



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

Peningkatan Stabilitas Termal Dan Stabilitas Penggunaan Berulang Enzim Lipase Melalui Imobilisasi Pada Zeolit Alam

Fandhi Adi Wardoyo*, Aprilia Indra Kartika.

Laboratorium Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel

Diterima 12 Februari 2018
Direvisi 28 Maret 2018
Disetujui 29 Maret 2018
Tersedia Online 31 Maret 2018

Abstrak

Thermal stability and lifetime stability for immobilization lipase on zeolit by adsorption technique has been carried out. Immobilization of lipase on zeolit was performed via physical adsorption. This research aimed to determine the effectiveness of pancreatic lipase immobilization in term of thermal and lifetime stability of the hydrolysis activity. The result of this research proved that pancreatic lipase was able to immobilized to zeolit by using the physical adsorption. Immobilized lipase shows better lifetime stability than the free lipase. Immobilized enzyme catalyzed reaction has a lower decreases free fatty acid than that of the free enzyme. Lower decline of value suggests the enzyme is more stable for repeated use. The immobilized lipase was able to maintain its activity after multiple-uses up to four reaction cycles. Similar trend was also observed for thermal stability study. Immobilized lipase shows a higher thermal stability that that shown by free lipase. Immobilized lipase on zeolit was also able to maintain its activity at 40°C.

Keywords:

Lipase, imobilisasi, zeolit, stabilitas termal, stabilitas penggunaan berulang.

PENDAHULUAN

Sebagian besar reaksi biokimia di dalam tubuh dikatalisis oleh suatu protein yang disebut dengan enzim. Jenis protein ini biasanya terdapat di dalam sel, dengan kadar yang rendah, dan bekerja dengan cara meningkatkan laju reaksi tetapi tidak mengubah kesetimbangan reaksi (Ngili, 2009). Berdasarkan kemampuannya dalam mengkatalisis suatu reaksi, enzim dapat dibedakan menjadi beberapa golongan. Salah satu golongan enzim mempunyai kemampuan untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis, sehingga sering juga disebut enzim hidrolase. Lipase merupakan salah satu jenis enzim golongan hidrolase yang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis trigliserida (lemak/minyak)

menjadi senyawa penyusunnya yaitu asam lemak dan gliserol.

Enzim lipase biasa digunakan di dalam laboratorium dengan cara *bath*, yaitu melarutkan enzim lipase ke dalam air, kemudian direaksikan dengan substrat, sehingga antara substrat dan enzim menjadi bercampur (Godfrey 1986; Agustini, 2001). Penggunaan cara *bath* ini cenderung hanya bisa digunakan untuk satu kali siklus reaksi, dikarenakan sulitnya untuk memisahkan enzim yang telah bercampur dengan substrat di akhir reaksi (Cahyaningrum, 2009). Oleh sebab itu, perlu dilakukan inaktivasi enzim untuk memisahkan enzim dari substrat, baik dengan memanaskan enzim, maupun mengubah pH yang akan mendenaturasi enzim (Chibata, 1978).

*Corresponding Author:

Fandhi Adi Wardoyo

Laboratorium Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: fandhiadi@unimus.ac.id

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan suatu modifikasi enzim dengan cara mengikat maupun memerangkap enzim dalam suatu padatan, tanpa menghilangkan aktivitas katalitiknya (Gemeiner, 1992). Modifikasi ini biasa disebut dengan imobilisasi enzim. Dalam imobilisasi enzim, kestabilan enzim baik kestabilan termal maupun penggunaan berulangannya sangat bergantung kepada cara imobilisasi dan juga padatan pendukung yang digunakan. Imobilisasi enzim yang dilakukan haruslah kuat, agar enzim tidak terdesorpsi dari permukaan padatan pendukung (Akoh, 2002).

Agar didapatkan imobilisasi enzim yang kuat dengan aktivitas katalitik yang baik, metode imobilisasi dan padatan pendukung yang dipilih harus tepat, karena kedua hal ini sangat mempengaruhi aktivitas enzim imobil (Primadevi, 2013).

Zeolit alam merupakan material yang cukup melimpah di Indonesia. Zeolit alam tersusun dari kristal aluminosilika dengan kandungan kation alkali maupun alkali tanah yang dapat digantikan oleh molekul lain tanpa merusak struktur yang dimiliki oleh zeolit (Amalia, 2002). Zeolit alam juga mempunyai sifat hidrofili, harganya relatif murah, tahan terhadap mikrobia, tidak mudah rusak oleh pengaruh suhu dan pH, memiliki afinitas terhadap enzim, dan dapat mengikat enzim sehingga cocok digunakan sebagai padatan pendukung untuk imobilisasi enzim lipase.

