

## KAJIAN PENGGUNAAN KULIT BUAH MELINJO (*Gnetum gnemon*) SEBAGAI SUMBER ENZIM PROTEASE

R. A. Sidqi Zaed Z.M.

Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo  
Kampus Unijoyo PO BOX 2 Telang Kamal Bangkalan - Madura

### ABSTRACT

The research consist of six parts. These studies aim at : (1) seeking an accurate of extraction–isolation methode in peel of *Gnetum gnemon*, (2) determining pH optimum enzyme protease in peel of *Gnetum gnemon*, (3) determining the optimum temperature of enzyme protease in peel of *Gnetum gnemon*, (4) knowing the activity of enzyme in several concentrations, (5) knowing kind of enzyme based on its active, and (6) knowing the stability of enzyme to high temperature in peel of *Gnetum gnemon*.

The research was done on February to September 2008 at Base Laboratory of Trunojoyo University and Biochemistry Laboratory of Brawijaya University.

The first research uses saturate sulate ammonium 50 % and 60 %, acetone 1:1 and ethanol 1:1. Observation was done on enzyme activities resulted ( $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) and its rendement (%). Extraction methode by ammonium sulfat 60 %  $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$  is the best methode with activity  $62.15 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$  and yields 1.52 %.

The second research was examined in pH 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0 and 8.5. The research result shows that the optimum activity of enzyme protease in peel of *Gnetum gnemon* around pH neutral is 6.5 ( $60.33 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

The third research was experimented on temperature 30, 35, 40, 45, 50, 60, 65 and 70 degrees Celsius. The research result shows that enzyme protease which extracted in peel of *Gnetum gnemon* indicates the highiet activity 40 degrees Celcius with activity  $63.94 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . The fourth research uses substrate casein 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 and 1.6 % (b/v). The research concludes that concentration of substrate casein 0.8 % shows a saturate. The highest activity value is  $63.49 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .

The fifth research shows that the highest enzyme activity because of the influences HCN ( $64.26 \times$

$10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). Therefore, it can be concluded that enzyme protease in peel of *Gnetum gnemon* is sulfidril (sulfide).

The sixth research shows that the stability endures until 50 degrees Celcius ( $59.84 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ). It means that enzyme protease in peel of *Gnetum gnemon* is kind of enzyme protease with high temperature stability.

### ABSTRAK

Penelitian terdiri dari enam bagian. Penelitian ini bertujuan: (1) mencari metode yang akurat untuk ekstraksi-isolasi di kulit dari *Gnetum gnemon*, (2) menentukan pH optimum enzim protease dalam kulit melinjo, (3) menentukan suhu optimum enzim protease dalam kulit dari *Gnetum gnemon*, (4) mengetahui aktivitas enzim dalam beberapa konsentrasi, (5) mengetahui jenis enzim berdasarkan aktifitasnya, dan (6) mengetahui stabilitas enzim pada suhu tinggi dalam kulit *Gnetum gnemon*.

Penelitian ini dilakukan pada Februari-September 2008 di Laboratorium Dasar Universitas Trunojoyo dan Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya. Penelitian pertama menggunakan sulat amonium jenuh 50% dan 60%, aseton 1:1 dan etanol 1:1. Penelitian ini mengamati aktivitas enzim ( $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) dan rendemennya (%). Metode ekstraksi dengan amonium sulfat 60%  $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$  adalah metode terbaik dengan aktivitas  $62,15 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$  dan menghasilkan 1,52%. Penelitian kedua dilakukan pada pH 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0 dan 8.5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas optimum enzim protease dalam kulit dari *Gnetum gnemon* berada pada sekitar pH netral yaitu 6,5 ( $60,33 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

Penelitian ketiga dilakukan pada temperatur 30, 35, 40, 45, 50, 60, 65 dan 70° C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease yang diekstraksi dalam kulit buah Melinjo menunjukkan aktivitas 40 °C dengan aktivitas  $63,94 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .

