

FRAKSINASI ENZIM LIPASE DARI ENDOSPERM KELAPA DENGAN METODE SALTING OUT

Lipase Fractionation of Coconut Endosperm by Salting Out Method

Moh. Su'i, Suprihana

Fakultas Pertanian, Universitas Widyagama Malang, Jl. Borobudur No. 25, Malang 65128

Email: sui_uwg@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini mempelajari fraksinasi enzim lipase dari endosperm kelapa menggunakan ammonium sulfat. Fraksinasi dilakukan dengan variasi konsentrasi ammonium sulfat 0–15% ; 15–30%; 30–45 %, 45–60 %, 60–75 % dan 75–90 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim lipase terdapat pada fraksi 0–15% ; 30–45 %, 45–60 % dan fraksi 60–75 % dengan aktivitas enzim tertinggi pada fraksi 60–75%. Sedangkan fraksi 15–30% dan 75–90% tidak ada enzim lipase. Berat molekul enzim lipase pada semua fraksi 72 kDa.

Kata kunci: Lipase, endosperm, fraksinasi, ammonium sulfat

ABSTRACT

This research learns about fractionation of lipases activity from coconut endosperm by using ammonium sulphate of 0–15%; 15–30 %, 30–45 %, 45–60 %, 60–75 % and 75–90 %. The results showed that the fractions of 0–15% ; 30–45 %, 45–60 % and 60–75 % have lipase activity. Meanwhile, the highest activity was fractions of 60–75%. Fractions of 15–30% and 75–90% have no lipase enzym activity. Molecule weigh of lipase enzyme was 72 kDa.

Keywords: Lipases, endosperm, coconut, fractionation, ammonium sulphate

PENDAHULUAN

Buah kelapa mempunyai aktivitas enzim lipase pada semua bagian. Aktivitas enzim lipase akan meningkat dengan cepat setelah perkecambahan (germinasi). Hasil penelitian Su'i dan Chandra (2007) menunjukkan bahwa, buah kelapa yang telah ditunaskan selama 30 hari mengandung enzim lipase pada daging buah, kentos (embrio), tunas maupun akarnya dengan aktivitas yang bervariasi. Aktivitas enzim lipase dalam endosperm buah kelapa juga relatif tinggi meskipun tidak ditunaskan. Jika tidak ditunaskan, aktivitas enzim lipase dalam endosperm kelapa sebesar 0,24 unit/mg protein dan menjadi 0,26 unit/mg protein setelah ditunaskan selama 30 hari.

Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit enzim. Satu unit aktivitas lipase didefinisikan sebagai 1 μ mol asam lemak bebas (produk) yang dihasilkan tiap menit pada kondisi reaksi enzim yang optimum (Pahoja dkk., 2001). Sedangkan aktivitas spesifik adalah jumlah unit enzim per mg protein (Sana dkk., 2004). Aktivitas spesifik enzim lipase dalam endosperm

kelapa lebih rendah (0,26 unit/mg protein) dibandingkan dalam kentos (0,95 unit/mg protein) dan tunas (1,68 unit/mg protein). Hal ini menunjukkan tingkat kemurnian enzim lipase dalam endosperm buah kelapa relatif lebih rendah. Tetapi, total enzim keseluruhan dalam endosperm kelapa lebih tinggi (258,99 unit/butir kelapa) dari pada kentos (8,98 unit/butir) dan tunas (4,94 unit/butir).

Pemurnian protein (enzim) dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain: kelarutan relatif protein karena pengaruh pH (pengendapan isoelektrik), polaritas (pengendapan dengan etanol atau aseton), atau fraksinasi dengan mengatur konsentrasi garam ammonium sulfat (Granner dkk., 2003). Pemisahan protein (enzim) dengan cara pengendapan fraksional menggunakan ammonium sulfat bertujuan meningkatkan kadar protein (kemurnian) dalam fraksi dari campuran kompleks (Davidson dan Sittman, 1999). Kemurnian enzim yang tinggi ditunjukkan oleh aktivitas spesifik yang tinggi. Ammonium sulfat sering digunakan dalam pengendapan protein untuk proses pemurnian melalui *salting-out* karena memiliki kekuatan ionik yang cukup