Metode imobilisasi enzim yang cukup sederhana salah satunya adalah dengan cara adsorpsi secara fisik. Metode ini didasarkan kepada kemampuan zeolit yang dapat mengadsorpsi enzim lipase, sehingga akan terjadi interaksi fisik non spesifik antara enzim lipase dengan zeolit. Keunggulan dari metode adsorpsi untuk imobilisasi enzim adalah metodenya cukup sederhana, dan tidak mengubah konformasi dari sisi aktif enzim (Sassolas *et al*, 2009).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji efektifitas zeolit alam sebagai padatan pendukung dalam imobilisasi enzim lipase melalui metode adsorpsi fisik. Efektifitas katalitik enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam akan dilihat dari kestabilan termal dan kestabilan penggunaan berulang melalui reaksi hidrolisis pada minyak kelapa sawit, yang akan dibandingkan dengan enzim lipase bebas sebagai kontrol.

BAHAN DAN METODE

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (Pyrex), shaker, elisa reader, botol Falcon 50 mL, pH meter, pengaduk magnet, corong gelas, buret, mikropipet, neraca analitis, oven, almari es.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak kelapa sawit, zeolit alam, enzim lipase pankreas, kertas saring *Whatman* 41, kertas indikator pH, akuades, n-heksana, etanol. Asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), natrium monohidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), reagen biuret, indikator phenolphthalein, bovin serum albumin (BSA).

Aktivasi Zeolit Alam

Zeolit alam sebanyak 30 g diaktivasi dengan menggunakan 100 mL HCl 3N, pada suhu 90°C selama 2 jam. Hasil aktivasi selanjutnya dibilas dengan aquadest hingga air pencucian tidak berwarna kuning. Zeolit kemudian dikeringkan di oven selama 5 jam dengan suhu 105°C (Septiani dan Lisma, 2011).

Pengukuran Konsentrasi Protein

Pengukuran konsentrasi protein dilakukan menggunakan larutan standar Bovin Serum Albumin (BSA) dengan reagen biuret yang dibaca absorbansinya dengan elisa reader pada λ 550 nm. Hasil absorbansi tersebut digunakan untuk membuat kurva kalibrasi BSA (absorbansi vs konsentrasi).

Imobilisasi Enzim Lipase pada Zeolit Alam

Imobilisasi enzim dilakukan dengan cara membuat larutan enzim lipase 1% dalam buffer fosfat yang ditambah dengan satu gram zeolit alam teraktivasi, dan diaduk selama satu jam. Setelah satu jam, campuran disaring, sehingga didapatkan sisa larutan enzim dan enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam. Filtrat sisa larutan enzim diukur kadar proteinnya. Jumlah enzim lipase terimobilisasi merupakan selisih antara jumlah enzim awal dengan jumlah sisa enzim.

Uji Aktivitas Enzim Lipase

Minyak kelapa sawit sebanyak satu gram ditambah dengan 10 μL dan dilarutkan dengan n-heksan hingga volume 10 mL. Larutan ini selanjutnya dimasukkan dalam botol falcon dan ditambah dengan enzim lipase terimobilisasi, maupun enzim lipase bebas

(sebagai kontrol). Larutan kemudian diaduk dengan shaker pada suhu 37°C selama. Sebagai pembanding dilakukan pula uji aktivitas hidrolisis tanpa menggunakan enzim lipase.

Hasil reaksi hidrolisis disaring, filtrat ditambah dengan etanol sebanyak 10 mL dan indikator pp untuk selanjutnya dititrasi menggunakan NaOH 0,05 N. Unit aktivitas dan aktivitas spesifik dihitung dengan rumus berikut:

$$\%FFA = \frac{BM \text{ minyak} \times (V.N)NaOH}{\text{berat minyak}} \times 100\%$$

$$\text{Unit Aktivitas (U)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH}}{\text{waktu reaksi}}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik (U/mg)} = \frac{\text{unit aktivitas}}{\text{berat enzim}}$$

Uji Stabilitas Enzim Lipase

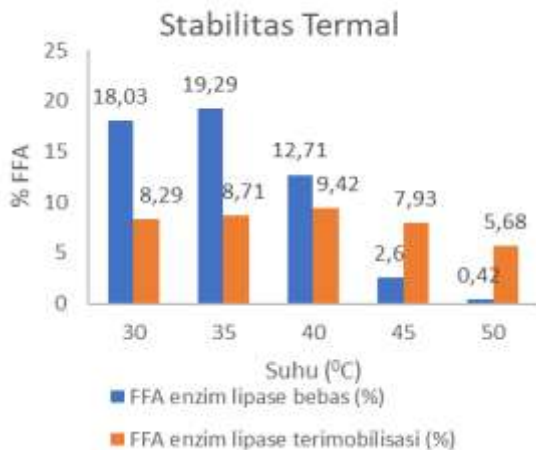
Uji stabilitas termal dilakukan dengan cara memanaskan enzim lipase bebas dan enzim lipase terimobilisasi pada suhu 35, 40, 45, dan 50°C selama 20 menit. Setelah enzim dipanaskan selanjutnya digunakan dalam reaksi hidrolisis minyak.

