

PENENTUAN LAJU REAKSI MAKSIMAL (V_{maks}) DAN KONSTANTA MICHAELIS-MENTEN (K_M) ENZIM LIPASE PANKREAS PADA SUBSTRAT MINYAK KELAPA, MINYAK SAWIT, DAN MINYAK ZAITUN

Ketut Ratnayani, A. A. I. A. Mayun Laksmiwati, dan Maman Sudiarto

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

Email : ketut_ratnayani@unud.ac.id

ABSTRAK

Unsur utama di dalam persamaan Michaelis-Menten adalah K_m , yang bersifat khas bagi enzim tertentu, dengan substrat spesifik pada kondisi pH dan suhu tertentu. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan nilai laju reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_m) lipase pankreas pada substrat minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun dan untuk mengetahui pada substrat mana lipase pankreas paling efektif menghidrolisis lemak. Nilai K_m dihitung dengan mengukur laju reaksi yang dikatalisis oleh lipase dalam berbagai konsentrasi minyak dengan pH, temperatur, dan waktu inkubasi optimum. Sebelum menentukan nilai V_{maks} dan K_m , dilakukan penghitungan laju reaksi awal (v_0) dengan metode titrimetri.

Hasil penelitian menunjukkan lipase pankreas memiliki nilai V_{maks} sebesar $2,11 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak kelapa; $2,30 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak sawit; dan $1,60 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak zaitun. Nilai K_m lipase pankreas yang diperoleh sebesar $1,21 \times 10^4$ ppm pada minyak kelapa; $2,29 \times 10^4$ ppm pada minyak sawit; dan $1,60 \times 10^4$ ppm pada minyak zaitun. Hal ini menunjukkan bahwa lipase pankreas lebih efektif mengkatalis reaksi hidrolisis pada minyak kelapa dibandingkan dengan minyak sawit dan minyak zaitun karena memiliki nilai K_m yang paling rendah.

Kata kunci : lipase pankreas, minyak kelapa, minyak sawit, minyak zaitun

ABSTRACT

A main element in the Michaelis-Menten equation is K_m , which is typical for a particular enzyme, with a specific substrate at a certain pH and temperature conditions. The aim of this study is determining the difference in the maximum rates (V_{max}) and Michaelis-Menten constant (K_m) of pancreatic lipase on the coconut oil, palm oil, and olive oil substrates and the most effective hydrolysis by the pancreatic lipases. K_m value was calculated by measuring the rate of the catalyzed hydrolysis with various concentrations of pH, temperature, and the optimum incubation time. Before calculating the value of V_{max} and K_m , the initial rate (v_0) was calculated with the titrimetric method.

The results showed that V_{max} was $2,11 \times 10^{-3}$ mmol/min on coconut oil substrate; $2,30 \times 10^{-3}$ mmol/min on palm oil substrates; and $1,60 \times 10^{-3}$ mmol/minutes on olive oil substrate. While the pancreatic lipase K_m values were $1,21 \times 10^4$ ppm on coconut oil; $2,29 \times 10^4$ ppm on palm oil; and $1,60 \times 10^4$ ppm on the olive oil. This results suggested the pancreatic lipase catalyzed the hydrolysis was most effective on coconut oil compared with palm oil and olive oil.

Keywords : pancreatic lipase, coconut oil, palm oil, olive oil.

PENDAHULUAN

Tubuh manusia merupakan salah satu jaringan terumit yang ada di dunia, karena di

dalam tubuh manusia terdapat organ, jutaan saraf, serta elemen penting lainnya. Dalam tubuh manusia juga terjadi banyak reaksi kimia, dimana reaksi-reaksi kimia tersebut terkadang tidak

berlangsung optimal. Ada beberapa hal yang dapat membantu mengoptimalkan reaksi-reaksi kimia tersebut, salah satunya adalah keberadaan katalisator. Katalisator tersebut tidak ikut bereaksi namun mampu mempercepat suatu reaksi. Salah satu katalisator yang terdapat di tubuh manusia adalah enzim (Kristanti, 2001).