tinggi, tidak menimbulkan kerusakan pada protein (Matthews dkk., 2000), memiliki kelarutan tinggi dalam air, relatif murah (Wang, 2004), tidak berbahaya, dan memiliki efek penstabilan pada beberapa enzim (Chaplin, 2004). Menurut Sana dkk. (2004), pemurnian enzim dapat meningkatkan aktivitas spesifik lipase *Brassica napus* L. Aktivitas spesifik lipase kasar sebesar 9,98 unit/mg meningkat menjadi 27,80 unit/mg setelah pemurnian dengan amonim sulfat. Meskipun demikian, pemurnian akan menurunkan total unit enzim yang diperoleh.

Penelitian ini dilakukan untuk melakukan fraksinasi enzim lipase dari endosperm buah kelapa dengan menggunakan garam ammonium sulfat. Enzim lipase kasar diendapkan dengan mengatur konsentrasi ammonium sulfat yang berbeda yaitu konsentrasi 0-15%; 15-30%; 30-45%; 45-60%; 60-75 dan 75-90%. Enzim yang diperoleh dari setiap fraksi diuji kadar protein, aktivitasnya, aktivitas spesifik, sehingga diketahui profil enzim lipase yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret–Agustus 2011 di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Widya Gama Malang dan Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, pipet mikro, penyaring plastik, pisau stainless steel, alat parut stainless steel (Brilliant), mortar, lemari pendingin, *freezer*, sentrifus dingin (Juan MR 1889), neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), pengaduk magnet (*stirer*), pemanas (Janke-Kunkel), oven, kantong selofan 10 x 2 cm, pH-meter (Orion 201), *higrometer* dan termometer ruang, *spektrofotometer UV-Vis* (Genesys 10 UV series), peralatan elektroforesis gel (BIO-RAD).

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa dalam jenis lokal yang diperoleh dari Donomulyo Kabupaten Malang, aquades, VCO, gum arab, alkohol, buffer fosfat. Bahan kimia yang digunakan antara lain $\text{Ca}(\text{OH})_2$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , CuSO_4 , KNa-tartrat, dan bovin serum albumin (BSA) yang diperoleh dari Merck.

Isolasi Enzim Lipase Kasar

Enzim lipase diisolasi dari endosperm buah kelapa. Isolasi lipase menggunakan metode Sana dkk. (2004) yang dimodifikasi. Kelapa dibuang sabut dan tempurungnya dengan hati-hati dan kentos dipisahkan kemudian disimpan pada suhu 4°C. Sampel sebanyak 5 gram diparut menggunakan pamarut *stainless steel* kemudian ditambahkan larutan buffer fosfat 5 mM 5 ml yang sudah didinginkan. Suspensi dipress (diperas) sehingga diperoleh supernatan. Supernatan diambil

dan dimasukkan dalam beker glass. Ampas ditambah lagi buffer fosfat yang sama 5 ml kemudian dipress lagi seperti di atas. Kemudian ampas ditambah lagi buffer fosfat yang sama 5 ml kemudian dipress lagi. Supernatan digabung dengan sebelumnya. Supernatan yang diperoleh merupakan enzim lipase kasar yang siap diuji aktivitas enzim lipase.

Sebelum dilakukan fraksinasi menggunakan ammonium sulfat, enzim kasar yang diperoleh dari endosperm dilakukan pemisahan fraksi krim dan skimnya. Fraksi krim yang ada di bagian atas merupakan fraksi minyak yang kemudian dipisahkan dan tidak digunakan dalam penelitian ini. Sedangkan fraksi skim yang ada pada bagian bawah digunakan dalam penelitian ini.

Fraksinasi Enzim Lipase

Fraksinasi enzim lipase dilakukan dengan metode Sana dkk. (2004). Enzim lipase kasar diendapkan menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan yang berbeda yaitu 0-15%; 15-30 %, 30-45 %, 45-60 %, 60-75 % dan 75-90 %. Setelah diperoleh endapan, dilanjutkan dengan dialisis.

