

**Hidrolisis Lemak oleh Enzim Lipase pada Tanaman Jarak Pagar
(*Jatropha curcas*)**

Fat Hydrolysis by Lipase Enzyme in *Jatropha curcas*

Setyo Andi Nugroho^{1)*}, Rudi Wardana²⁾, Titien Fatimah³⁾, Lilik Mastuti⁴⁾, Ika Lia Novenda⁵⁾

1), 2), 3), 4)Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

5)Prodi Pendidikan Biologi, FKIP Universitas Jember

*email: andi1746@polije.ac.id

diterima : 10 Maret 2022; dipublikasi : 31 Maret 2022

DOI: 10.32528/bioma.v7i1.7368

ABSTRAK

Tujuan penelitian yaitu untuk menganalisis kandungan enzim lipase pada perombakan lipid dan faktor yang mempengaruhi enzim lipase seperti suhu dan konsentrasi enzim. Metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) dan titrasi asam-basa untuk analisis aktivitas lipase menggunakan minyak zaitun sebagai substratnya. Hasil Penelitian menunjukkan titrasi kontrol sebesar 2,8 ml. sedangkan pengaruh suhu tinggi 98,3°C titrasinya 2,5 ml, sehingga selisihnya 0,3 ml. Pengaruh suhu dingin 27°C titrasinya sebesar 3,0 ml (selisih 0,2 ml dengan kontrol). Pengaruh enzim terhadap konsentrasi enzim 5% volume titrasinya 2,5 ml (selisih 0,3 ml dengan kontrol). Sedangkan untuk konsentrasi enzim 46% volume titrasinya 3,1 ml (selisih 0,3 ml dengan kontrol). selisih antara nilai titrasi setara dengan asam lemak yang terbentuk oleh aktivitas enzim lipase.

Kata kunci: Enzim Lipase, Hidrolisis, *Jatropha curcas*

ABSTRACT

The purpose of this study was to analyze the content of the lipase enzyme in the breakdown of lipids and the factors that affect the lipase enzyme such as temperature and enzyme concentration. DNS method (3.5-dinitrosalicylic acid) and acid-base titration for lipase activity analysis using olive oil as the substrate. The results showed that the control titration was 2.8 ml. While the effect of high temperature 98.3°C titration 2.5 ml, so the difference is 0.3 ml. The effect of cold temperature 27°C on the titration is 3.0 ml (difference 0.2 ml with the control). The effect of the enzyme on the 5% enzyme concentration in the titration volume was 2.5 ml (difference 0.3 ml with the control). As for the enzyme concentration of 46%, the titration volume was 3.1 ml (difference 0.3 ml with the control). The difference between the titration values is equivalent to the fatty acids formed by the lipase enzyme activity.

Keywords: Hydrolysis, Lipase Enzyme *Jatropha curcas*

PENDAHULUAN

Tanaman Jarak Pagar telah dikembangkan relatif luas pada berbagai macam negara lantaran minyaknya bisa dijadikan biodiesel. Di Indonesia, pengembangan jarak pagar sebagai program pemerintah sebagai pengganti minyak tanah atau sebagai biodiesel. Tanaman jarak bisa tumbuh pada tanah yg miskin hara & toleran terhadap cekaman kekeringan. Pemanfaatan biji jarak pagar India menjadi biofertilizer & briket. Sedangkan pada Zimbabwe, minyak jarak dapat diolah menjadi sabun berkualitas tinggi. Minyak jarak bisa dipakai mengobati penyakit kulit atau eksim. Hal ini membuktikan bahwa minyak jarak atau ekstrak minyak jarak mengandung senyawa-senyawa yg memiliki nilai ekonomi yg tinggi (Wina *et al.* 2008).

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) merupakan tanaman perdu dengan tinggi rata-rata tiga sampai lima meter (Purnomo *et al.* 2020). Jarak pagar memiliki kulit abu-abu halus, daun besar dan biasanya hijau muda, berbunga dan berbuah di musim dingin atau sepanjang tahun tergantung pada suhu dan kelembaban tanah. Tanaman *Jatropha curcas* relatif mudah tumbuh, dan pemerintah telah menetapkan target satu juta hektar menanam jarak pagar (*J. curcas* Linn) pada tahun 2006, tetapi area yang ditanami jarak pagar berkisar antara 600 hingga 1.000 Ha. Target pada tahun 2020 adalah 1,5 juta hektar (Pasetriyani *et al.* 2014). Buah kering jarak pagar mengandung 37,5% cangkang dan 62,5% biji (Singh *et al.* 2007). Bijinya memiliki kulit terluar yang keras berwarna hitam dengan inti berwarna putih (Harinder *et al.* 2008).