Lipase merupakan kelompok enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis triasilgliserol menjadi diasilgliserol, monoasilgliserol, dan asam lemak bebas. Selain lipase terdapat enzim esterase yang juga bekerja dalam hidrolisis lemak dan minyak. Keduanya terlibat baik dalam proses metabolisme lemak maupun penguraian dan kerusakan lemak. Perbedaan antara lipase dan esterase terletak terutama pada keadaan larutan dari substratnya. Lipase lebih aktif dalam keadaan emulsi minyak dalam air, sedangkan esterase aktif baik pada larutan maupun pada emulsi dengan kecepatan yang sama (Nasution, 2001).

Salah satu hal yang diperlukan agar reaksi enzimatik dapat berjalan efisien ialah dengan memperkirakan jumlah substrat yang diperlukan. Unsur kunci di dalam persamaan Michaelis-Menten adalah K_m , yang bersifat khas bagi enzim tertentu, dengan substrat spesifik pada kondisi pH dan suhu tertentu. Nilai K_m (Konstanta Michaelis-Menten) dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah substrat. Dengan mengetahui nilai K_m dan V_{maks} suatu enzim, maka dapat dilakukan optimalisasi penggunaan enzim tersebut sebagai biokatalisator dalam reaksi pemecahan substrat menjadi produk. Nilai K_m dihitung dengan mengukur kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh lipase dalam berbagai konsentrasi minyak dengan pH, temperatur, dan waktu inkubasi optimum (Anonim, 2011).

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan nilai kecepatan reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_m) lipase pankreas pada substrat minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun sehingga dapat ditentukan nilai K_m enzim lipase pankreas pada masing-masing substrat tersebut. Berdasarkan nilai K_m tersebut, maka kita dapat mengetahui pada substrat mana lipase pankreas lebih efektif menghidrolisis lemak.

Besarnya kecepatan reaksi awal (v_0) dari emulsi minyak ditentukan dengan metode titrasi asam basa. Jumlah asam lemak yang dilepaskan

akan dititrasi oleh NaOH, sehingga konsentrasi NaOH sebanding dengan konsentrasi asam lemak yang dihasilkan oleh aktivitas lipase. NaOH akan menetralkan asam lemak bebas (RCOOH) yang terdapat pada lipase (Maryanty, 2010).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan kimia yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi: natrium hidroksida, asam oksalat, natrium karbonat, etanol, indikator phenolphthalein, dan akuades, dan emulsi minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun, suspensi ekstrak pankreas yang dibuat dari tablet pencernaan (merk Pankreoflat) sebagai sumber enzim lipase..

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat titrasi yang terdiri dari buret, klem, statif, erlenmeyer, dan corong; seperangkat alat gelas yang terdiri dari tabung reaksi, gelas beker, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, batang pengaduk, pipet ukur, dan pipet tetes; penangas air bersuhu 34°C; lumpang dan alu; serta neraca analitik.

Cara Kerja

Pembuatan emulsi minyak

Tambahkan 1 mL substrat minyak ke dalam 5 mL alkohol 95%. Tambahkan air dengan volume yang sama banyak, dan dikocok. Tambahkan 10 tetes indikator fenol merah 0,04% dan tambahkan Na_2CO_3 0,1 M hingga warna menjadi merah muda.

Penentuan nilai K_m dan V_{maks} dari ketiga jenis substrat minyak

Dua mL suspensi ekstrak pankreas yang mengandung lipase dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diberitanda 1 hingga 10. Selanjutnya ke dalam masing – masing tabung dimasukkan emulsi minyak dengan variasi volume 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5mL, 6mL, 7mL, 8mL, 9mL, 10mL, dan 11 mL. Setiap tabung ditambahkan akuades hingga volume akhir menjadi 30 mL.

Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi dalam seluruh tabung reaksi pada suhu 34°C

dengan waktu yang sama, yaitu 30 menit. Setelah selesai diinkubasi, campuran kemudian dipanaskan dengan penangas air pada 100°C selama 2 menit. Pengerjaan ini dilakukan menggunakan tiga jenis emulsi minyak (minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun).