Penelitian keempat menggunakan substrat kasein 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4 dan 1,6% (b / v). Penelitian menyimpulkan bahwa substrat kasein jenuh pada konsentrasi 0,8%. Aktivitas tertinggi adalah  $63,49 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ . Penelitian kelima menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi dipengaruhi oleh HCN ( $64,26 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa enzim protease dalam kulit dari Melinjo adalah sulfidril (sulfida) . Penelitian keenam menunjukkan bahwa stabilitas bertahan sampai 50 °C ( $59,84 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ). Hal ini menunjukkan bahwa enzim protease dalam kulit buah Melinjo adalah jenis enzim protease yang stabil pada temperatur tinggi.

## PENDAHULUAN

Kebutuhan enzim protease yang terus meningkat dan produksi yang belum mencukupi mendorong usaha-usaha pencarian alternative baru sumber enzim protease. Mikroorganisme, jaringan hewan dan tanaman adalah sumber dari enzim protease. Pencarian sumber enzim protease dari mikroorganisme mempunyai beberapa resiko yaitu kemungkinan mikroorganisme tersebut mengandung racun, terutama jika enzim tersebut diaplikasikan di bidang pangan. Selanjutnya, jaringan hewan secara ekonomi tidak menguntungkan untuk dikembangkan sebagai sumber enzim protease. Oleh karenanya, para peneliti lebih memfokuskan mencari sumber baru enzim protease dari tanaman.

Enzim protease dari tanaman yang sering digunakan selama ini adalah papain dari pepaya, bromelin dari nanas dan fisin dari pohon fig (Choirunnisa, 1988; Sanago, *et al.*, 1990). Chinas dan Canales (1986) meng-isolasi enzim protease dari daun Chaya, sedang Noda *et al.* (1994) mengisolasi enzim protease dari buah melon serta Abe *et al.* (1997) mengisolasi *oryzasin* yang diekstrak dari biji padi. Namun hingga kini sumber enzim protease dari tanaman tersebut kurang visible, baik ditinjau dari teknis pelaksanaan maupun segi ekonomi sehingga perlu terus menerus mengupayakan pencarian sumber-sumber alternatif enzim protease baru dari tanaman lain.

Salah satu tanaman yang mempunyai potensi yang cukup besar sebagai sumber enzim protease adalah tanaman melinjo. Tanaman melinjo adalah tanaman yang tidak asing lagi bagi

masyarakat Indonesia, karena tanaman melinjo ini tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia dan merupakan komoditas ekspor yang penting.

Diaz (2007) melaporkan bahwa tanaman melinjo dapat menghasilkan buah sampai 100 kg per tanaman per tahun dan pemanfaatan buah melinjo selama ini hanyalah terbatas pada daun muda sebagai sayur dan bijinya sebagai bahan baku emping, sedangkan kulit buah melinjo selama ini belum dimanfaatkan dan dibuang sebagai limbah.

Kulit buah melinjo diperkirakan mengandung enzim protease. Hal ini ditunjukkan oleh suatu keadaan dimana para pekerja yang melakukan pengupasan kulit buah melinjo mengalami pengelupasan pada kulit jari-jari tangannya di bagian dekat kuku. Fenomena tersebut diduga karena aktivitas enzim protease kulit buah melinjo yang mendegradasi protein kulit jari tangan sehingga kulit mengelupas. Penelitian dan publikasi penelitian tentang enzim protease dari kulit buah melinjo belum banyak dilakukan sehingga informasi dan karakteristik tentang enzim protease pada kulit buah melinjo belum memadai. Indarto (2006) menguji ekstrak kasar kulit buah melinjo pada substrat kasein dan ternyata kulit buah melinjo memiliki aktivitas protease sebesar  $55,24 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ . Namun penelitian tersebut masih sebatas menguji potensi kulit buah melinjo sebagai sumber baru enzim protease sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan agar memberikan dasar yang lebih kuat untuk telaah tentang enzim protease kulit buah melinjo tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Pebruari sampai September 2008 di Laboratorium Dasar Universitas Trunojoyo dan Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya.

Alat dan bahan yang digunakan meliputi kulit buah melinjo yang masak optimal, bahan proanalisis (pa), monobasic sodium sulfat, dibasic sodium sulfat, Na<sub>2</sub>EDTA, tirosin standard, asam trichloro acetate, HCl, kasein dan bahan lain untuk pengujian aktivitas enzim protease.

Metode penelitian masing-masing tahap disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 kali ulangan.

