

## Studi Alfa-Amylase Inhibitor Pada Pohon Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) Provenan Kediri, Solomon Dan Subang

### *Study on Alfa-Amylase Inhibitor in Sengon (Paraserianthes falcataria (L) Nielsen) Trees, of Kediri, Solomon and Subang Provenances*

Ulfah Juniarti Siregar<sup>1</sup> dan Puti Awali Saimima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor

#### ABSTRACT

*Sengon (Paraserianthes falcataria (L) Nielsen) is one of potential tree to develop because of its diverse benefits. At present, sengon plantation suffer from serious attack by stem borer (Xylocopa festiva Pascoe), known as boktor. It was known that boktor digestive tract contains  $\alpha$ -amylase enzyme, sengon trees have  $\alpha$ -amylase inhibitor. It is necessary to study the nature of  $\alpha$ -amylase inhibitor in sengon tree to produce superior clone of sengon, which contains highest  $\alpha$ -amylase inhibitor activity and resistant to stem borer.*

*The purpose of this study is to determine different level of  $\alpha$ -amylase inhibitor activity from three provenances of Kediri, Solomon and Subang, both in the bark and stem of healthy and heavily attacked trees. It also compared the activity of  $\alpha$ -amylase inhibitor using synthetic and natural enzymes from the digestive gut of boktor larvae. Plant materials were woods and barks of sengon trees from provenances of Kediri, Solomon, and Subang, which were made into powder. Two types of tree were selected, i.e. healthy and severely attacked trees. Observation of  $\alpha$ -amylase inhibitor activity was carried out using the  $\alpha$ -amylase synthetic enzyme (SIGMA, 320 U/mg) and natural enzymes from the digestive tract of boktor larvae, size 3.5 cm. The data were analyzed in a Complete Randomized Factorial Design (CRFD) with three factors, i.e. provenance, condition of the tree, and different tree tissue, using SPSS 18.0 software.*

*Analysis of variance using synthetic enzymes showed that tree conditions and tissues have highly significant influence on the activity of  $\alpha$ -amylase inhibitor, while in the other hand provenance factor did not. The trees stem (29,4751 AUI/mg) had a higher  $\alpha$ -amylase inhibitor activity than in trees bark (41.932 AUI / mg). The average of  $\alpha$ -amylase inhibitor activity in healthy trees (28,5689 AUI/mg) higher than in the attacked trees (25,6894 AUI/mg). Analysis of variance using natural enzymes showed that tree conditions and provenance have highly significant influence on the activity of  $\alpha$ -amylase inhibitor. Subang provenances had a highest average of  $\alpha$ -amylase inhibitor activity compared to other provenances that is equal to 55.2956 AUI / mg. Then the average  $\alpha$ -amylase inhibitor activity in healthy trees stem (59.7946 AUI / mg) was higher than the activity of  $\alpha$ -amylase inhibitor on severely attacked trees stem (41.932 AUI / mg).*

**Keyword :** enzim alfa-amylase, inhibitor, *Paraserianthes falcataria*

#### PENDAHULUAN

Sengon (*P. falcataria* (L) Nielsen) merupakan salah satu jenis pohon yang diprioritaskan untuk pengusahaan hutan tanaman industri karena manfaatnya yang sangat beragam, berserat halus, serta memiliki warna kayu yang indah (Atmosuseno 1998). Namun dalam perkembangannya, penanaman jenis sengon menemui beberapa hambatan berupa hama dan penyakit. Masalah yang paling umum dihadapi adalah serangan hama penggerek batang (*X. festiva* Pascoe) atau yang lebih sering dikenal sebagai boktor. Boktor mulai menyerang tanaman umur 3 tahun dan apabila dibiarkan, dalam waktu 2-5 tahun seluruh tanaman akan punah (Siregar et al. 2008). Pada saat boktor mencapai stadium larva, boktor akan mengkonsumsi permukaan batang yang berkayu dan permukaan kulit batang bagian dalam. Pada tahap inilah ancaman boktor yang paling berbahaya bagi perkembangan tanaman sengon.

Mengacu dari Prasetya (2007), disebutkan bahwa dalam pencernaan boktor terdapat enzim *trypsin* dan  *$\alpha$ -amylase*. Di sisi lain juga diketahui bahwa dalam pohon sengon terdapat senyawa yang bersifat inhibitor terhadap enzim *trypsin* dan  *$\alpha$ -amylase* yang terdapat pada pencernaan boktor (Winarni 2003). Oleh karena itu diperlukan suatu studi mengenai aktivitas *trypsin* inhibitor dan  *$\alpha$ -amylase* inhibitor. Informasi yang diperoleh akan digunakan untuk menghasilkan bibit sengon yang unggul, yaitu memiliki kandungan aktivitas *trypsin* dan  *$\alpha$ -amylase* inhibitor tertinggi sehingga dapat menghambat kerja enzim *trypsin* dan  *$\alpha$ -amylase* dari pencernaan boktor.

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui perbedaan aktivitas  *$\alpha$ -amylase* inhibitor pohon sengon provenan Kediri, Solomon, dan Subang.
2. Mengetahui besarnya aktivitas  *$\alpha$ -amylase* inhibitor pada bagian kulit dan batang pohon sengon provenan Kediri, Solomon, dan Subang.

3. Mengetahui perbedaan aktivitas *α-amylase* inhibitor pohon sengon yang terserang hama boktor dengan pohon yang tidak terserang pada provenan Kediri, Solomon, dan Subang.
4. Membandingkan aktivitas *α-amylase* inhibitor pohon sengon provenan Kediri, Solomon, dan Subang dengan menggunakan enzim sintetis dan enzim alami dari pencernaan larva boktor.