Selanjutnya masing – masing campuran dipipet sebanyak 10 mL dan dituangkan ke dalam erlenmeyer 100 mL kemudian ditambahkan 20 mL alkohol 95% sambil dikocok sampai homogen dan ditambahkan 3-4 tetes larutan phenolphthalein. Kemudian campuran dititrasi dengan larutan NaOH 0,05 M yang telah distandarisasi. Titrasi dilakukan sampai terjadi perubahan warna dari tak berwarna menjadi merah muda. Volume NaOH yang dibutuhkan pada tiap – tiap tabung dicatat dengan teliti.

Selanjutnya laju reaksi awal (v_0) dihitung menggunakan rumus :

$$v_0 = \frac{\text{mmol NaOH}}{\text{waktu inkubasi}}$$

Kemudian dibuat kurva Lineweaver-burk untuk mendapatkan nilai V_{maks} dan K_m .

Penentuan nilai laju maksimum (V_{maks}) dan konstanta michaelis-menten (K_m) dilakukan dengan menggunakan Kurva Lineweaver-Burk dengan membuat grafik hubungan antara ($1/v$) sebagai sumbu Y terhadap ($1/[S]$) sebagai sumbu X. Selanjutnya data-data yang diperoleh dibuat regresi liniernya dan diperoleh persamaan garis linier. Lereng regresi linier dimasukkan kedalam persamaan Lineweaver-Burk untuk mendapatkan nilai laju maksimum (V_{maks}) dan konstanta michaelis-menten (K_m) secara tepat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan laju reaksi awal (v_0)

Tabel 1, 2, dan 3 menunjukkan nilai laju reaksi awal (v_0) dari lipase pankreas pada substrat minyak kelapa, minyak sawit dan minyak zaitun dengan kondisi optimum untuk aktivitas lipase yang sudah diatur seperti pH 8-9, suhu 34°C dan substrat dalam bentuk emulsi.

Tabel 1. Laju reaksi Awal (v_0) Minyak Kelapa

Konsentrasi substrat (ppm)	v_0 (mmol/menit)
$1,65 \times 10^4$	$1,29 \times 10^{-3}$
$2,48 \times 10^4$	$1,37 \times 10^{-3}$
$3,30 \times 10^4$	$1,46 \times 10^{-3}$
$4,13 \times 10^4$	$1,54 \times 10^{-3}$
$4,96 \times 10^4$	$1,63 \times 10^{-3}$
$5,78 \times 10^4$	$1,71 \times 10^{-3}$
$6,61 \times 10^4$	$1,80 \times 10^{-3}$
$7,49 \times 10^4$	$1,89 \times 10^{-3}$
$8,26 \times 10^4$	$1,97 \times 10^{-3}$
$9,09 \times 10^4$	$1,97 \times 10^{-3}$

Tabel 2. Nilai Laju reaksi Awal (v_0) Minyak Sawit

Konsentrasi Substrat (ppm)	v_0 (mmol/menit)
$1,65 \times 10^4$	$1,03 \times 10^{-3}$
$2,48 \times 10^4$	$1,11 \times 10^{-3}$
$3,30 \times 10^4$	$1,20 \times 10^{-3}$
$4,13 \times 10^4$	$1,29 \times 10^{-3}$
$4,96 \times 10^4$	$1,54 \times 10^{-3}$
$5,78 \times 10^4$	$1,71 \times 10^{-3}$
$6,61 \times 10^4$	$1,79 \times 10^{-3}$
$7,49 \times 10^4$	$1,88 \times 10^{-3}$
$8,26 \times 10^4$	$1,88 \times 10^{-3}$
$9,09 \times 10^4$	$1,88 \times 10^{-3}$

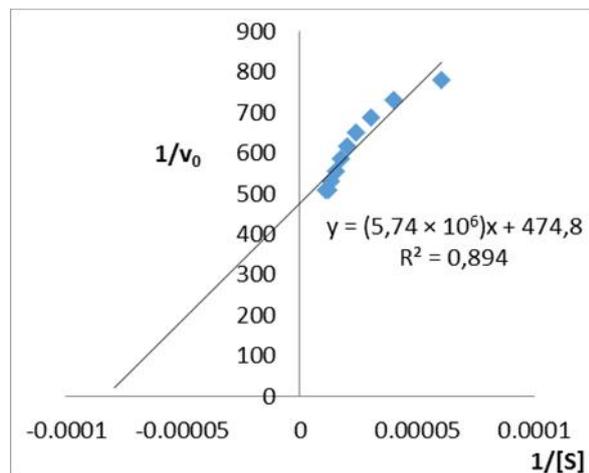
Tabel 3. Nilai Laju reaksi Awal (v_0) Minyak Zaitun