Fraksi pertama adalah enzim lipase yang diendapkan pada tingkat kejenuhan ammonium sulfat 0-15% dengan cara menambahkan 9,40 g ammonium sulfat kedalam 100 ml ekstrak enzim kasar. Kemudian disentrifus dingin pada suhu 4°C, kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dari supernatannya. Endapan dilarutkan dengan 3,0 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7 dalam tabung reaksi (fraksi 1). Supernatan digunakan untuk pengendapan berikutnya.

Fraksi kedua diperoleh dari kejenuhan 0-30 %. Tingkat kejenuhan ini diperoleh dengan menambahkan 8,20 g padatan ammonium sulfat ke dalam supernatan dari fraksi pertama. Kemudian disentrifus dingin pada suhu 4 °C, kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari endapannya. Endapan dilarutkan dengan 3,0 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7 dalam tabung reaksi.

Supernatan dari pengendapan kedua ditambah dengan 9,400 g ammonium sulfat untuk mencapai tingkat kejenuhan ammonium sulfat 30-45 %. Kemudian disentrifus seperti sebelumnya untuk memisahkan endapan dari supernatannya. Endapan ini merupakan **fraksi ketiga**. Supernatan ditambah lagi dengan 9,900 g ammonium sulfat untuk mencapai kejenuhan 45-60 % ammonium sulfat kemudian disentrifuse sehingga diperoleh endapan (**fraksi keempat**) dan seterusnya.

Setelah diperoleh endapan (fraksi) dari masing-masing tingkat kejenuhan ammonium sulfat kemudian dilanjutkan dengan dialisis. Endapan dimasukkan dalam kantong selofan kemudian direndam dalam gelas beaker berisi 250 ml buffer fosfat 0,05 M pH 7 dan diaduk perlahan dengan pengaduk magnet. Dialisis dilakukan sampai semua ammonium sulfat

terpisah dari endapan protein, dengan penggantian buffer fosfat setiap 6 jam. Setelah melalui proses dialisis, enzim lipase hasil pengendapan diencerkan dengan buffer fosfat 0,05 M pH 7 sampai volumenya tepat 10 ml.

Enzim hasil fraksinasi diuji kadar protein, aktivitas enzimnya, aktivitas spesifik, total unit enzim dan berat molekulnya (metode elektroforesis). Aktivitas enzim lipase diukur dengan menggunakan metode Rashid (2001). Aktivitas enzim lipase ditentukan berdasarkan jumlah asam lemak bebas yang paling banyak dihasilkan selama inkubasi. Jumlah asam lemak bebas atau *free fatty acid* (FFA) ditentukan dengan cara titrasi dengan larutan NaOH 0,005 N.

HASIL DAN PEMBAHASAN

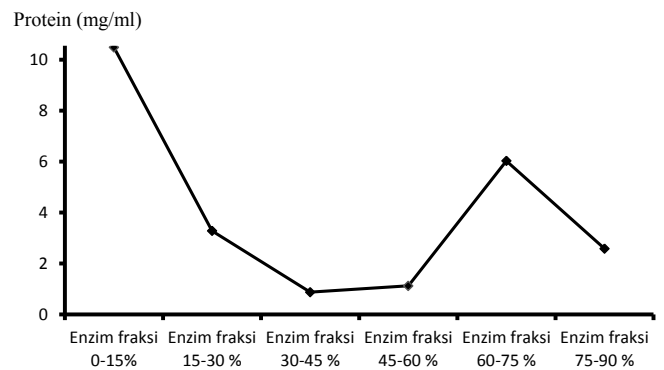
Kadar Protein

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua fraksi enzim lipase dari endosperm kelapa mengandung protein dengan jumlah yang berbeda. Kadar protein tertinggi terdapat pada fraksi 0-15 %, kemudian pada fraksi 60-75 %. Sedangkan kadar protein terendah terdapat pada fraksi 30-45% dan diikuti 45-60%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ammonium sulfat hingga tingkat kejenuhan 60%, makin tinggi tingkat kejenuhan ammonium sulfat, total protein makin rendah. Selanjutnya, kadar protein meningkat lagi setelah 60%. Kadar protein enzim lipase hasil fraksinasi seperti pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Kadar protein enzim lipase hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat tingkat kejenuhan berbeda