Pada uji stabilitas penggunaan berulang, enzim lipase dan enzim lipase bebas yang telah digunakan dalam reaksi hidrolisis dipisahkan dari substrat, kemudian digunakan kembali untuk reaksi hidrolisis selanjutnya.

HASIL

Stabilitas Termal Enzim Lipase Terimobilisasi pada Zeolit Alam

Semakin tinggi suhu, maka laju reaksi juga akan semakin meningkat. Namun semakin tinggi suhu juga akan menyebabkan enzim menjadi terdenaturasi (Nelson, 2004). Dari uji stabilitas termal didapatkan hasil seperti terlihat dalam Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Pengaruh temperatur terhadap jumlah asam lemak bebas

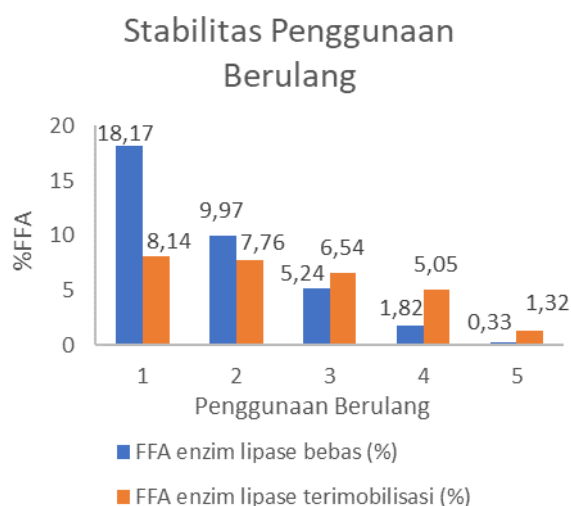
Dari Gambar 1 dapat terlihat bahwa enzim lipase bebas pada suhu 30°C menghasilkan FFA sebanyak 18,03% dan meningkat menjadi 19,29% pada suhu 35°C. Enzim lipase terimobilisasi dapat menghasilkan FFA sebanyak 8,29% pada suhu 30°C dan terus meningkat menjadi 9,42% pada suhu 40°C. Secara umum enzim mempunyai suhu optimum sekitar 37°C. Pada suhu dibawah suhu optimum, konformasi yang dimiliki enzim masih belum dapat mengkatalisis reaksi, yang menyebabkan jumlah FFA yang dihasilkan menjadi lebih sedikit.

Enzim terimobilisasi pada zeolit alam mempunyai aktivitas katalitik yang lebih baik pada suhu diatas 35°C bila dibandingkan dengan enzim lipase bebas. Hal ini dapat terlihat, pada suhu 50°C, enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam masih dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya dengan baik, sedangkan enzim lipase bebas pada suhu 40 hingga 50°C, FFA yang dihasilkan menurun dengan drastis. Pada suhu diatas suhu optimum enzim, enzim akan mengalami denaturasi, karena konformasinya menjadi rusak pada suhu tinggi. Dengan rusaknya konformasi enzim, maka aktivitas katalitik enzim akan menurun, sehingga FFA yang dihasilkan juga menjadi lebih sedikit.

Enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam mempunyai aktivitas katalitik pada suhu tinggi yang lebih baik jika dibandingkan dengan enzim lipase bebas. Hal ini sesuai dengan penelitian Febrina pada tahun 2012 yang menyatakan bahwa enzim lipase terimobilisasi cenderung lebih stabil terhadap kenaikan suhu. Adanya zeolit alam sebagai padatan pendukung menyebabkan enzim menjadi terlindung dari panas dan tidak mudah terdenaturasi, sehingga kestabilan termalnya menjadi meningkat (Chiou, 2003).

