

Studi awal uji aktivitas enzim amilase dari tumbuhan secara kualitatif berdasarkan perbedaan suhu dan konsentrasi substrat

Initial study of activity test of amylase enzyme from plants qualitatively based on differences in temperature and substrate concentration

Handa Muliastari* dan Lina Permatasari

Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Indonesia

*corresponding author: handamuliasari@unram.ac.id

Received: 22 May 2022 | accepted: 30 June 2022

ABSTRAK

Enzim amilase merupakan enzim penghidrolisis pati yang memiliki aplikasi yang luas dalam bidang industri makanan, minuman dan bioteknologi. Salah satu sumber enzim amilase yang mudah diperoleh yaitu biji tanaman dan kecambah. Penelitian ini merupakan studi awal pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim amilase dari tanaman secara kualitatif. Enzim amilase diperoleh dari kecambah kacang hijau, biji kacang tanah segar dan kering, serta biji jagung segar dan kering. Ekstrak kasar enzim amilase diuji aktivitasnya menggunakan substrat pati 1% dengan variasi suhu dan jumlah substrat. Hasil hidrolisis pati berupa gula pereduksi dideteksi menggunakan reagen Benedict. Hasil percobaan menunjukkan bahwa Enzim amilase yang diekstraksi dari kecambah kacang hijau dan biji jagung segar dan kering menunjukkan aktivitas dalam memecah pati dengan suhu optimum 25°C pada konsentrasi substrat 6mL, sedangkan biji kacang tanah kering tidak menunjukkan aktivitas. Kesimpulannya, aktivitas enzim amilase dipengaruhi oleh suhu dan jumlah substrat.

Kata kunci: amilase; pati; reagen Benedict; suhu; substrat

ABSTRACT

Amylase enzyme is a starch hydrolyzing enzyme that has wide applications in the food, beverage and biotechnology industries. One source of the amylase enzyme that is easily obtained is plant seeds and sprouts. This research is a preliminary study to qualitatively test the activity of the crude extract of the amylase enzyme from plants. Amylase enzyme was obtained from green bean sprouts, fresh and dried peanut seeds, and fresh and dried corn seeds. The crude extract of the amylase enzyme was tested for its activity using 1% starch as a substrate with variations in temperature and amount of substrate. The result of starch hydrolysis in the form of reducing sugar was detected using Benedict's reagent. The experimental results showed that the amylase enzyme extracted from green bean sprouts and fresh and dried corn kernels showed activity in breaking down starch at 25°C using 6 mL substrate concentration, while dried peanut seeds showed no activity. The enzyme activity is influenced by temperature and the amount of substrate.

Keywords: amylase; Benedict reagent; starch; substrate; temperature



PENDAHULUAN

Enzim adalah molekul protein yang berperan sebagai biokatalis, yaitu mengkatalisis reaksi-reaksi metabolisme yang berlangsung di dalam sel makhluk hidup (Bahri *et al*, 2012). Enzim pada umumnya terdiri dari protein globular yang disusun oleh urutan asam amino tertentu yang menentukan struktur maupun aktivitas katalitik enzim (Thomy & Harnelly, 2018). Salah satu enzim yang penggunaannya sangat besar dalam industri makanan, minuman maupun bioteknologi di Indonesia adalah enzim amilase. Amilase adalah enzim hidrolase glikosida yang mengkatalisis pemecahan pati menjadi gula sederhana. Enzim amilase yang banyak digunakan di industri yaitu alfa-amilase yang bekerja memecah pati secara acak dari tengah atau bagian dalam molekul pati (Risnoyatiningih, 2011; Souza dan Magalhaes, 2010).

Seiring dengan meningkatnya penggunaan amilase, maka perlu dieksplor sumber amilase dari sumber yang mudah didapat (Isti'annah *et al.*, 2020). Enzim amilase dapat diperoleh dari tanaman, hewan, maupun mikroorganisme. Sumber enzim amilase yang mudah diperoleh dari sekitar adalah dari biji tanaman dan kecambah, seperti biji nangka, jagung, dll (Suarni dan Patong, 2007).

Kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi kimia lazim disebut aktivitas enzim. Aktivitas enzim dapat dihitung dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk, atau dengan menghitung jumlah pengurangan substrat dalam satuan waktu tertentu.

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu, suhu, Ph, kadar substrat, inhibitor, toksik enzim, dan kadar enzim (Salwanee *et al*, 2013).

