Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
Repository University of Riau
https://repository.unri.ac.id
© Hak cipta milik Universitas Riau

PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM LAKASE *T. asperellum* LBKURCC1 YANG TELAH DIFRAKSINASI SECARA PARSIAL MENGGUNAKAN AMONIUM SULFAT

Lisna Amalita[1*], Andi Dahliaty[2]

[1]Mahasiswa Program S1 Kimia

[2]Dosen Bidang Biokimia Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Kampus Binawidya, Pekanbaru, 28293, Indonesia

**lisna.amalita0868@student.unri.ac.id*

ABSTRACT

Laccase are extracellular enzymes containing metal ions which used oxygen compounds to catalyze the oxidations process of various aromatic and nonaromatic compounds. The purpose of the study was to purify and determining laccase spesific activity from the isolate fungus *T. asperellum* LBKURCC1. Laccase enzymes purification process was carried out by teo steps, that was fractionation with ultrafiltraton membranes 10.000 MWCO (*Molecular Weight Cut Of*) and saturated with the addition of ammonium sulfate salts with saturation variations of 0-20%, 20-40%, 40-60% and 60-80%. Based on this research, the results obtained were the activity of crude extract laccase of 0,01955 U/L, and highest enzymes activity was the enzyme purified by ammonium sulfat salt 0-20% saturation fraction of 0,03055 U/L. Specific activity of crude extract laccase enzyme was obtained at 4,4353 U/mg and the specific activity of purified enzymes decreased 2,1962 U/mg with a yield of 157,1296%. The results showed that enzymes in the saturation fraction of 0-20% ammonium sulfate was high activity and purity.

Keywords: amonium sulfate, spesific activity, purification .

ABSTRAK

Lakase merupakan enzim ekstraseluler yang mengandung ion logam yang menggunakan senyawa oksigen untuk menjalankan proses oksidasi berbagai senyawa aromatik dan nonaromatik. Tujuan dari penelitian ini adalah memurnikan dan menentukan aktivitas spesifik lakase dari jamur isolat *T. asperellum* LBKURCC1. Proses pemurnian enzim lakase dilakukan

dengan dua tahapan, yaitu fraksinasi dengan membran ultrafiltrasi 10.000 MWCO (*Molecular Weight Cut Of*) dan pengendapan dengan penambahan garam amonium sulfat secara bertingkat dengan fraksi kejenuhan 0-20%, 20-40%, 40-60%, dan 60-80%. Berdasarkan penelitian ini diperoleh hasil aktivitas ekstrak kasar enzim lakase sebesar 0,01944 U/mL, dan aktivitas enzim yang tertinggi yaitu enzim hasil pemurnian dengan garam amonium sulfat fraksi kejenuhan 0-20% sebesar 0,03055 U/mL. Aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim lakase diperoleh sebesar 4,4353 U/mg dan aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian menurun menjadi 2,1962 U/mg dengan *yield* 157,1296 %. Dapat disimpulkan bahwa enzim pada fraksi kejenuhan amonium sulfat 0-20% memiliki aktivitas dan tingkat kemurnian yang tinggi.

Kata Kunci : amonium sulfat, aktivitas spesifik, pemurnian.

PENDAHULUAN

Saat ini, banyak penelitian tentang enzim yang menjadi perhatian karena erat kaitannya dengan pengembangan industri, khususnya industri deterjen, sirup gula cair dari pati, sintesis senyawa organik, pulp dan kertas, pakan ternak, dan penanganan pembuangan limbah industri. Hingga saat ini sebagian besar enzim yang digunakan dalam industri di Indonesia masih diimpor. Keadaaan ini sangat merugikan apabila ditinjau secara ekonomi, padahal Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber alam hayati, terutama mikroba penghasil enzim, termasuk lakase. Enzim lakase merupakan enzim *multicopper* yang mengkatalisis proses oksidasi dari berbagai jenis senyawa organik dan anorganik seperti senyawa mono, di- dan polifenol, aminfenol, metoksifenol, fenol tersubstitusi, diamin, amin aromatik dan asam askorbat (Mayer & Staples, 2002).