Stabilitas Penggunaan Berulang Enzim Lipase Terimobilisasi pada Zeolit Alam

Enzim lipase cenderung sulit untuk dipisahkan dengan substrat di akhir reaksi, sehingga menyebabkan enzim sulit digunakan untuk reaksi berulang. Dengan adanya imobilisasi enzim, diharapkan enzim menjadi mudah dipisahkan dari substrat sehingga dapat digunakan kembali untuk reaksi selanjutnya. Hasil dari uji stabilitas penggunaan berulang dapat terlihat pada Gambar 2 berikut:



Gambar 2. Hubungan pemakaian berulang terhadap jumlah asam lemak bebas

Dari Gambar 2, aktivitas katalitik enzim lipase bebas mengalami penurunan yang drastis dari pemakaian kedua hingga kelima. Hal ini disebabkan karena substrat mengkontaminasi enzim, sehingga enzim lipase menjadi rusak. Sulitnya memisahkan enzim di akhir reaksi juga menyebabkan jumlah enzim yang digunakan pada reaksi selanjutnya menjadi lebih sedikit.

Hal berbeda ditunjukkan oleh enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam yang masih dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya dengan baik hingga lima kali siklus reaksi, meski jumlah FFA yang dihasilkan cenderung menurun. Ikatan enzim lipase dengan substrat melalui metode adsorpsi masih kurang kuat, sehingga enzim kemungkinan masih dapat lepas ke dalam substrat, sehingga aktivitas katalitiknya menjadi menurun. Penelitian Wardoyo pada tahun 2015 juga menunjukkan hasil yang sama, meskipun aktivitas katalitiknya mengalami penurunan, namun kestabilan penggunaan berulang enzim lipase terimobilisasi masih lebih baik jika dibandingkan dengan enzim lipase bebas.

KESIMPULAN

Kestabilan termal dan kestabilan penggunaan berulang enzim lipase terimobilisasi pada zeolit alam masih lebih baik jika dibandingkan dengan enzim lipase bebas. Pada suhu 40°C enzim lipase terimobilisasi masih dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya, dan juga dapat digunakan hingga empat kali siklus reaksi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kementrian Riset dan Pendidikan Tinggi melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula tahun 2017 yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, Rudiana, 2001, Karakterisasi dan Amobilisasi Protease dari Mikroorganisme Termofilik Isolat CG-10 yang Hidup di Sumber Air Panas Cangur Jawa Timur dengan Matriks Pendukung Bentonit. Disertasi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Akoh, C. C., and Min, D. B., 2002, Food Lipid, Marcel Dekker; Ink
- Amalia, 2002, Amobilisasi Enzim Papain dari Getah Pepaya pada Zeolit Alam yang Telah Diaktifasi, Universitas Andalas, Padang.
- Cahyaningrum Sari Edi, 2009, Peranan Jembatan Kation Logam Dalam Imobilisasi Papain Pada Kitosan, Disertasi, Jurusan Kimia FMIPA UGM, Yogyakarta
- Chibata, I., 1978, Immobilized Enzymes, 1th Edition, Research and Development, Kodansha LTD., Tokyo.
- Chiou S.H., dan Wu W.T., 2004, Immobilization of *Candida rugosa* Lipase on Chitosan with Activation of the Hydroxyl Groups, *J. Biomat*, 25, 197-204.
- Febriana Lizma, 2012, Pengaruh Derajat Deasetilasi Terhadap Efektivitas Chitosan Bead Sebagai Padatan Pendukung Imobilisasi Lipase Dengan Teknik Pengaitan Silang, Tesis, Jurusan Kimia FMIPA UGM, Yogyakarta.
- Gemeiner, P., 1992, Enzyme Engineering: Immobilized Modified Lipase: Aqueous Preparation and Reaction Studies in n-Hexane, *J. AM. OIL CHEM. SOC.*, 75, 1519-1526
- Godfrey, T. and Reichet, J, 1986, Industrial Enzymology, The Application of Enzyme in Industry. Great Britain, Stockton Press.
- Nelson, D.L., 2004, Lehninger Principles of Biochemistry, 4th Edition, W. H. publisher, New York.
- Ngili, Y., 2009, Biokimia: Struktur dan Fungsi Biomolekul, edisi I, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Primadevi, Susan, 2013, Imobilisasi Lipase Pada Chitosan Bead dengan Teknik Pengikatan Silang: Pengaruh pH dan Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Transesterase, Tesis, Jurusan Kimia FMIPA UGM, Yogyakarta

Sassolas A., Blum L. J., Bouvier B. D. L., 2009, Biosensors Combining Polyluminol and an Enzymatic Matrix, *Bioanal Chem.*, 399, 971-980

Septiani, Upita dan Lisma, Agrina. 2011. Pemanfaatan Zeolit Alam Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim α -Amilase. *J. Ris. Kim.* 5. 1978-628X.

Wardoyo, Fandhi Adi. 2015. Uji Stabilitas Enzim Lipase Terimobilisasi Kitosan Serbuk melalui Teknik Taut Silang. *The 2nd University Research Colloquium*. ISSN: 2407-9189