Fraksi enzim	Kadar protein (mg/ml)
Enzim fraksi 0-15%	10,49
Enzim fraksi 15-30 %	3,28
Enzim fraksi 30-45 %	0,87
Enzim fraksi 45-60 %	1,12
Enzim fraksi 60-75 %	6,03
Enzim fraksi 75-90 %	2,58

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sui dkk. (2008) yang menyatakan bahwa enzim lipase dari kentos kelapa yang difraksinasi menggunakan ammonium sulfat mengandung protein pada semua fraksi dengan jumlah yang berbeda. Jumlah protein tertinggi terdapat pada fraksi 0-30% yaitu sebesar 4,66 mg/ml dan terendah pada fraksi 45-60% yaitu 4,35 mg/ml. Bhardwaj (2001) menambahkan bahwa semua fraksi dari enzim lipase *rise brand* mengandung protein dengan jumlah yang berbeda.



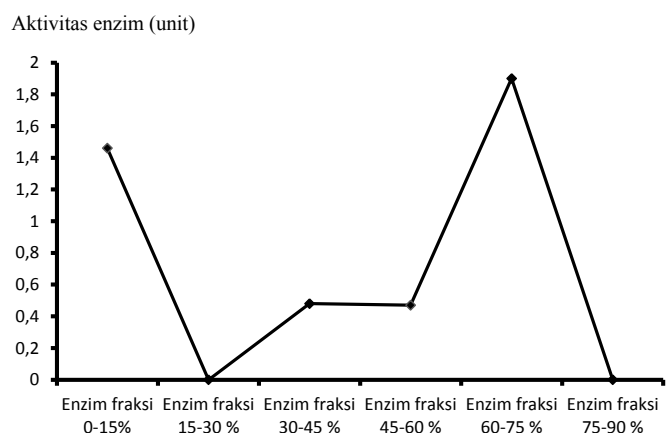
Gambar 1. Kadar protein enzim lipase dari endosperm kelapa hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat

Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim lipase dalam penelitian ini dihitung dalam unit enzim. Satu unit enzim didefinisikan 1 u mol asam lemak bebas yang dihasilkan oleh enzim tiap jam pada kondisi optimum. pada masing-masing fraksi enzim terlihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Aktivitas enzim lipase hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat kejenuhan berbeda

Fraksi enzim	Aktivitas(unit/ml)
Enzim fraksi 0-15%	1,46
Enzim fraksi 15-30 %	0,00
Enzim fraksi 30-45 %	0,48
Enzim fraksi 45-60 %	0,47
Enzim fraksi 60-75 %	1,90
Enzim fraksi 75-90 %	0,00



Gambar 2. Aktivitas enzim lipase fraksinasi menggunakan ammonium sulfat jenuh

Aktivitas enzim lipase paling tinggi pada fraksi 60-75% yaitu sebesar 1,896 unit/ml, kemudian fraksi 0-15% dengan

aktivitas 1,458 unit/ml. Sedangkan pada fraksi 15-30% dan fraksi 75-90%, tidak terdapat aktivitas enzim lipase.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Dali dkk. (2011) yang mengisolasi enzim lipase dari jamur *Aspergillus* yang terdapat dalam kopra. Enzim lipase difraksinasi dengan garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0-100%. Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada fraksi 60-80% dengan aktivitas sebesar 7,87 unit/mg protein.

Fraksi 15-30% tidak mengandung enzim karena enzim lipase yang bersifat hidrofobik sudah mengendap pada fraksi 0-15%. Enzim lipase yang agak hidrofilik mulai mengendap lagi pada fraksi 30-45% dan 45-60%. Sedangkan enzim yang hidrofilik mengendap seluruhnya pada fraksi 60-75% sehingga pada fraksi 75-90% tidak ada lagi enzim lipase.