Biji jarak pagar mengandung asam lemak tidak jenuh asam oleat, dan linoleat yang mengandung satu atau lebih ikatan rangkap, peka terhadap proses otooksidasi. Biji yang berlemak tinggi akan mengalami penurunan daya berkecambah lebih cepat dibanding biji berkarbohidrat tinggi. Perkecambahan atau germinasi secara teknis merupakan permulaan keluarnya pertumbuhan aktif yang membentuk pecahnya kulit biji & keluarnya semai (Gardner, 1991). Biji-bijian yg berkecambah masih ada beberapa enzim, salah satunya adalah enzim lipase (Bonner, 1976). Enzim lipase akan meningkat saat tanaman mengalami perkecambahan benih. Dalam biji yang mengandung minyak (terutama triacylycerols) sebagai bahan cadangan makanan. Enzim lipase mempunyai peranan penting dalam perkecambahan ketika cadangan Setyo Andi Nugroho *et al.* Hidrolisis Lemak....

(insoluble) triacylglycerols dikonversi ke gula larut yang dapat diangkut ke jaringan tumbuh untuk memasok karbon struktural dan energi (Gilliard, 1980).

Hill dan Beevers (1987) mengemukakan bahwa lipase menghidrolisis triacylglycerol untuk gliserol dan asam lemak yang dikonversi menjadi gula dan mendukung pertumbuhan tanaman muda. Asam lemak yang dikeluarkan oleh lipase bertindak sebagai prekursor untuk sintesis fosfolipid yang diperlukan untuk mendukung sistem endomembrane proliferasi selular, (Vakharia *et al.* 1987). Selain itu lipase memiliki kemampuan mengkatalisis reaksi organik baik dalam media berair maupun dalam media non-air (Wilkinson *et al.* 1984).

Enzim Lipase dapat mengkatalisis Beberapa reaksi diantaranya reaksi hidrolisis, gliserolisis, asidolisis, dan transesterifikasi. Enzim ini digunakan untuk menghasilkan asam lemak bebas, gliserol, berbagai ester, sebagian gliserida dan lemak yang dimodifikasi atau di esterifikasi dari substrat yang digunakan (Montgomery, 2009).

Enzim yang mempunyai peranan penting dan tidak ada bandingannya dalam pertumbuhan bioteknologi adalah lipase. Enzim lipase atau lengkapnya triasilgliserol lipase adalah enzim yang menghidrolisis ester karboksilat. Enzim ini memiliki sifat khusus dapat memecahkan ikatan ester pada lemak dan gliserol. Hidrolisa dalam hal ini adalah penguraian lemak atau trigliserida oleh molekul air menjadi asam-asam lemak bebas dan gliserol. Reaksi ini akan lebih sempurna jika ditambahkan katalisator misalnya enzim lipase.

Enzim lipase sangat berperan dalam pemisahan asam lemak dan pelarutan noda minyak pada alat industri agar minyak dapat dilarutkan dalam air (Dosanjh, 2002). Enzim lipase termotabil atau asilgliserol hidrolase (E.C 3.1.1.3) merupakan enzim yang dapat menghidrolisis rantai panjang trigliserida. Enzim ini memiliki potensi untuk digunakan memproduksi asam lemak, yang merupakan prekursor berbagai industri kimia. Produksi asam lemak secara industri menggunakan katalis kimia menghasilkan efek samping bagi lingkungan. Selain itu enzim lipase telah banyak dikenal memiliki cakupan aplikasi yang amat luas dalam bidang bioteknologi, seperti biomedikal, pestisida, industri makanan, biosensor, dan industri oleokimia (memproduksi asam lemak dan turunannya) (Macrae, 1983). Tujuan penelitian menganalisis kandungan enzim lipase pada perombakan lipid.

METODE

Penelitian Hidrolisis Lemak oleh enzim lipase dilaksanakan pada bulan Desember sampai Februari 2022 di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember. Sampel yang digunakan adalah biji jarak pagar (*Jatropha curcas*). Alat yang digunakan mortar, sentrifugasi, inkubator 37 °C dan buret. Bahan yang digunakan ialah biji jarak pagar (*Jatropha curcas*), minyak zaitun, penyangga ammonium, CaCl₂ 2 % larutan albumin, timolftalein dan larutan KOH 0,5 N.

