hangat. Proses perendaman menyebabkan biji kedelai lebih merekah dan lunak dibandingkan dengan kedelai kering sehingga lebih mudah untuk dihancurkan.

Dari hasil pengukuran karakter optimum amilase pada F5 dari sampel kedelai hitam kering dan F1 dari sampel kedelai hitam rendaman dengan perlakuan yang berbeda diperoleh pH optimum 6,2. Aktivitas α -amilase berada pada range pH 5,5-6,4 [7], sehingga diduga amilase yang diperoleh dari kedelai hitam Bantul dengan perlakuan yang berbeda merupakan α -amilase. Berdasarkan literatur [8] pada sel tumbuhan memiliki beberapa tipe α -amilase, yaitu α -amilase tipe 1, tipe 2 dan tipe 3 yang dibedakan berdasarkan struktur dan letaknya. Diduga F5 pada sampel kedelai hitam kering merupakan α -amilase tipe 1 dan/atau 2 sedangkan F1 pada sampel kedelai hitam rendaman merupakan α -amilase tipe 3. Enzim α -amilase tipe 1 dan α -amilase tipe 2 terletak pada apoplas dan kompartemen ekstraseluler serta sitosol dimana kedua organel sel ini lebih bersifat polar karena didalam sitosol dan apoplas serta kompartemen ekstraseluler mengandung air dan berfungsi untuk

mengangkut air dari akar ke xylem sedangkan α -amilase tipe 3 terletak pada plastid yang bersifat lebih non polar. Hal ini didukung dengan fakta bahwa pada sampel kedelai hitam rendaman yang diukur pada F1 dan pada sampel kedelai kering yang diukur pada F5. Protein yang mengendap pada F1 merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino hidrofobik yang lebih banyak dibandingkan asam-asam amino hidrofiliknya sedangkan protein yang mengendap pada F5 merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino hidrofilik yang lebih banyak dibandingkan asam-asam amino hidrofobiknya. Hal ini disebabkan oleh proses perendaman pada sampel rendaman menyebabkan biji lebih merekah dan lunak sehingga diduga plastid juga ikut mengembang. Hal ini menyebabkan α -amilase tipe 3 yang terletak pada plastid keluar dan terendapkan pada F1. Sedangkan pada sampel kedelai kering karena tidak mengalami proses perendaman maka pada saat proses penghancuran α -amilase tipe 3 yang terletak pada plastid diduga tidak keluar secara sempurna dan yang keluar adalah α -amilase tipe 1 yang terletak pada apoplas dan kompartemen ekstraseluler dan/atau tipe 2 yang terletak pada sitosol yang terendapkan pada F5.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Diperoleh amilase sampel kedelai hitam kering dan kedelai hitam rendaman murni parsial dengan tingkat kejenuhan F1(0-20%), F2(20-40%), F3(40-60%), F4(60-80%) dan F5(80-100%).

2. Aktivitas Spesifik amilase pada sampel kedelai hitam kering tertinggi pada F5 (80-100%) dan pada sampel kedelai hitam rendaman tertinggi pada F1 (0-20%).

3. Karakter pH dan suhu amilase dari kedua sampel diperoleh pada pH 6,2 dan suhu 37°C.

4. F5 pada sampel kedelai kering diduga merupakan α -amilase tipe 1 dan/atau 2 sedangkan F1 pada sampel kedelai rendaman diduga merupakan α -amilase tipe 3.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Allah SWT, kedua orangtua, dosen pembimbing, dosen lab. biokimia, dosen jurusan kimia, laboran jurusan kimia, dan teman-teman jurusan kimia UNDIP angkatan 2011 serta untuk semua pihak yang berkontribusi secara langsung maupun tidak langsung pada penelitian ini sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar dan sukses.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Reddy, N.S., Nimmagadda A., and Rao K.R., 2003, *An Overview of Thermicrobial α -Amylase Family*, Africa, 2:645-648.
- [2] Sutiamiharja N., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase kasar Termofilik dari Sumber Air Panas Gurukinayan Karo Sumatera Utara*, USU, Sumatera Utara.
- [3] Chaplin, M.F., Bucke C., 1990, *Enzyme Technology*, 85-86, Cambridge Univ. Pr., New York.
- [4] Scopes, R.K., 1982, *Protein Purification*, Springer Verlag, New York.

- [5] Whitaker, R.J., 1972, *Principle of Enzymology for the Food Science*, Mergel Dekker inc, New York. 561-570.
- [6] Sadikin, M., 2002, *Biokimia Enzim*, Widya Medika, Jakarta.
- [7] Winarno, F.G., 1986, *Enzim Pangan*, PT. Gramedia, Jakarta.
- [8] Stanley, D., Kevin, J.F.F., and Elspeth A.M., 2005, *Plant α -Amylases : Functions and Roles In Carbohydrate Metabolism*, *Biologia*, Bratislava, 16:65-71.

TANYA JAWAB

Penanya : Ismi Simpang Anggia

Pertanyaan:

Apa perbedaan alfa amylase pada kedelai rendaman dan tanpa rendaman? Mengapa berbeda?

Penjawab: Arthary Gupita

Jawaban:

Sampel kedelai kuning terendapkan pada F5 dimana protein pada F5 merupakan protein yang tersusun dari asam-asam hidrolik, sedangkan pada sampel kedelai rendaman terendapkan pada F1, dimana protein yang terendapkan merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino hidrofobik. Didalam literature diketahui bahwa pada tumbuhan diketahui bahwa pada tumbuhan diketahui alfa amylase memiliki tiga tipe yaitu alfa amylase tipe 1 yang terletak pada ekstraseluler kompartement. Kemudian alfa amylase tipe 2 terletak pada sitosol. Kemudian alfa amylase tipe 3 terletak pada plastid.

Sehingga diduga alfa amylase pada sampel kedelai kering merupakan alfa amylase tipe 1 atau 2 sedangkan alfa amylase pada sampel kedelai rendaman merupakan alfa amylase tipe 3. Hal ini sangat berkorelasi dimana alfa amylase tipe 1 dan 2 terletak pada ekstraseluler kompartement dan sitosol dimana pada organel sel tersebut hidrofilik dan pada plastid bersifat hidrofobik. Hal ini diakibatkan karena isolasi amylase dilakukan dengan perlakuan perendaman dan tanpa perendaman dimana saat kedelai hitam di ekstraksi diduga alfa amylase yang terekspos hanya alfa amylase yang terletak pada ekstraseluler kompartement dan sitosol yaitu alfa amylase tipe 1 dan atau 2. Sedangkan pada sampel kedelai perendaman mengakibatkan biji kedelai menjadi lebih merekah dan lunak sehingga diduga alfa amylase tipe 3 yang terletak pada plastid terekspos karena pada saat proses ekstraksi sempurna.