Menurut Porto (1996), setiap protein akan mengendap pada konsentrasi garam yang berbeda. Ditambahkan oleh Scopes (1982), protein yang bersifat hidrofobik akan mengendap pada konsentrasi garam yang rendah. Sedangkan protein yang bersifat hidrofilik memerlukan konsentrasi garam yang tinggi untuk mengendapkannya. Hal ini juga terjadi pada enzim karena enzim tersusun atas protein.

Hasil penelitian Megasari (2009) menyatakan bahwa enzim lipase dari bakteri termofilik isolat lokal yang difraksinasi menggunakan ammonium sulfat 0-30%, 30-80%, 80-100% dan 100% memiliki aktivitas enzim tertinggi pada fraksi 0-30%. Hal ini berarti, enzim lipase tersebut cenderung bersifat hidrofobik sehingga mengendap pada konsentrasi garam yang rendah.

Sedangkan enzim lipase *Aspergillus oryzae* dari kopra yang di fraksinasi dengan ammonium sulfat 0-100% menunjukkan aktivitas enzim paling tinggi pada fraksi 60-80%. Hal ini berarti, enzim lipase tersebut bersifat hidrofilik sehingga memerlukan konsentrasi ammonium sulfat yang tinggi untuk mengendapkannya (Dali dkk., 2011).

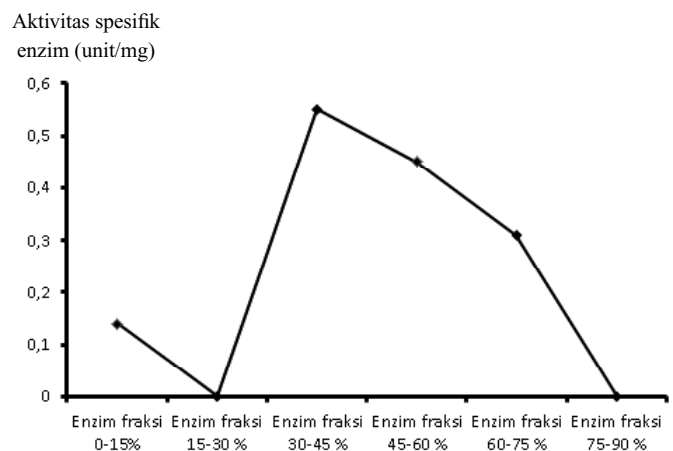
Sui dkk. (2008) melakukan penelitian fraksinasi enzim lipase dari kentos kelapa dengan ammonium sulfat konsentrasi 0-90%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, fraksi 0-30%, 30-45%, 45-60% dan 60-75% mengandung enzim lipase. Tetapi aktivitas tertinggi pada fraksi 0-30% yaitu sebesar 0,49 unit. Sedangkan fraksi 75-90% tidak mengandung enzim lipase. Dalam penelitian tersebut, fraksi 0-15% dan fraksi 15-30% digabung menjadi satu yaitu fraksi 0-30%.

Aktivitas Spesifik Enzim

Aktivitas spesifik enzim lipase dalam penelitian ini didefinisikan sebagai jumlah enzim (unit) enzim lipase tiap mg protein. Aktivitas spesifik dapat menggambarkan kemurnian suatu enzim. Makin tinggi aktivitas spesifik, maka enzim tersebut makin murni. Aktivitas spesifik enzim lipase dari endosperm buah kelapa hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim lipase hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat kejenuhan berbeda

Fraksi enzim	Aktivitas spesifik (unit/mg protein)
Enzim fraksi 0-15%	0.14
Enzim fraksi 15-30%	0,00
Enzim fraksi 30-45%	0.55
Enzim fraksi 45-60%	0.42
Enzim fraksi 60-75%	0.31
Enzim fraksi 75-90%	0,00



Gambar 3. Aktivitas spesifik enzim lipase hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat

Aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada fraksi enzim 30-45%, kemudian 45-60%, 60-75% dan paling rendah 0-15%. Makin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim menunjukkan kemurnian yang lebih tinggi. Menurut Sana dkk. (2004), aktivitas spesifik enzim merupakan jumlah unit enzim dalam setiap mg protein dalam enzim tersebut. Suatu enzim dengan aktivitas (unit) yang sama, makin rendah kadar proteinnya maka aktivitas spesifiknya makin tinggi atau enzim semakin murni.