Salah satu jamur yang dapat menghasilkan enzim lakase adalah jamur *Trichoderma asperellum*. *T. asperellum* merupakan salah satu agen pengendali hayati yang aktif dan menghasilkan enzim lakase dengan menggunakan residu tanaman sebagai substrat (Waluyo, 2004). Enzim lakase yang di produksi oleh T.asperellum LBKURCC1 merupakan enzim ekstraseluler yang disekresikan oleh miselium jamur ke dalam media fermentasi (Suwahyono & Wahyudi, 2005). Ketersediaan enzim lakase di Indonesia masih belum mencukupi kebutuhan industri, sementara pemakaian enzim lakase di berbagai bidang industri semakin meningkat. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan teknik produksi, pemurnian dan teknik untuk meningkatkan

Repository University of Riau
http://repository.unri.ac.id
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
© Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

aktivitas enzim, sehingga dapat memenuhi tuntutan industri agar tidak bergantung pada sumber dari luar negri (Yandri *et al*, 2007).

Suatu enzim yang digunakan dalam bidang industri harus memiliki nilai aktivitas yang baik dan memiliki tingkat kemurnian yang tinggi. Salah satu cara yang dapat meningkatkan aktivitas enzim tersebut adalah dengan teknik pemurnian dan teknik pemisahan dengan menggunakan membran ultrafiltrasi. Pemurnian enzim merupakan suatu proses pemisahan enzim yang diinginkan dari senyawa lain yang mengganggu (Wardani & Ahsanatun, 2012). Sedangkan membran ultrafiltrasi merupakan metode pemisahan berdasarkan berat molekul atau ukuran partikel protein. Proses pemurnian enzim dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain, kelarutan protein karena pengaruh pH (pengendapan isoelektrik), polaritas (pengendapan dengan etanol atau aseton), atau fraksinasi dengan mengatur konsentrasi garam amonium sulfat (Su'i, 2013).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak kasar enzim lakase yang merupakan ekstrak kasar enzim yang telah diproduksi dengan fermentasi padat menggunakan substrat jerami padi. Enzim lakase yang telah di produksi oleh peneliti sebelumnya telah di pisahkan menggunakan kertas saring *whatman* untuk memisahkan enzim dari sisa-sisa molekul atau zat pengganggu dari media pertumbuhan. Namun, enzim lakase masih berwarna kecoklatan, hal ini dikarenakan enzim kemungkinan masih mengandung lignin, tanin, hemiselulosa dan senyawa lain selain protein target yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim lakase.

Pada penelitian ini dilakukan proses pemurnian enzim lakase dengan menggunakan garam amonium sulfat. Keuntungan menggunakan metode pemurnian dengan penambahan garam amonium sulfat dibandingkan metode lain yaitu karena garam amonium sulfat memiliki daya pengendapan protein yang tinggi, memiliki daya larut yang tinggi didalam air, relatif tidak mahal, dan kestabilan protein di dalam larutan amonium sulfat (2M-3M) akan tahan bertahun-tahun (Scopes, 1993). Tingkat kemurnian enzim akan dapat diketahui dari aktivitas spesifiknya. Semakin besar aktivitas spesifiknya, maka semakin tinggi tingkat kemurnian enzim tersebut. Maka diharapkan pada penelitian ini aktivitas spesifik dari enzim menunjukkan hasil yang lebih baik.

Repository University Riau
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
https://repository.unri.ac.id
Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet mikro (*Socorex Acura* 825), *hotplate*, timbangan analitik (KERN ABJ-NM/ABS-N), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis), *vortex* (HVM-300), tip, *centrifuge* (PLC *series*), membran ultrafiltrasi 50.000 MWCO (Corning Spin-X UF) dan alat-alat gelas yang biasa digunakan dilaboratorium.

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ektrak kasar enzim dari isolat *T. asperellum* LBKURCC1, aluminium foil, ABTS (*2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazolone-6-sulfonic acid*) (TCI A5200), aqua DM, garam dapur, es batu, amonium sulfat $(NH_4)_2SO_4$ (*Merk Cat*. No. 1.04873.1000), larutan bufer asetat 0,05 M pH 5,5, Na_2CO_3, NaOH, $CuSO_4.5H_2O$ (Merk. Cat. No. 1.02790.0250), Na-K-Tartarat, reagen *Folin-Ciocalteu*, BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan bahan kimia lain yang digunakan sesuai cara kerja.

b. Fraksinasi secara bertingkat dengan menggunakan Garam Amonium Sulfat.