Penelitian I dilaksanakan untuk mengukur aktivitas enzim dan rendemen yang

dihasilkan pada berbagai metode ekstraksi-isolasi :

A<sub>1</sub> = Ekstraksi-isolasi menggunakan ammonium sulfat kejenuhan 50 %.

A<sub>2</sub> = Ekstraksi-isolasi menggunakan ammonium sulfat kejenuhan 60 %.

A<sub>3</sub> = Ekstraksi-isolasi menggunakan aseton (ratio aseton : ekstrak = 1 : 1).

A<sub>4</sub> = Ekstraksi-isolasi menggunakan etanol (ratio etanol : ekstrak = 1 : 1).

Penelitian II dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada pH substrat yang berbeda, meliputi :

B<sub>1</sub> = pH substrat 4.0 ; B<sub>2</sub> = pH substrat 4.5

B<sub>3</sub> = pH substrat 5.0 ; B<sub>4</sub> = pH substrat 5.5

B<sub>5</sub> = pH substrat 6.0 ; B<sub>6</sub> = pH substrat 6.5

B<sub>7</sub> = pH substrat 7.0 ; B<sub>8</sub> = pH substrat 7.5

B<sub>9</sub> = pH substrat 8.0 ; B<sub>10</sub> = pH substrat 4.5

Penelitian III dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada suhu inkubasi yang berbeda, meliputi :

C<sub>1</sub> = Suhu substrat 30°C.

C<sub>2</sub> = Suhu substrat 35°C.

C<sub>3</sub> = Suhu substrat 40°C.

C<sub>4</sub> = Suhu substrat 45°C.

C<sub>5</sub> = Suhu substrat 50°C.

C<sub>6</sub> = Suhu substrat 55°C.

C<sub>7</sub> = Suhu substrat 60°C.

C<sub>8</sub> = Suhu substrat 65°C.

C<sub>9</sub> = Suhu substrat 70°C.

Penelitian IV dilaksanakan dengan mengukur aktivitas enzim pada konsentrasi substrat yang berbeda, terdiri dari :

D<sub>1</sub> = Konsentrasi substrat kasein 0.2 % (b/v).

D<sub>2</sub> = Konsentrasi substrat kasein 0.4 % (b/v).

D<sub>3</sub> = Konsentrasi substrat kasein 0.6 % (b/v).

D<sub>4</sub> = Konsentrasi substrat kasein 0.8 % (b/v).

D<sub>5</sub> = Konsentrasi substrat kasein 1.0 % (b/v).

D<sub>6</sub> = Konsentrasi substrat kasein 1.2 % (b/v).

D<sub>7</sub> = Konsentrasi substrat kasein 1.4 % (b/v).

D<sub>8</sub> = Konsentrasi substrat kasein 1.6 % (b/v).

Penelitian V dilaksanakan dengan mengukur aktivitas enzim pada berbagai penambahan senyawa pengidentifikasi yang berbeda, meliputi :

E<sub>1</sub> = Senyawa pengidentifikasi EDTA 10<sup>-3</sup> M.

E<sub>2</sub> = Senyawa pengidentifikasi DPF 10<sup>-3</sup> M.

E<sub>3</sub> = Senyawa pengidentifikasi MgCl<sub>2</sub> 10<sup>-3</sup> M.

E<sub>4</sub> = Senyawa pengidentifikasi HCN 10<sup>-3</sup> M.

Kontrol = Tanpa penambahan senyawa pengidentifikasi.

Penelitian VI dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada suhu pemanasan yang berbeda terhadap kondisi substrat optimum hasil penelitian II dan III serta konsentrasi substrat optimum hasil penelitian IV, yang terdiri dari :

F<sub>1</sub> = Suhu pemanasan enzim 35°C.

F<sub>2</sub> = Suhu pemanasan enzim 40°C.

F<sub>3</sub> = Suhu pemanasan enzim 45°C.

F<sub>4</sub> = Suhu pemanasan enzim 50°C.

F<sub>5</sub> = Suhu pemanasan enzim 55°C.

F<sub>6</sub> = Suhu pemanasan enzim 60°C.

F<sub>7</sub> = Suhu pemanasan enzim 65°C.