Fraksi 30-45% memiliki aktivitas spesifik paling tinggi dari pada fraksi lainnya. Hal ini karena pada fraksi tersebut, pemberian ammonium sulfat banyak mengendapkan protein yang berupa enzim lipase. Sedangkan protein yang bukan enzim sudah mengendap pada fraksi sebelumnya yaitu fraksi 0-15% dan fraksi 15-30% (Tabel 1). Dengan demikian, enzim yang diperoleh pada fraksi 30-45% sebagian besar merupakan enzim lipase sehingga aktivitas spesifiknya tinggi.

Total Aktivitas Enzim Tiap Butir Kelapa

Satu butir kelapa rata-rata memiliki berat 500 gram. Ketika dilakukan isolasi enzim lipase diperoleh ekstrak enzim sebanyak 1500 ml. Setelah dilakukan fraksinasi, diperoleh

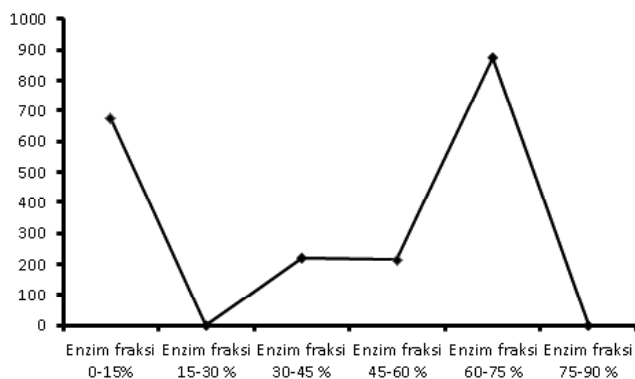
fraksi enzim masing-masing 461,54 ml. Total aktivitas enzim yang diperoleh tertera pada Tabel 4 dan Gambar 4.

Total aktivitas enzim lipase paling tinggi diperoleh pada fraksi 60-75%, yaitu sebesar 875,00 unit, kemudian fraksi 0-15% sebesar 673,08 unit. Urutan ketiga dan keempat masing-masing fraksi 30-45% dan 45-60% dengan aktivitas 220,77 unit dan 215,39 unit. Sedangkan fraksi 15-30% dan 75-90% tidak mengandung enzim lipase.

Tabel 4. Total aktivitas enzim lipase hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat kejenuhan (tiap butir kelapa)

Fraksi enzim	Aktivitas enzim (unit/ml)	Volume enzim setelah fraksinasi (ml)	Total aktivitas enzim tiap butir kelapa (unit)
Enzim fraksi 0-15%	1,46	461,54	673,08
Enzim fraksi 15-30%	0,00	461,54	0
Enzim fraksi 30-45%	0,48	461,54	220,77
Enzim fraksi 45-60%	0,47	461,54	215,39
Enzim fraksi 60-75%	1,90	461,54	875,00
Enzim fraksi 75-90%	0,00	461,54	0

Total aktivitas enzim (unit/butir)



Gambar 4. Total aktivitas hasil fraksinasi menggunakan ammonium sulfat jenuh tiap butir kelapa

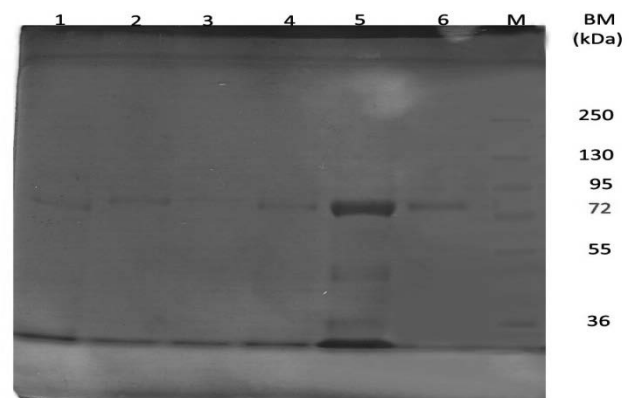
Berat Molekul Enzim

Berat molekul enzim lipase ditentukan dengan metode SDS-PAGE dimana pita-pita hasil elektroforesis dihitung nilai

Rf-nya kemudian dibandingkan dengan pita-pita dari protein marker yang sudah diketahui berat molekulnya. Pita-pita hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 5.