Metode yang digunakan adalah metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) dan titrasi asam-basa untuk analisis aktivitas lipase menggunakan minyak zaitun sebagai substratnya. Prosedur kerja diawali dengan mengupas 25 biji jarak pagar yang sudah direndam. Kemudian di tumbuk dengan mortar dan tambahkan 50 ml aquades. Kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Ambil supernatannya dan ditambahkan aquades 10 ml. dihomogenkan sampai terbentuk emulsi. Larutan dibagi menjadi dua bagian masing-masing 5 ml, Panaskan botol 1 sampai larutan mendidih kemudian didinginkan, Siapkan botol erlenmeyer 50 ml sebanyak 4 buah. Masing-masing diisi dengan 5 ml aquades, 2 ml minyak zaitun, 2ml penyangga amonium, 0,5 ml CaCl₂ % dan 0,5 ml larutan albumin 3 % dalam botol 1 tambahkan enzim yang tak dididihkan, botol 2 enzim yang dididihkan, botol 3 ditambahkan pekat, botol 4 ditambahkan konsentrasi encer. Kemudian tutuplah masing-masing botol erlenmeyer rapat-rapat, lalu kocok dengan kuat sampai terbentuk emulsi yang stabil. Inkubasi semua botol pada suhu 37⁰C selama 1 jam, Masing-masing botol ditambah 0,5 ml timolftalein. Titrasi tiap larutan dengan KOH 0,5 N. Hentikan titrasi pada saat warna biru terbentuk, kemudian catat volume titran yang dipakai, Selisih antara nilai titrasi dari larutan yang berisi enzim dan dari kontrol merupakan nilai setara asam-asam lemah yang terbentuk karena aktivitas enzim lipase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji jarak pagar terdiri kernel sebanyak 75% dan sisanya adalah kulit. Kandungan biji jarak pagar yang paling banyak yaitu minyak dengan rendemen sekitar 40% sampai 60%. Kandungan minyak biji jarak terdiri dari asam lemak jenuh 21% dan asam lemak tak jenuh 79% (Gubitz *et al*: 1999). Biji-bijian yang mengandung minyak cenderung mengalami kerusakan, dimana kerusakan tersebut disebabkan oleh enzim lipase yang dapat menghidrolisis lemak. Lemak akan diurai menjadi asam lemak dan gliserol, terutama jika suhu dan kadar air dari biji tersebut tinggi. Asam lemak bersifat reaktif terhadap oksigen. Minyak yang terkandung pada jarak pagar didominasi oleh asam lemak tidak jenuh oleat, linoleat, dan linolenat, dimana kandungan tersebut mudah teroksidasi sehingga minyak menjadi asam. Proses hidrolisis sendiri terjadi secara bertahap yaitu trigiserida terurai menjadi digliserida dan asam lemak. Kemudian digliserida akan diurai menjadi monogliserida dan asam lemak, dan akhirnya monodiglisierida diurai menjadi gliserol dan asam lemak (Ketaren, 1986).

Proses hidrolisis lemak oleh enzim lipase yang terjadi pada tanaman jarak pagar, memperoleh hasil yaitu terjadi perubahan warna menjadi warna biru pada setiap perlakuan setelah dititrasi disajikan. Berikut data hasil titrasi pada setiap perlakuan:

Tabel 1. Data Hasil Titrasi Larutan Enzim dengan Beberapa Perlakuan

No	Perlakuan	Δ Vol. KOH Lar. E	Δ Vol. KOH Lar. E – Vol. KOH H ₂ O
1	Kontrol	2,8 ml	0 – 2,8 = 2,8 ml
2	Dipanaskan (98,3 ⁰ C)	2,5 ml	2,5 – 2,8 = -0,3 ml
3	Suhu Ruang (27 ⁰ C)	3,0 ml	3,0 – 2,8 = 0,2 ml
4	Konsentrasi Enzim 5%	2,5 ml	2,5 – 2,8 = -0,3 ml
5	Konsentrasi Enzim 46%	3,1 ml	3,1 – 2,8 = 0,3 ml