Pada penelitian ini, dilakukan studi awal pengamatan aktivitas ekstrak kasar enzim amilase yang diperoleh dari kecambah kacang hijau, biji jagung dan biji kacang tanah. Pengamatan aktivitas enzim dilakukan secara kualitatif menggunakan uji Bannedict dengan variasi suhu dan jumlah substrat. Jumlah substrat yang terhidrolisis oleh enzim diamati menggunakan reagen Bannedict yang menunjukkan adanya gula pereduksi (hasil hidrolisis substrat pati).

METODOLOGI

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi berbagai alat gelas, blender, inkubator dan bunsen.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kecambah kacang hijau, biji jagung segar dan kering, biji kacang tanah kering, reagen Bannedict, larutan pati 1%.

Cara kerja

1. Persiapan sampel

Masing-masing sampel (kecambah kacang hijau, biji jagung segar dan kering, biji kacang tanah segar dan kering) ditimbang sejumlah 100 gram kemudian ditambahkan 100 ml air dan diblender. Sampel selanjutnya disaring menggunakan kain kasa sehingga diperoleh ekstrak kasar enzim amilase dari masing-masing sampel.

2. Pengujian aktivitas enzim secara kualitatif

Sebanyak 1 ml sampel ditempatkan dalam 3 tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan dengan amilum 1% berturut-turut sebanyak 6, 8, dan 12 ml pada masing-masing tabung. Selanjutnya campuran diinkubasi pada suhu 4°C selama 10 menit. Langkah yang sama dilakukan pada pengujian aktivitas enzim dengan variasi suhu 25°C dan 37°C.

Seluruh perlakuan selanjutnya ditambahkan masing-masing 3 ml reagen Benedict, kemudian dipanaskan selama ±3 menit sampai terjadi perubahan warna atau terbentuk endapan. Hasil pengamatan kemudian dicatat dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim amilase teramati pada sampel ekstrak kecambah kacang hijau dan biji jagung segar dan kering, sedangkan ekstrak biji kacang tanah kering tidak menunjukkan aktivitas (Tabel 1).

Aktivitas enzim amilase ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan reagen Benedict (Gambar 1) (Damira *et al.*, 2021). Enzim amilase menghidrolisis pati/amilum dengan cara memutus ikatan glikosidik β-1,4 pada amilosa sehingga menjadi gula sederhana (glukosa dan oligosakarida) yang bersifat gula pereduksi (Gambar 2). Selanjutnya, produk hasil hidrolisis tersebut bereaksi dengan reagen Benedict. Gugus aldehyd pada gula pereduksi mereduksi ion Cu²⁺ pada

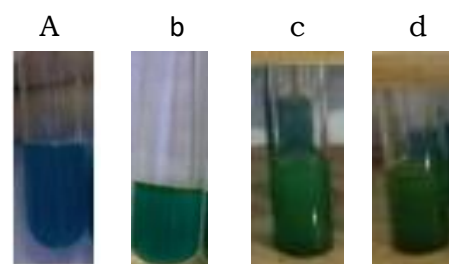
CuO sehingga terbentuk endapan merah bata, Cu₂O (Gambar 3) (Fatimah *et al.*, 2019).

Tabel 1.
Hasil uji aktivitas enzim amilase kasar dari tumbuhan secara kualitatif

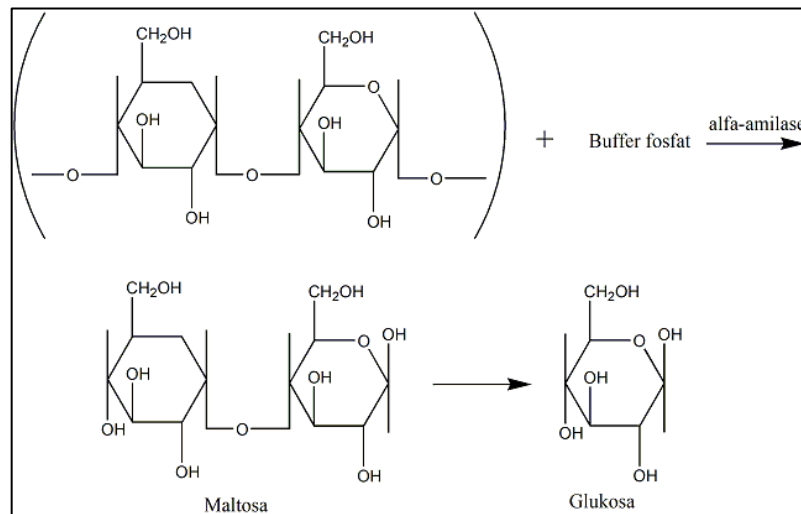
Sumber enzim	Suhu (°C)	Jumlah substrat pati 1% (ML)		
		6	8	12
Kecambah kacang hijau	4	+	++	+
	25	++	+++	+++
	37	+++	+++	+
Biji kacang tanah kering	4	-	-	-
	25	-	-	-
	37	-	-	-
Biji jagung kering	4	++	++	++
	25	+++	+++	-
	37	+	+++	+++
Biji jagung segar	4	+	++	+++
	25	+++	++	+
	37	+++	+++	++