Berat molekul (BM) enzim lipase hasil fraksinasi mendekati sama yaitu 72 kDa. Pita protein pada berat molekul tersebut selalu muncul pada fraksi yang lain meskipun dengan ketebalan yang berbeda. Ini menunjukkan bahwa pita tersebut adalah enzim lipase. Hal ini diperkuat oleh hasil uji aktivitas enzim, bahwa hampir semua fraksi yang diuji mempunyai aktivitas enzim lipase.

Enzim lipase dari kentos kelapa berat molekulnya sebesar 46,34 kDa (Su'i dkk., 2008). Ini berarti berat molekul enzim lipase kentos kelapa lebih rendah dari enzim lipase dari endosperm kelapa yaitu 72 kDa. Perbedaan berat molekul ini karena kedua enzim lipase tersebut memiliki karakter yang berbeda meskipun sama-sama diperoleh dari kelapa. Suhu optimum, pH optimum kedua enzim lipase berbeda. Enzim lipase kentos mempunyai suhu optimum 60°C dan pH optimum 7. Sedangkan enzim lipase endosperm kelapa memiliki suhu optimum 35°C dan pH optimum 7,5 - 8,5 (Ejedegba dkk, 2007).



keterangan :
 1 : II-1
 2 : II-2
 3 : II-3
 4 : II-4
 5 : II-5
 6 : II-6
 M : marker protein
 BM(kDa) : Berat molekul (kilodalton)

Keterangan :

1 : Fraksi 0-15% ; 2 : Fraksi 15-30% ; 3 : Fraksi 30-45% ; 4 : Fraksi 45-60%
 5 : Fraksi 60-75% ; 6 : Fraksi 75-90% dan M : Marker

Gambar 5. Pita-pita protein hasil pengujian dengan elektroforesis

Enzim lipase dari sumber lain memiliki berat molekul yang bervariasi tergantung sumbernya. Enzim lipase *Pseudomonas* berat molekulnya 49,92 kDa (Rashid dkk., 2001), enzim lipase dari *rice brand* mempunyai berat molekul 44 kDa (Bhardwaj dkk., 2001), sedangkan enzim lipase *oil seed Brassica napus* L. memiliki berat molekul agak rendah

yaitu 34 kDa (Sana dkk., 2004) dan enzim lipase dari *castor bean* mempunyai berat molekul yang tinggi yaitu 62 kDa (Maeshima dan Beevers, 1985). Pengukuran berat molekul menggunakan protein marker yang dirunning bersama dengan enzim lipase dalam 1 plate elektroforesis.

Pita hasil elektroforesis menunjukkan bahwa, pada enzim fraksi 60-75% pita terlihat paling tebal dan jelas. Hal ini menunjukkan bahwa pada fraksi tersebut enzim lipase paling tinggi dari pada fraksi lainnya. Ini sesuai dengan hasil pengamatan pada aktivitas enzim lipase (Tabel 2) bahwa aktivitas enzim paling tinggi terdapat pada fraksi 60-75% dengan aktivitas enzim sebesar 1, 896 unit/ml.

Meskipun fraksi 60-75% pita paling tebal, tetapi pada fraksi tersebut masih terdapat pita-pita lain. Ini menunjukkan bahwa pada fraksi tersebut, masih terdapat protein lain selain enzim lipase. Hal ini sesuai dengan hasil uji protein bahwa pada fraksi tersebut kandungan proteinnya relatif tinggi yaitu 6,03 mg/ml dan menempati urutan kedua setelah fraksi 0-15% (Tabel 1). Kandungan protein yang tinggi tersebut menyebabkan aktivitas spesifiknya menjadi rendah (Tabel 3).