Tahapan awal pemurnian enzim adalah pengendapan garam dengan berbagai variasi kejenuhan garam amonium sulfat secara bertingkat dengan fraksi kejenuhan 0-20%, 20-40-%, 40-60%, 60-80%. Ekstrak kasar enzim lakase yang diperoleh dari jamur *T. asperellum* LBKURCC1 sebanyak 50 mL ditambahkan garam amonium sedikit demi sedikit dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu dingin selama 1 jam. Setelah semua garam amonium sulfat larut, larutan kemudian didiamkan selama semalaman didalam kulkas pada suhu ± 4ºC. Setelah didiamkan, larutan disentrifugasi dingin pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4ºC, sehingga diperoleh endapan dan supernatan. Supernatan yang didapatkan digunakan untuk fraksionasi selanjutnya.

c. Fraksinasi Enzim dengan Membran Ultrafiltrasi.

Endapan yang telah didapatkan dari hasil pemurnian kemudian dipisahkan dari sisa-sisa garam dan molekul lainnya dengan teknik diafiltrasi menggunakan ultrafiltrasi 10.000 MWCO (*Molecular Weight Cut Of*). Endapan dilarutkan dalam 1 mL bufer asetat 0,05 M pH 5,5 dan dimasukkan ke tabung ultrafiltrasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 9000 rpm selama 10 menit pada suhu dingin, pencucian enzim dilakukan hingga didapatkan enzim yang berwarna bening.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
Repository University of Riau
https://repository.unri.ac.id
Hak cipta milik Universitas Riau

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
Repository University of Riau
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
https://repository.unri.ac.id
© Hak cipta milik Universitas Riau

d. Uji Aktivitas Enzim Lakase.

Penentuan aktivitas enzim lakase di ukur menggunakan spektrofotomer UV/Vis pada panjang gelombang 420 nm dengan substrat yang digunakan adalah ABTS (*2,2'-azinobis-3-etilbenzothiazoline-6-asam sulfonat*). Larutan bufer asetat 0,5 M pH 5,5 sebanyak 800 µL dan larutan ABTS (*2,2'-azinobis-3-etilbenzothiazoline-6-asam sulfonat*) 50 mM sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian ditambahkan enzim sebanyak 100 µL dihomogenkan lalu diukur absorbansinya pada interval waktu 0 menit, 5 menit dan 10 menit. Adapun sebagai kontrol, larutan bufer asetat 0,05 M pH 5,5 sebanyak 900 µL dan larutan ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzothiazoline-6-asam sulfonat) 50 mM sebanyak 100 µL dimasukkan kedalam kuvet. Campuran tersebut dihomogenkan dan diukur absorbansiya dengan cara dan pada interval waktu yang sama. Satu unit (U) aktivitas enzim dinyatakan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mengkatalisis 1 µmol substrat per menit. Rumus untuk menentukan aktivitas enzim adalah sebagai berikut :

$$AE = \frac{(A_t \text{ sampel} - A_0 \text{ sampel}) - (A_t \text{ kontrol} - A_0 \text{ kontrol}) \times V_{tot}}{\varepsilon_{maks} \times d \times V_{enzim} \times t}$$

Keterangan :

AE : Aktivitas enzim

A_t : Absorbansi pada menit tertentu

A_0 : Absorbansi pada menit ke-0

ε_{maks} : Absortivitas molar ABTS pada 420 nm (36.000 M^{-1} cm^{-1})

d : Tebal kuvet (cm)

V_{tot} : Volume total uji

V_{enzim} : Volume enzim yang ditambahkan

t : Waktu inkubasi (menit)

e. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.

Ekstrak kasar enzim dan enzim yang telah dipekatkan kemudian dianalisis kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry. Larutan yang digunakan adalah *Bovin Serum Albumin* (BSA). Sedangkan pereaksi yang digunakan adalah reagen A, B, C dan reagen Folin-Ciocalteau. Reagen A dibuat dengan melarutkan Na_2CO_3 2% (v/v) dalam NaOH 0,1 N. Reagen B dibuat dengan melarutkan $CuSO_4.5H_2O$ 0,5 % (v/v) dalam Na-K-Tartarat 1 % (v/v). Reagen C terdiri dari campuran reagen A dan reagen B dengan perbandingan 50:1.