F<sub>8</sub> = Suhu pemanasan enzim 70°C.

F<sub>9</sub> = Suhu pemanasan enzim 75°C.

Kontrol = Tanpa perlakuan suhu

Pemanasan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Uji F pada taraf 5 % atau 1 %. Jika terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka analisis dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Metode Ekstraksi Berbeda

Aktivitas enzim protease yang diekstraksi dengan metode yang berbeda disajikan Tabel 1.

Rendemen tertinggi adalah 1.68 %, yaitu rendemen enzim yang diekstraksi dengan menggunakan metode salting out garam ammonium dengan kejenuhan 60 % sedang yang terendah sebesar 1.02 % adalah enzim yang diekstraksi dengan aseton. Perbedaan rendemen ini disebabkan adanya perbedaan kelarutan antara garam ammonium dan pelarut organik. Kelarutan yang tinggi dari garam amonium di dalam ekstraksi menyebabkan air lebih mengikat atau melarutkan garam ammonium dibandingkan protein enzim sehingga protein enzim mengendap dari system larutan serta mudah diekstraksi untuk menghasilkan rendemen yang lebih besar (Witaker, 1994). Disamping itu, aktivitas enzim protease dengan ekstraksi ammonium sulfat lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan metode pelarut organik (aseton maupun etanol) karena pelarut organik dapat menyebabkan denaturasi protein enzim sehingga aktivitas enzim menurun (Scwimmer, 1981).

Tabel 1. Rerata Rendemen dan Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo Dari Berbagai Metode Ekstraksi

Metode Ekstraksi	Rerata Rendemen (%)	Rerata aktivitas ( $\times 10^{-2} \mu\text{mol tir. ml}^{-1}$ )
Amonium sulfat 50 %	1.52 c	62.15 d
Amonium sulfat 60 %	1.68 d	54.13 b
Aseton (1:1)	1.02 a	48.32 a
Etanol (1:1)	1.34 b	52.68 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada Kolom yang sama tidak berbeda nyata me nurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

### pH Optimum Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo

Tabel 2. Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Berbagai pH

pH	Rerata aktivitas ( $\times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )
4.0	53.81 a
4.5	54.20 ab
5.0	58.29 c
5.5	58.54 c
6.0	59.32 d
6.5	60.33 e
7.0	59.21 d
7.5	60.06 e
8.0	57.72 bc
8.5	55.16 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil pengujian aktivitas tertinggi enzim protease kulit buah melinjo pada berbagai kondisi pH substrat termasuk dalam klasifikasi enzim protease netral. Aktivitas enzim pada pH 6.5 tertinggi dan tidak berbeda dengan aktivitas enzim pada pH 7.5, masing-masing sebesar 60.33 dan  $60.06 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .

Derajat keasaman (pH) optimal masing-masing enzim berbeda-beda tergantung kepada asam amino penyusun dari protein enzim tersebut. Abe *et al.*, (1997) menyatakan aktivitas enzim protease dipengaruhi oleh konsentrasi ion  $\text{H}^+$ . Pada kondisi pH yang sesuai atau optimal maka aktivitas enzim paling tinggi karena kesesuaian antara konformasi sisi aktif enzim dengan substratnya.

### Suhu Optimum Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo

Jenis enzim protease kulit buah melinjo termasuk dalam jenis enzim protease yang mempunyai aktivitas optimal pada suhu relatif tinggi yaitu diatas  $40^{\circ}\text{C}$  (Tabel 3). Aktivitas enzim protease terbesar terdapat pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  dengan aktivitas katalis sebesar  $63.94 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}$ . Dari Tabel 3 diketahui bahwa aktivitas enzim protease kulit buah melinjo semakin meningkat dengan kenaikan suhu sampai  $40^{\circ}\text{C}$ , kemudian aktivitasnya akan mengalami penurunan dengan meningkatnya suhu.

Kenaikan suhu akan menyebabkan kenaikan aktivitas enzim, tetapi kenaikan sampai batas-batas tertentu justru akan menurunkan aktivitas enzim. Hal ini terjadi karena kenaikan suhu yang melebihi suhu optimum akan merusak protein enzim.