Pada perlakuan di atas dapat dikelompokkan dalam 2 bagian besar, yaitu pengaruh suhu yang terdiri dari perlakuan pemanasan sampai suhu $98,3^{\circ}\text{C}$, dan suhu ruang (27°C). Sedangkan kelompok kedua yaitu meliputi perlakuan konsentrasi enzim 5% dan 46%. Perlakuan tersebut di atas bertujuan untuk melihat aktivitas kerja enzim lipase pada tanaman jarak pagar. Setiap perlakuan ditempatkan pada erlenmeyer yang masing-masing diisi oleh 5 ml aquades, 2 ml minyak zaitun, 2 ml penyangga amonium, 0,5 ml CaCl_2 konsentrasi 2 % dan 0,5 ml larutan albumin dengan konsentrasi 3%. Minyak zaitun berfungsi sebagai lipid yang akan dihidrolisis oleh enzim lipase dari biji jarak pagar. Larutan penyangga amonium berfungsi untuk mempertahankan nilai pH tertentu agar tidak berubah signifikan selama reaksi kimia berlangsung. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, dimana kondisi yang terlalu asam akan mengakibatkan protein terdenaturasi sehingga aktifitas enzim akan terhenti. Sehingga larutan penyangga amonium dibutuhkan untuk menstabilkan pH. Penambahan larutan garam kalsium sangat penting terutama untuk reaksi kimia pada suhu di atas 65°C , hal ini diperlukan untuk mencegah protein enzim terdenaturasi karena panas (Reed, 1980 dalam Muchtadi *et al.* 1992). Kalsium tidak berperan secara langsung pada pembentukan kompleks antara media dan enzim, akan tetapi kalsium berikatan dengan molekul enzim, sehingga enzim lipase tersebut relatif tahan terhadap suhu di atas 70°C dan pada pH kurang dari 6,5 (Muchtadi *et al.* 1992). Sedangkan albumin disini berfungsi sebagai protein pengangkut asam lemak.

Proses titrasi adalah suatu teknik analisis kimia kuantitatif yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan tertentu, dimana penentuannya menggunakan larutan standar yang sebelumnya sudah diketahui konsentrasinya secara tepat. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan kontrol dengan pemberian enzim tanpa perlakuan diperoleh hasil sebanyak 2,8 ml. Kemudian untuk perlakuan panas yaitu suhu $98,3^{\circ}\text{C}$ didapat sebesar 2,5 ml sehingga selisih dengan kontrol minus 0,3. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase pada perlakuan panas tidak optimal. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga menyebabkan reaksi menurun secara tajam (Malik & Singh, 1980). Sedangkan pada perlakuan suhu ruang yaitu 27°C ,

diperoleh data 30 ml setelah titrasi (selisih antara nilai tritasi dengan kontrol 0,2 ml). Hal ini menunjukkan bahwa pada suhu ruang proses hidrolisis lemak oleh enzim lipase terjadi. Proses hidrolisis lemak merupakan suatu reaksi pelepasan asam lemak bebas dari gliserin pada struktur lemak. Reaksi ini dapat dipicu oleh aktivitas enzim lipase atau pemanasan yang dapat menyebabkan pemutusan ikatan ester serta pelepasan asam lemak bebas (Kusnandar, 2010).

Pada perlakuan konsentrasi enzim 5% diperoleh nilai sebesar 2,5 ml dengan selisih dengan kontrol minus 0,3. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis lemak oleh enzim lipase berjalan lambat. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi enzim 46% diperoleh hasil sebesar 3,1 ml dengan selisih pada kontrol 0,3 ml artinya lipid dapat terhidrolisis oleh enzim lipase. Menurut Whitaker (1996), peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi bila substrat tersedia secara berlebih. Kecepatan reaksi enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, dimana semakin tinggi konsentrasi enzim maka kecepatan reaksi akan semakin tinggi juga, akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu.

Faktor lain yang mempengaruhi kerja enzim lipase, salah satunya adalah pH. Enzim lipase mempunyai aktivitas maksimal pada kisaran pH yang disebut pH optimum. Suasana terlalu asam akan mengakibatkan protein terdenaturasi aktifitas enzim semakin menurun. pH optimal untuk beberapa enzim umumnya terdapat pada kisaran pH 5,1-5,6. PH optimum sangat penting untuk menentukan karakteristik enzim, dimana substrat yang berbeda, pH optimum pada enzim juga akan berbeda (Tranggono *et al.* 1990).