Larutan sampel sebanyak 0,5 mL dipipet dan ditambahkan reagen C sebanyak 2,5 mL. Campuran divorteks dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Campuran tersebut ditambahkan reagen Folin-

Ciocalteau sebanyak 0,25 mL kemudian divorteks dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan sampel diukur pada panjang gelombang 700 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap larutan protein standar yaitu *Bovin Serum Albumin* (BSA) dengan variasi konsentrasi. Kadar protein ditentukan untuk mengetahui aktivitas spesifik dari lakase yaitu dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Aktivitas spesifik} = \frac{aktivitas\ enzim\ (U)}{kadar\ protein\ total\ (mg)}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kasar enzim lakase yang digunakan pada penelitian ini merupakan esktrak kasar enzim yang diperoleh dari hasil fermentasi padat dengan menggunakan jerami padi sebagai substrat. Ekstrak kasar enzim yang diperoleh sebelumnya telah dipisahkan dengan menggunakan kertas saring *whatman* untuk memisahkan enzim dari zat-zat pengganggu yang terdapat pada media pertumbuhan. Namun, setelah dipisahkan enzim masih berwarna kecoklatan yang kemungkinan masih terdapat lignin, tanin dan hemiselulosa yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Pada penelitian ini proses pemurnian dilakukan untuk menghilangkan warna kecoklatan yang terdapat pada enzim dan untuk memisahkan enzim dari senyawa lain yang tidak diinginkan.

Pemurnian enzim dilakukan dengan metode pengendapan dengan penambahan garam amonium pada fraksi kejenuhan 0-20%, 20-40%, 40-60% dan 60-80%. Prinsip pengendapan enzim dengan garam amonium sulfat adalah *salting out*. Molekul air yang berikatan dengan garam-garam semakin yang menyebabkan penarikan selubung air yang mengelilingi permukaan protein. Peristiwa ini mnyebabkan protein saling berinteraksi, beragregasi kemudian mengendap (Harris, 1989). Penambahan garam dilakukan secara bertingkat bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan garam dengan konsentrasi yang bervariasi. Penambahan garam yang bervariasi juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim.

Tabel 1. Uji aktivitas dan aktivitas spesifik.

Tahapan Pemurnian	Volume (mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Tingkat Kemurnian	Yield (%)
Ekstrak kasar enzim	50	0,019	0,146	4,435	1	100
Amonium sulfat 0-20%	1,5	0,030	0,463	2,196	0,495	157,129

RepositoryUniversity of Riau
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
http://repository.unri.ac.id
©Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Proses pengendapan protein dengan penambahan garam ke dalam larutan enzim merupakan cara yang banyak dilakukan. Hal ini dikarenakan, garam amonium sulfat memiliki beberapa kelebihan dibandingkan garam-garam yang lain, yaitu mempunyai kelarutan yang tinggi, tidak mempengaruhi aktivitas enzim, mempunyai daya pengendapan yang efektif, mempunyai efek penstabil terhadap kebanyakan enzim, dapat digunakan pada berbagai pH dan harganya murah (Mayasari, 2016). Penambahan garam amonium sulfat dilakukan sedikit demi sedikit disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* untuk mempercepat kelarutan amonium sulfat dan menghomogenkan amonium sulfat ke seluruh bagian ekstrak kasar enzim. Proses pengadukan dilakukan secara perlahan-lahan untuk menghindari terbentuknya buih, karena pembentukan buih ini merupakan indikasi enzim terdenaturasi.

Enzim yang telah didiamkan selama semalaman, disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 9.000 rpm. Sentrifugasi merupakan metode pemisahan berdasarkan perbedaan densitas masing-masing komponen terhadap gaya sentrfiugal (Budiman, 2009). Setelah proses sentrifugasi maka akan diperoleh endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh disimpan didalam kulkas pada suhu ± 4ºC dan ditutup rapat dengan aluminium foil agar enzim tidak mudah rusak. Endapan kemudian ditambahkan dengan larutan bufer asetat 0,05 M pH 5,5. Penggunaan larutan buffer bertujuan untuk melarutkan protein dan menjaga kestabilan pH enzim, karena perubahan pH dapat mempengaruhi aktivitas enzim dan pH yang ekstrim dapat merusak enzim. Protein memiliki sifat *zwitter ion*, artinya dapat bersifat asam pada larutan basa dan dapat bersifat basa pada larutan asam. Maka penggunaan larutan bufer dengan pH tertentu juga akan mempengaruhi terhadap nilai aktivitas enzim.