Whitaker (1994) menyatakan bahwa sisi aktif protein akan mengalami perubahan konformasi apabila terkena pengaruh suhu lingkungan yang ekstrim sehingga bentuk sisi aktif tidak sesuai lagi dengan bentuk substratnya.

Tabel 3. Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Berbagai Suhu

Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Rerata aktivitas ( $\times 10^{-2}$ $\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )
30	60.79 c
35	61.68 c
40	63.94 d
45	61.23 c
50	62.01 c
55	55.46 c
60	53.96 b
65	35.17 a
70	33.13 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

### Konsentrasi Subtrat Optimum Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo

Tabel 4. Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Berbagai Konsentrasi Subtrat

Konsentrasi Subtrat (%)	Rerata aktivitas ( $\times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )
0.2	41.32 a
0.4	48.64 b
0.6	61.54 c
0.8	63.49 d
1.0	62.65 d
1.2	63.10 d
1.4	62.76 d
1.6	60.23 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi kasein 0.8 % merupakan konsentrasi substrat optimal yang menghasilkan aktivitas enzim protease maksimal, yaitu sebesar  $63.49 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . Data aktivitas enzim protease pada konsentrasi substrat kasein yang berbeda disajikan pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 diketahui bahwa peningkatan konsentrasi substrat 0.8 % tidak dapat meningkatkan aktivitas enzim protease kulit buah melinjo. Bahkan apabila konsentrasi substrat ditingkatkan lebih dari 1.4 % maka aktivitas enzimnya cenderung menurun.

Konsentrasi substrat sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Pada konsentrasi substrat yang rendah banyak sisi aktif yang tidak berikatan dengan substrat sehingga aktivitas enzim menjadi rendah. Sebaliknya, peningkatan konsentrasi substrat sampai batas tertentu menyebabkan semua sisi aktif enzim mempunyai peluang yang besar untuk mengikat substrat dan merubahnya menjadi produk. Apabila semua sisi aktif dari enzim sudah berikatan dengan substrat maka peningkatan konsentrasi lebih lanjut tidak meningkatkan aktivitas enzim protease.

### Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Beberapa Senyawa Peng-identifikasi

Tabel 5 menyajikan data aktivitas enzim protease kulit buah melinjo akibat pengaruh penambahan beberapa senyawa pengidentifikasi. Aktivitas enzim protease kulit buah melinjo tertinggi adalah aktivitas enzim protease dengan penambahan senyawa pengidentifikasi HCN sebesar  $64.26 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . Angka ini tidak berbeda dengan aktivitas enzim protease dengan penambahan senyawa pengidentifikasi EDTA. Hal ini menunjukkan bahwa jenis enzim pada kulit buah melinjo termasuk jenis enzim sulfidril. Enzim jenis sulfidril mudah teroksidasi. Penambahan senyawa pengidentifikasi HCN dapat mengaktifkan gugus sulfidril sehingga meningkatkan aktivitas enzimnya. Demikian juga penambahan EDTA akan mengikat logam yang ada di dalam substrat dan mengakibatkan peningkatan aktivitas enzim protease (Suhartono, 1995).

Tabel 5. Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Berbagai Senyawa Pengidentifikasi

Senyawa Pengidentifikasi	Rerata aktivitas (x 10 <sup>-2</sup> μmol tir.ml <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
EDTA	63.65 d
DFP	60.45 b
MgCl <sub>2</sub>	52.86 a
HCN	64.26 d
Kontrol	61.57 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

#### Stabilitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo Akibat Pengaruh Pemanasan

Tabel 6. Aktivitas Enzim Protease Kulit Buah Melinjo pada Berbagai Perlakuan Pemanasan

Pemanasan Pada Suhu (°C)	Rerata aktivitas (x 10 <sup>-2</sup> μmol tir.ml <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
35	60.34 d
40	60.02 d
45	59.53 cd
50	59.84 cd
55	58.98 c
60	48.42 c
65	29.43 b
70	30.72 b
75	23.16 a
Kontrol	59.93 d

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (5 %)

Pengujian stabilitas enzim terhadap panas dilakukan dengan memanaskan enzim sebelum direaksikan dengan substrat perlakuan dan selanjutnya diukur aktivitas enzimnya. Tabel 6 menunjukkan bahwa enzim protease kulit buah

melinjo memiliki stabilitas cukup tinggi terhadap panas.