Konsentrasi Substrat (ppm)	v_0 (mmol/menit)
$1,65 \times 10^4$	$0,86 \times 10^{-3}$
$2,48 \times 10^4$	$0,95 \times 10^{-3}$
$3,30 \times 10^4$	$1,03 \times 10^{-3}$
$4,13 \times 10^4$	$1,12 \times 10^{-3}$
$4,96 \times 10^4$	$1,20 \times 10^{-3}$
$5,78 \times 10^4$	$1,28 \times 10^{-3}$
$6,61 \times 10^4$	$1,37 \times 10^{-3}$
$7,49 \times 10^4$	$1,37 \times 10^{-3}$
$8,26 \times 10^4$	$1,37 \times 10^{-3}$
$9,09 \times 10^4$	$1,37 \times 10^{-3}$

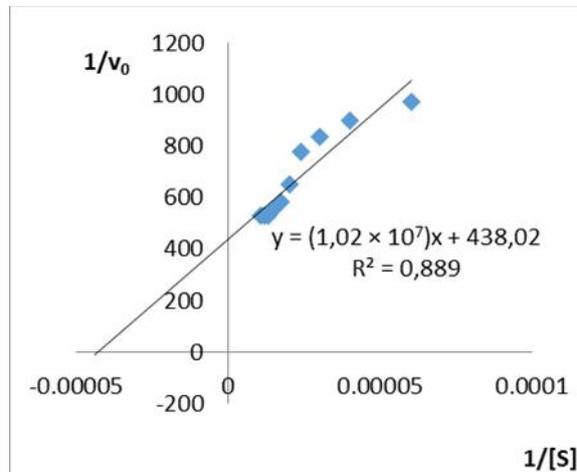
Berdasarkan Tabel 1, 2, dan 3 diketahui nilai laju reaksi awal (v_0) dari masing-masing substrat yang diteliti. Nilai laju reaksi dari masing-masing substrat bervariasi tergantung dari jenis substratnya. Dari hasil perhitungan juga terlihat bahwa laju reaksi awal pada reaksi hidrolisis yang terjadi dengan lipase pankreas sebagai katalisator terus meningkat seiring dengan bertambahnya nilai konsentrasi substrat parameter (minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun). Akan tetapi laju reaksi menjadi tidak bertambah lagi pada konsentrasi substrat $8,26 \times 10^4$ ppm pada minyak kelapa, $7,49 \times 10^4$ ppm untuk minyak sawit dan $6,61 \times 10^4$ ppm pada minyak zaitun. Pada titik konsentrasi tersebut laju reaksi selanjutnya tidak bertambah meskipun konsentrasi dari substrat terus ditambah, hal ini menunjukkan bahwa telah tercapainya laju reaksi maksimum (V_{maks}) pada reaksi katalitik tersebut. Pada kondisi tersebut enzim telah mencapai kondisi jenuh oleh substratnya sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik.

Penentuan nilai laju maksimum (v_{maks}) dan konstanta michaelis-menten (k_m)

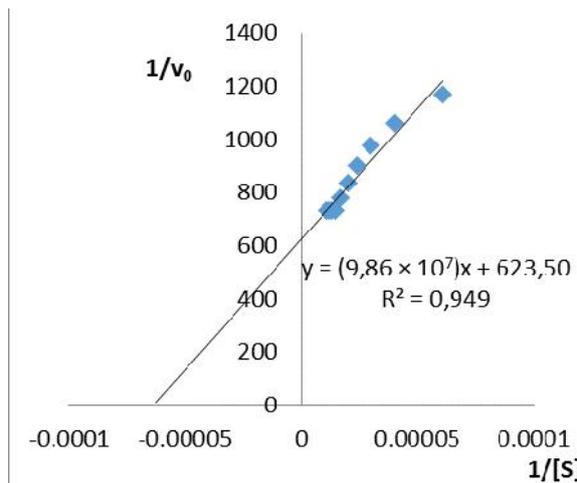
Kurva Lineweaver-Burk dari substrat minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun.