Proses pemurnian selanjutnya adalah teknik diafiltrasi yang bertujuan untuk memisahkan sisa-sisa garam yang masih tertinggal. Diafiltasi dilakukan dengan penambahan larutan bufer ke dalam larutan protein. Penambahan bufer dilakukan hingga larutan berwarna bening. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan membran ultrafiltrasi 10.000 MWCO. Ultrafiltrasi merupakan teknik pemisahan protein yang dapat memisahkan fraksi protein sesuai dengan ukuran molekunya yaitu 1-300 kDa. Tabung ultrafiltrasi dibagi menjadi dua bagian. Protein yang memiliki ukuran partikel lebih besar dari 10.000 kDa akan tertahan diatas membran, sedangkan yang

Repository University Riau
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
https://repository.unri.ac.id
Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

bukan protein seperti garam yang memiliki ukuran partikel lebih kecil dari 10.000 kDa akan keluar dari membran.

Pada **Tabel 1** dapat dilihat bahwa penambahan garam amonium sulfat ke dalam larutan enzim dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Aktivitas enzim ekstrak kasar sebesar 0,019 U/mL, sedangkan untuk enzim hasil pemurnian yaitu fraksi kejenuhan 0-20% aktivitasnya meningkat. Hal ini dikarenakan proses pengendapan protein dapat dipengaruhi oleh muatan yang terdapat pada garam amonium sulfat. Pada penambahan garam dengan konsentrasi rendah, artinya muatan protein dengan muatan garam yang ditambahkan cocok sehingga protein mengendap. Garcia *et al* (2013) melakukan sebuah penelitian tentang analisis struktutal dan filogenik dari lakase yang mengemukakan bahwa enzim lakase yang diproduksi oleh jamur *T. asperellum* memiliki dua gen yang memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa adanya dua gen lakase didalam protein (enzim) juga dapat mempengaruhi terhadap nilai aktivitas enzim.

Semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat maka pengendapan protein semakin baik namun pengendapan dengan amonium sulfat terdapat titik kejenuhannya. Menurut *Soares et al* (2010) pengendapan protein enzim bromelin dengan amonium sulfat dari ekstrak kasar daging buah paling baik pada konsentrasi 40%, namun jika sudah berada pada konsentrasi 60-100% maka pengendapannya semakin berkurang dikarenakan larutan telah mengalami titik kejenuhan.

Pada penelitian ini, penentuan kadar protein menggunakan metode Lowry. Metode ini merupakan salah satu metode pilihan untuk memnentukan kadar protein dalam suatu bahan. Dalam keadaan basa, ion tembaga divalen (Cu^{2+}) membentuk suatu kompleks dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen Cu^{+}. Ion Cu^{+} dan gugus radikal dari tirosin, triptofan, dan sistein bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteau membentuk senyawa kompleks yang berwarna. Pembentukan warna tersebut disebabkan karena adanya reaksi antara basa tembaga dengan sampel proteinyang diuji. Intensitas warna yang terbentuk tergantung pada jumlah asam aromatik yang berbeda untuk setiap jenis protein (Bintang, 2010). Kadar protein dari ekstrak kasar enzim lakase adalah 0,146 mg/mL yang (**Tabel 1**). Kadar protein dari enzim hasil ultrafiltrasi pada fraksi kejenuhan 0-20% meningkat menjadi 0,463 mg/mL. Hal ini dikarenakan

Repository University of Riau
https://repository.unri.ac.id
Hak Cipta Dindungi Undang-Undang
Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

pada proses pemisahan dengan membran ultrafiltrasi menyebabkan enzim dan garam terpisah dari senyawa pengganggu seperti tanin, lignin, hemiselulosa dan senyawa lain selain protein target.

Aktivitas spesifik adalah jumlah unit enzim permiligram protein. Aktivitas spesifik enzim lakase digunakan untuk mengukur aktivitas lakase spesifik pada protein enzim. Aktivitas spesifik enzim dapat ditentukan dengan membagi aktivitas enzim dengan kadar proteinnya (Lehninger, 1997). Aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim yaitu 4,435 U/mg. Yield merupakan perbandingan anatara aktivitas total enzim pada saat pemurnian dibagi dengan aktivitas total ekstrak kasar enzim dikali 100 %. Sedangkan kemurnian enzim merupakan aktivitas spesifik pada saat pemurnian dibagi dengan aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim.