Keterangan:

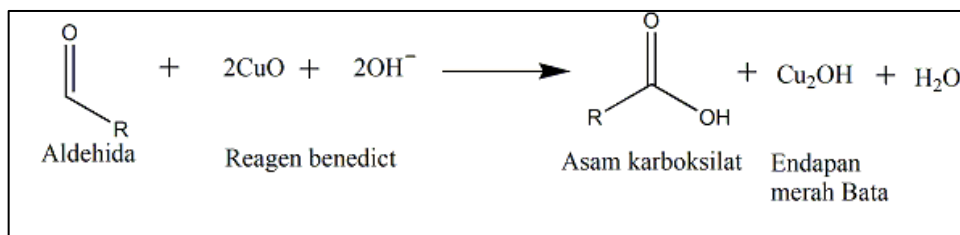
- : tidak ada perubahan
- + : perubahan warna tanpa endapan
- ++ : perubahan warna sedikit endapan
- +++ : perubahan warna banyak endapan



Gambar 1. Hasil pengamatan uji aktivitas enzim amilase dari tanaman. (a) kontrol negatif/tidak ada perubahan (+); (b) perubahan warna tanpa endapan (+); (c) perubahan warna sedikit endapan (++); (d) perubahan warna banyak endapan (+++).



Gambar 2. Hidrolisis pati menjadi maltose dan glukosa (Fatimah et al., 2019)



Gambar 3. Reaksi identifikasi adanya gula pereduksi menggunakan reagen Benedict (Fatimah et al., 2019)

Berdasarkan hasil pengamatan yang tercantum pada Tabel 1, enzim amilase yang dikstraksi dari biji kacang tanah kering tidak menunjukkan aktivitas dalam menghidrolis pati. Hal ini ditandai dengan warna hasil pengamatan yang sama dengan kontrol negatif yaitu berwarna biru. Ekstrak biji kecambah kacang hijau dan biji jagung segar dan kering menunjukkan aktivitas enzim amilase yang ditandai dengan perubahan warna biru menjadi hijau-oranye dan terbentuk endapan merah bata Damira et al., 2021).

Aktivitas enzim dari biji kecambah kacang hijau dan biji jagung segar dan

kering dipengaruhi oleh suhu dan jumlah substrat (pati 1%). Secara umum dapat disimpulkan bahwa aktivitas amilase tersebut tinggi pada suhu 25 °C; dan pada jumlah substrat 6 ml. Suhu dan jumlah substrat merupakan dua diantara beberapa faktor yang mempengaruhi kerja enzim. Karena enzim adalah molekul protein, maka struktur protein dapat rusak pada suhu tinggi, akibatnya enzim menjadi inaktif. Demikian juga pada suhu yang terlalu rendah, maka aktivitas enzim akan menurun karena kurangnya energi kinetik/tumbukan partikel untuk bereaksi. Dengan demikian, suhu menjadi faktor penting

dalam menentukan aktivitas enzim, dan setiap enzim memiliki suhu optimum untuk bisa bekerja secara maksimal (Ariadi, 2016; Kusumaningrum *et al.*, 2021).

Jumlah substrat juga menentukan tinggi atau rendahnya aktivitas suatu enzim. Ketika konsentrasi enzim tetap, maka penambahan jumlah/konsentrasi substrat dapat meningkatkan aktivitas enzim sampai batas maksimumnya. Hal ini dapat dipahami dari persamaan Michaelis-Menten yang menjelaskan bahwa penambahan konsentrasi substrat menyebabkan peningkatan kecepatan reaksi oleh enzim sampai pada konsentrasi tertentu Ketika kecepatan reaksi konstan (Soeka, *et al.*, 2016).