KESIMPULAN

Hasil menunjukkan pengaruh perlakuan kontrol saat titrasi sebesar 2,8 ml. sedangkan pengaruh suhu untuk perlakuan (pemanasan 98,3°C) suhu tinggi didapat data volume titrasi KOH 2,5 ml, sehingga selisih dengan kontrol minus 0,3 ml. Kemudian untuk pengaruh suhu dingin 27 °C atau suhu ruang volume titrasi KOH sebesar 3,0 ml. Sehingga selisih nilai titrasi dengan kontrol sebesar 0,2 ml. Pengaruh enzim terhadap konsentrasi 5% saat titrasi volume KOH 2,5 ml selisih dengan kontrol minus 0,3 ml. Sedangkan untuk konsentrasi 46% sebesar 3,1 ml sehingga selisih nilai titrasi dengan kontrol 0,3 ml. selisih antara nilai titrasi dari larutan yang berisi enzim dan dari kontrol Setyo Andi Nugroho *et. al.* Hidrolisis Lemak....

merupakan nilai setara asam-asam lemak yang terbentuk karena aktivitas enzim lipase.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonner. 1976. *In Introduction to lipids*. Pub. Mc Graw Hill publishers.
- Dosanjh, NS, Kaur. 2002. Immobilization, Stability and Esterification Studies of A Lipase From *Bacillus* sp. *Journal Biotechnology and Applied Biochemistr.* 36(1):7-12.
- Galliard, T. 1980. *Degradation of acyl lipids: hydrolitic and oxidative enzymes*. In, *the biochemistry of plant. Lipids: structures and function*. Eds. Stumpf, P.K. and E.E. Conn. Pp: 88. Academic press New York.
- Gubitz, GM, Mittelbach M, Trabi M. 1998. Exploitation of the tropical oil seed plants *Jatropha curcas*. *Bioresource Technology*. 67(1): 73-82
- Harinder, P. S. M, George .F, Klaus. B. 2008. Protein concentrate from *Jatropha curcas* screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate. *J Sci Food Agric*. 88(1): 1542–1548
- Hills MJ, Beevers H. 1987. An Antibody to the Castor Bean Glyoxysomal Lipase (62 kD) also Binds to a 62 kD Protein in Extracts from Many Young Oilseed Plants. *Plant Physiol*. 85(1): 1084-1088
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Lemak dan Minyak Pangan*. Edisi 1. Jakarta: UI-Press.
- Macrae, AR. 1983. Extracelullar microbial lipases. In “Microbial Enzymes and biotechnology”, ed. Fogarty, W.M., *Applied Science Publiser Ltd*, England, pp.225-250.
- Montgomery, R, Dryer, Robert L, Conway, Thomas W, Spector, Arthur A. 1993. *Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus. Jilid 1*. Pn. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Muchtadi, D; Palupi, D; Astawan, N.S. 1992. *Enzim Dalam Industri Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi PAU IPB. Bogor.
- Pasetriyani, ET. 2014. Pengaruh Macam Media Tanam Dan Zat Pengatur Tumbuh Setyo Andi Nugroho *et. al.* Hidrolisis Lemak....

- Growtone Terhadap Pertumbuhan Stek Batang Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn). *Jurnal Agroscience*. 4(1): 82-88.
- Purnomo V, Hidayatullah AS, In'am AAJ, Prastuti OP, Septiani EL, Herwoto RF. 2020. Biodiesel dari minyak jarak pagar dengan transesterifikasi metanol subkritis. *Jurnal Teknik Kimia*. 14(2): 73-79.
- Singh, RN, Vyas DK, Srivastava NSL, Narra M. 2007. spreri experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha curcas* fruit for energy. *Renewable Energy*. 33(8):1868-1873
- Tranggono S, Haryadi, Suparmo, Mardiaty A, Sudarmadji S, RahayuK, Naruki M, Astuti M. 1990. *Bahan Tambahan Pangan (Food Additives)*. PAU Pangan dan Gizi. UGM, Yogyakarta.
- Tranggono. 1991. *Kimia Pangan*. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Vakharia DN, Brearly CA, Wilkinson MC, Gilliard T, Laidman DL. 1987. Gibberellin modulation of phosphatidyl-choline turnover in wheat aleurone tissue. *Planta*. 172(1): 502-507.
- Wilkinson MC, Laidman DL, Galliard T, 1984. Two sites of phosphatidyl choline synthesis in the wheat aleurone cell. *Plant sci*. 35(1): 195-199.
- Wina E, Susana IWR, Tiurma P. 2008. Pemanfaatan bungkil jarak pagar (*Jatropha curcas*) dan kendalanya sebagai bahan pakan ternak. *Wartazoa*. 18(1):1-8.
- Whitaker, J.R. 1996. *Principle Of Enzymology for the Food Science*. Marcel Dekker. Inc. New York