KESIMPULAN

Fraksinasi enzim lipase dari endosperm buah kelapa diperoleh bahwa sebagian besar fraksi mengandung enzim lipase kecuali pada fraksi 15-30% dan 75-90%. Aktivitas enzim paling tinggi terdapat pada fraksi 60-75% yaitu sebesar 1,90 unit/ml. Sedangkan aktivitas spesifik (kemurnian) tertinggi pada fraksi 30-45% yaitu sebesar 0,55 unit/mg. Enzim lipase dari endosperm buah kelapa mempunyai berat molekul 72 kDa. Pada fraksi 15-30% dan 75-90% tidak ada aktivitas enzim lipase, tetapi ada protein. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi jenis protein yang terdapat pada fraksi tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Fundamental yang dibiayai pada tahun anggaran 2011 dengan surat perjanjian No. 11/SP/PTS.030.7/PN/VI/2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhardwaj, K., Raju, A. dan Raja, S.R. (2001). Identification, purification and characterization of a thermally stable lipase from rice bran. A new member of the (Phospho) lipase family. *Plant Physiology* **127**: 1728-1738.
- Chaplin, M. (2004). Concentration by precipitation. <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/concentration.html>. [1 Agustus 2007].
- Citra, C.S. (2009). Isolasi, pemurnian, dan karakterisasi lipase termostabil dari bakteri termofilik isolat lokal. <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpps-gdl-citraresdi-34141>. [6 Mei 2013].
- Dali, S., Patong, A.R., Jalaluddin, M.N. dan Parenrengi, P.A. (2011). Pemurnian dan karakterisasi enzim lipase dari *Aspergillus oryzae* pada kopra berjamur. *Jurnal Natur Indonesia* **14**(1): 26-31.
- Davidson, V.L. dan Sittman, D.B. (1999). *Biochemistry*, 4th edition, Lipincott Williams and Wilkins, Maryland, hal. 19-21.
- Ejedegba, B.O., Onyeneke, E.C. dan Oviasogie, P.O. (2007). Characteristics of lipase isolated from coconut (*Cocos nucifera* Linn) seed under different nutrient treatments. *African Journal of Biotechnology* **6**(6): 723-727.
- Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. dan Rodwell, V.W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition, Mc Graw-Hill Companies Inc., New Delhi.
- Maeshima, M. dan Beevers, H. (1985). Purification and properties of lyoxysomal lipase from castor bean. *Plant Physiology* **79**: 489-493.
- Matthews, C.K., Van-Holde, K.E. dan Ahern, K.G (2000). *Biochemistry*, 3rd edition, Addison-Wesley Publishing Company, San Fransisco, hal. 148-152.
- Pahoja, V.M., Dahot, M.U. dan Sethar, M.A. (2001). Characteristic properties of lipase crude extract of *Caesalpinia bounducella* L. seeds. *Journal of Biological Sciences* **1**(8): 775-778.
- Rashid, K., Shimada, Y., Ezaki, S., Atomi, H. dan Imanaka T. (2001). Low temperature lipase from *Psychrotrophic pseudomonas sp.* starin KB700A. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* **67**(9): 4064-4069.
- Sana, H.I., Haque, E.M. dan Shaha, R.K. (2004). Identification, purification and characterization of lipase from germination oil seed (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* **7**(2): 246-252.

Sui, M. dan Chandra, W. (2007). Aktivitas lipase kasar dalam buah kelapa yang digerminasi (ditunaskan). Laporan Penelitian Dosen Muda Dirjen DIKTI Depdiknas Republik Indonesia.

Wang, N.S. (2004). Enzyme purification by salt (ammonium sulfate) precipitation, <http://www.glue.umd.edu/~nsw/ench485/lab6a.htm>. [1 Agustus 2007].

Sui, M., Harijono, Yuniarta dan Aulanni'am (2008). Pemurnian parsial lipase dari kentos kelapa dengan ammonium sulfat. *Jurnal Tropika* **19**(1): 67-72.