SIMPULAN

Enzim amilase yang diekstraksi dari kecambah kacang hijau dan biji jagung segar dan kering menunjukkan aktivitas dalam memecah pati, sedangkan biji kacang tanah kering tidak menunjukkan aktivitas. Aktivitas enzim amilase dari kecambah hijau serta biji jagung segar dan kering yang optimum diperoleh pada perlakuan suhu 25°C dengan jumlah substrat pati 1% sebanyak 6 mL. Aktivitas enzim tersebut dipengaruhi oleh suhu dan jumlah substrat.

DAFTAR PUSTAKA

Ariandi. 2016. Pengenalan enzim amilase (alpha-amylase) dan reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. *Jurnal Dinamika*, 7(1): 74-82.

Bahri, S., Mirzan, M., & Hasan, M. (2012). Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji

Aktivitas enzim amilase pada biji jagung segar lebih baik daripada biji jagung kering. Hal ini dapat mengasumsikan bahwa jumlah enzim amilase pada biji segar lebih banyak daripada biji kering. Pada dasarnya, enzim amilase dan enzim lainnya diproduksi oleh tanaman pada masa perkecambahan. Enzim amilase yang dihasilkan digunakan untuk memecah amilosa dan amilopektin pada pati kecambah. Dengan demikian, akan lebih baik jika biji segar ditunggu sampai membentuk perkecambahan terlebih dahulu sebelum enzim amilase diekstraksi (Wahjuni, *et al.*, 2017).

Jagung Ketan (*Zea mays ceratina* L.), *Jurnal Natural Science*, 1(1):132-143.

Damira., Firda, N., Farma, S.A., Atifah, Y., Batungale, S. 2021. Aktivitas enzim amilase pada saliva dan enzim protease pada secret pancreas *Rana esculenta*. *Prosiding SEMNAS BIO UNP 2021 vol 01: 111-121*.

Fatimah, S., Surur, M. A., A'tourrohman, M., Rohmah, A., dan Khumaera, F. (2019). Analisis Enzim Pencernaan menggunakan Variasi Uji. *Fisiologi Hewan* :1-8.

Kusumaningrum A, Gunam IBW, dan Wijaya IMM, 2019. Optimasi Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri Vol 7 (2): 243-253*.

Isti'annah., Utami, U., Barizi, A. 2020. Karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada variasi suhu, pH, dan konsentrasi substrat. *Jurnal riset biologi dan aplikasinya*, 2(1): 11-17.

Muliasari, H. & Permatasari, L. (2022). Studi awal uji aktivitas enzim amilase dari tumbuhan secara kualitatif berdasarkan perbedaan suhu dan konsentrasi substrat. *Journal of Agritechnology and Food Processing*, 2(1): 29-32

Risnoyatiningsih, Sri, (2011). Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa Secara Enzimatis. *Jurnal Teknik Kimia* Vol. 5, No. 2. Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri UPN "Veteran", Surabaya.

Salwanee, S., Wanaida, W. M., Mamot, S., Maskat, M. Y., & Ibrahim, S. (2013). Effects of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna. *Sains Malaysian*, 42(3):279-287.

Soeka, Y. S. (2016). Karakterisasi Bakteri Penghasil α -amilase dan Identifikasi Isolat C2 yang Diisolasi dari Terasi Curah Samarinda, Kalimantan Timur. *Berita Biologi*, 15(2):185-193.

Souza, P. M. & Magalhaes, P. O. (2010). Application of Microbial α -Amylase in Industry - A Review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41:850-861.

Suarni dan Patong, R., 2007, Potensi Kecambah Kacang Hijau Sebagai Sumber Enzim α Amilase, Universitas Hasanudin, Makasar

Thomy, Z. & Harnelly, E. (2018). *Buku Ajar Dasar-Dasar Biologi Sel dan Molekule* : *Buku Untuk Mahasiswa*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.

Wahjuni, S., Suarya, P., Saputra, M. A. 2017. Isolasi enzim amilase dari kecambah biji jagung local seraya (*Zea mays* L) untuk hidrolisis pati. *Jurnal Kimia FMIPA Univ Udayana*, 11(2): 107-193.