Gambar 1. Kurva Lineweaver-Burk hubungan antara $1/[S]$ dan $1/(v_0)$ pada minyak kelapa



Gambar 2. Kurva Lineweaver-Burk hubungan antara $1/[S]$ dan $1/(v_0)$ pada minyak sawit



Gambar 3. Kurva Lineweaver-Burk hubungan antara $1/[S]$ dan $1/(V_0)$ pada minyak zaitun

Dari hasil perhitungan diperoleh nilai K_m dan V_{maks} masing-masing untuk tiap jenis substrat adalah seperti yang ada pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai V_{maks} dan K_m

Jenis Substrat	V_{maks} (mmol/menit)	K_m (ppm)
Minyak kelapa	$2,11 \times 10^{-3}$	$1,21 \times 10^4$
Minyak sawit	$2,30 \times 10^{-3}$	$2,29 \times 10^4$
Minyak zaitun	$1,60 \times 10^{-3}$	$1,60 \times 10^4$

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa enzim lipase pankreas memiliki nilai K_m yang berbeda jika digunakan substrat yang berbeda (minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun). Dari hasil tersebut maka hasil penelitian yang dilakukan sesuai dengan teori dan yang menyatakan bahwa tiap-tiap jenis substrat yang berbeda akan memiliki konstanta Michaelis-Menten (K_m) yang berbeda pula atau dengan kata lain nilai K_m bersifat khas bagi jenis substrat tertentu (Lehninger, 1990).

Berdasarkan perbandingan nilai K_m dari masing-masing ketiga jenis substrat diketahui bahwa substrat minyak kelapa memiliki nilai K_m yang paling kecil dibandingkan dengan substrat lainnya yaitu sebesar $1,21 \times 10^4$ ppm/menit. Hal ini memberi makna bahwa reaksi hidrolisis lemak pada minyak kelapa yang dikatalisis oleh lipase pankreas mempunyai tingkat efisiensi yang paling baik. Dengan nilai K_m yang paling rendah maka untuk mencapai proses katalitik optimalnya hanya dibutuhkan konsentrasi substrat yang rendah pula. Hal ini bermakna pula bahwa lipase pankreas lebih efektif mengkatalis reaksi hidrolisis minyak kelapa dibandingkan dengan minyak sawit dan minyak zaitun.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan lipase pankreas memiliki nilai V_{maks} sebesar $2,11 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak kelapa, $2,30 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak sawit, dan $1,60 \times 10^{-3}$ mmol/menit pada substrat minyak zaitun. Nilai K_m lipase pankreas yang diperoleh sebesar $1,21 \times 10^4$ ppm pada minyak kelapa, $2,29 \times 10^4$ ppm pada minyak sawit, dan $1,60 \times 10^4$ ppm pada minyak zaitun. Hal ini menunjukkan bahwa lipase pankreas lebih efektif mengkatalis reaksi hidrolisis pada minyak kelapa dibandingkan

dengan minyak sawit dan minyak zaitun karena memiliki nilai K_m yang paling rendah.

Saran

Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang nilai V_{maks} dan Konstanta Michaelis-menten (K_m) pada substrat minyak kelapa, minyak sawit, dan minyak zaitun dengan metode lain contohnya *Spectroscopy (photometry, fluorimetry, infrared dan turbidimetri)*, dan kromatografi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan banyak-banyak terima kasih kepada Bapak Staf Dosen Kimia. atas saran dan masukannya, serta pihak-pihak lain yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2011, Enzim Lipase, <http://swiss8910.blogspot.com/2011/03/enzim-lipase.html>, 16 Mei 2013
- Kristanti, 2001, Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Lipase Ekstraseluler dari Kapang *R. oryzae* TR 32, *Thesis*, Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Lehninger, A.L., 1990, *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Maryanty dkk., 2010, Produksi Crude Lipase Dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat, eprints.undip.ac.id/22699/1/B-12.pdf, 16 Mei 2013
- Nasution, N. M., 2001, Hidrolisis Minyak Sawit oleh Lipase Spesifik dan Non Spesifik dari *Rhizomucor miehei* dan *Candida cylindracea*, <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/16219/>, 16 Mei 2013