Dari Tabel 6 terlihat bahwa aktivitas enzim menunjukkan penurunan setelah perlakuan panas pada suhu 50 °C yaitu sebesar 59.84 x 10<sup>-2</sup>

$\mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . Menurut Whitaker (1994), panas dapat menyebabkan terjadinya perubahan konformasi atau kerusakan pada protein enzim. Stabilitas enzim terhadap panas tergantung kepada kemampuan protein enzim untuk aktif kembali setelah mengalami perubahan konformasi maupun kerusakan ringan akibat perlakuan panas. Enzim mempunyai ketahanan terhadap panas yang bervariasi. Semakin tinggi ketahanan enzim terhadap panas maka semakin mudah proses ekstraksi maupun penanganannya.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Metode ekstraksi yang tepat untuk mengekstraksi enzim protease dari kulit buah melinjo adalah dengan metode salting out menggunakan garam ammonium dengan kejenuhan 50 %. Enzim protease yang diekstraksi dengan metode tersebut memiliki aktivitas sebesar  $62.15 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$  dan rendemen sebesar 1.52 %.
2. Derajat keasaman (pH) optimum untuk aktivitas enzim protease kulit buah melinjo adalah 6.5 dengan aktivitas enzim sebesar  $60.33 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ . Oleh karenanya, enzim kulit buah melinjo tergolong jenis enzim protease netral.
3. Suhu optimum untuk aktivitas enzim protease kulit buah melinjo adalah  $40^{\circ}\text{C}$  dengan aktivitas enzim pada suhu tersebut sebesar  $63.94 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .
4. Konsentrasi substrat kasein untuk aktivitas protease kulit buah melinjo adalah 0.8 % dengan aktivitas enzim sebesar  $63.49 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .
5. Berdasarkan sisi aktifnya, enzim protease kulit buah melinjo adalah jenis enzim jenis sulfidril yang dapat diaktifkan dengan HCN. Aktivitas enzim dengan penambahan HCN sebesar  $64.26 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .
6. Enzim protease kulit buah melinjo mempunyai stabilitas tinggi terhadap panas. Aktivitas enzim masih stabil pada pemanasan sampai suhu  $50^{\circ}\text{C}$  dengan

aktivitasnya sebesar  $59.84 \times 10^{-2} \mu\text{mol tir.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$ .

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, utamanya untuk mengetahui sifat-sifat internal enzim kulit buah melinjo, antara lain berat molekul enzim, jenis-jenis asam amino penyusunnya yang bermanfaat bagi pengembangan enzim protease kulit buah melinjo ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abe, H., Asakura, T., Watanabe, H, and Arai. 1997. Oryzasin as an Aspartic Proteanase Occuring in Rice Seeds : Purification, Characterisation an Application to Milk Clitting. J. Agric. Food Chem., 45 (4), 1070 – 1075.
- Chairunnisa, H. 1988. Isolasi Enzim Bromelin Kasar dari Bonggol Nenas. Simposium Bioproses dalam Industri Pangan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Chinas, F.A.I and Canales, A.L.M. 1986. Proteolytic Enzym from Cnidosculus chayamansa “chaya”. J. Food Sci., 51 (1), 243 – 244.
- Diaz, C.P. 2007. *Gnetum gnemon* and Its Prospect in Agroforestry. Google. 25 Pebruari 2007.
- Indarto, C. 2006. Aktivitas Protease Kulit Buah Belinjo (*Gnetum gnemon*). Agrountek. 1 (I), 34 – 39.
- Noda, K.,, Koyanagi, M and Kayami, C. 1994. Purification and Characterisation of an Endoprotease from Melon Fruit. J. Food Sci., 59 (3), 585 – 587.
- Sanogo, T. Paquet and Linden. 1990. Proteolysis Casein by Papain in a Complex Environment Influence of Ionic Strenth on The Reaction Product. J. Food Sci., 55 (3), 796 – 800.



Schwimmer, S. 1981. Source Book of Food Enzymology. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, USA.

Suhartono, M.T. 1992. Protease. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor.

Whitaker, J.R. 1994. Principle of Enzymology for The Food Science. Second Edition. Marcel Decker. New York.