Aktivitas spesifik dipengaruhi oleh kadar protein, semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim maka akan semakin tinggi tingkat kemurnian enzim tersebut (Triana, 2013). Namun pada penelitian ini aktivitas spesifik enzim tertinggi yaitu enzim hasil pemurnian dengan garam amonium sulfat pada fraksi kejenuhan 0-20% yaitu 2,1962 U/mg dengan tingkat kemurnian 0,4951 kali dan *yield* 157,1296 %. Hal ini dikarenakan pada proses pengendapan enzim lakase juga ikut terendapkan atau terdenaturasi serta terganggu karena garam yang tersisa pada proses pemisahan dengan membran ultrafiltrasi.

KESIMPULAN

Ekstrak kasar enzim lakase isolat *T. asperellum* LBKURCC1 telah dimurnikan dengan metode pengendapan protein menggunakan garam amonium sulfat. Aktivitas enzim hasil pemurnian pada fraksi kejenuhan 0-20% dengan kadar protein 0,463 mg/mL. Aktivitas spesifik enzim lakase hasil pemurnian sebesar 2,196 U/mg dengan tingkat kemurnian 0,495 kali dan *yield* 157,129 %. Dapat disimpulkan bahwa enzim lakase memiliki aktivitas spesifik dan tingkat kemurnian tertinggi pada fraksi kejenuhan 0-20% .

DAFTAR PUSTAKA

Bintang, M. 2010. Teknik Penelitian Biokimia Departemen Biokimia, Faultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Bogor : Indonesia.

Budiman, A. 2009. Metode sentrifugasi untuk pemisahan biodisel dalam proses pencucian. *Journal of Industrial Research*, 3(3), pp. 173-178.

RepositoryUniversity di Riau
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
http://repository.unri.ac.id
Hak Cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

García, et al. 2013. Structural and phylogenetic analysis of laccases from Trichoderma : a bioinformatic approach. *Plos one*, 8(1), pp. 1-13.

Harris, E. L. V. 1989. Concentration of the Extract, di dalam Harris, E. L. V., & Angal, S. Editor Protein Purification methods, A Pratical Approach.

Lehninger, A. L. 1997. *Biochemistry*, New York : Worth Publisher Inc.

Mayasari, 2016. Pemurnian Enzim Amilase Kasar dari Bakteri Amilolitik Endogenus Bekatul secara Parsial menggunakan Ammonium Sulfat. *Skripsi*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.

Mayer, A. M., & Staples, R. C. 2002. Laccase : New Function for and Old Enzyme. *Phytochemistry*, 60(6), pp. 551-565.

Scopes, R. K. 1993. *Protein Purification Principle and Practice Third Edition*. New York : Springer Science + Business Media.

Soares, et al. 2010. Studies on Bromelain Precipitation by Ethanol, Poly (Ethylene Glycol) and Ammonium Sulphate. Brazil : Universidade de São Paulo. http://www.method-of-bromelain-extraction.pdf. Diakses 19 Mei 2013.

Suwahyono, U., & Wahyudi, P. 2005. Penggunaan Biofungisida pada Usaha Perkebunan. Direktorat Tekhnologi Bioindustri – BPPTP. http://www.iptek.net.id/ind/terapan.a. Diakses pada tanggal 15 juni 2019.

Su'i, M., & Suprihana, S. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode *Salting Out*. *agri TECH*, 33(4), pp. 377-383.

Waluyo, 2004. *Mikrobiologi Umum 1st Ed*. Malang : UMM Press.

Wardani, A., & Ashanatun, S. 2012. *Purifikasi dan Strategi Enzim*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.

Yandri, et al. 2007. Isolasi,Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Protease Termostabil dari Bakteri Isolat Lokal Bacillus subtilis ITBCCB148. *J. Sains MIPA*. 13(2), pp. 100-106.

Repository University of Riau
https://repository.unri.ac.id
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
© Hak cipta milik Universitas Riau
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Repository University of Riau https://repository.unri.ac.id ©Hak cipta milik Universitas Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
   a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
   b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.