## BAHAN DAN METODE

**Waktu dan Tempat.** Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Pusat Penelitian Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilakukan selama ± 10 bulan yaitu Agustus 2009 – Juni 2010.

**Alat dan Bahan.** Alat yang digunakan dalam penelitian ini tabung kaca, gelas ukur, erlenmeyer, eppendorf, spektrofotometer, *Refrigerated Micro Centrifuge* MRX-152, *Centrifuge Microfuge* BECKMAN, shaker bath, *Orbital Shacking Incubator* ROSI 1000, pH meter, *refrigerator*, *freeze dryer*, pipet, stopwatch, mortar, vortex, *hotplate stirer*, neraca digital, cutter, label, sudip, *magnetic stirer*, aluminium foil dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam pengamatan studi *α-amylase* inhibitor adalah larutan *soluble starch*, larutan enzim *α-amylase* (SIGMA, 320 U/mg), air destilata, HCl, NaOH, buffer fosfat 0,1 M pH 7, DNS (3,5-Dinitro Salicylic Acid, serta serbuk batang dan serbuk kulit sengon yang masih segar dari provenan Solomon dan Kediri dalam bentuk *freeze dry*. Sebagai sumber enzim *α-amylase* dipakai larva yang berukuran 3,5 cm yang diduga mengandung aktivitas *α-amylase* tertinggi.

### Metode Penelitian

**Pembuatan ekstrak batang dan kulit.** Sebelum melakukan analisis terhadap aktivitas enzim *α-amylase* inhibitor, terlebih dahulu disiapkan ekstrak batang dan kulit dari pohon sengon provenan Kediri, Solomon, dan Subang. Pembuatan ekstrak batang dan kulit dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut :

- a. Tepung sengon dari batang dan kulit ditimbang sebanyak 2 gram. Kemudian disuspensikan kedalam 10 ml air destilata.
- b. Suspensi tepung sengon dikocok dengan menggunakan orbital shaker selama 2 jam dengan suhu ruangan.
- c. Setelah 2 jam kemudian sarinya dipindahkan kedalam eppendorf dan disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm suhu 4°C selama 10 menit.
- d. Supernata yang diperoleh diatur pHnya menjadi 4,0 dengan menambahkan larutan HCl 1N. Hasilnya kemudian diinkubator selama 30 menit pada suhu 70°C dengan tujuan menonaktifkan enzim *α-amylase*.
- e. Setelah didinginkan, apabila larutan terlihat keruh maka larutan disentrifuse sekali lagi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit.
- f. Supernatan yang diperoleh dinetralkan hingga mencapai pH 7 dengan menambahkan larutan NaOH 1M.

- g. Hasilnya dapat langsung digunakan untuk proses penetapan aktivitas *α-amylase* inhibitor.

**Penetapan aktivitas *α-amylase* inhibitor.** Aktivitas *α-amylase* inhibitor ditetapkan berdasarkan daya penghambat terhadap aktivitas enzim *α-amylase* dalam menghidrolisis pati. Adapun bahan yang harus disiapkan antara lain adalah ekstrak larva dan larutan pereaksi.

Untuk ekstraksi enzim *α-amylase* dari larva boktor, bagian kepala larva dipotong hingga yang tersisa hanya bagian badannya saja. Kemudian larva dimasukkan dalam mortar yang terendam air es, lalu digerus. Cairan yang diperoleh disuspensikan ke dalam larutan HCl 0.001 M dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirer*. Suspensi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 5°C dan supernatannya diambil untuk digunakan.

Larutan pereaksi dibuat dengan komposisi sebagai berikut:

- a. Larutan HCl 1 N
- b. Larutan NaOH 1 M
- c. Larutan enzim *α-amylase* (SIGMA, 320 U/mg) dalam berbagai konsentrasi, dalam buffer Na-Phospat 0,1 M pH 7,0
- d. Larutan *soluble starch*
- e. Pereaksi dinitrosalisilat; 1 gram 3,5-dinitrosalisilat, 30 gram Na-K-tartarat dan 1,6 gram NaOH dalam 100 ml air destilata.

Analisis aktivitas *α-amylase* inhibitor dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Suspensi pati terlarut 1% (dalam air destilata) dipanaskan dalam penangas air selama 30 menit hingga mencapai suhu 90°C, kemudian didinginkan.
- b. Sebanyak 2 ml larutan pati dalam tabung reaksi ditambah 3 ml air destilata dan 5 ml larutan buffer Na-Phospat 0,1 M pH 7,0. Kemudian diinkubasi dalam penangas air selama 15 menit pada suhu 37°C.
- c. Ke dalam larutan ditambahkan 5 ml larutan enzim dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu 37°C.
- d. Ke dalam tabung reaksi lain ditempatkan 1 ml larutan hasil inkubasi, kemudian ditambahkan 2 ml pereaksi dinitrosalisilat (DNS). Vortex hingga homogen, lalu panaskan dalam penangas air 100°C selama 10 menit.
- e. Setelah didinginkan campuran reaksi diencerkan dengan menambahkan 10 ml air destilata.
- f. Warna merah-oranye yang terbentuk dari hasil reaksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.
- g. Kurva maltosa dari campuran reaksi dihitung dengan menggunakan kurva standar maltosa murni yang diperoleh dengan cara mereaksikan larutan maltosa standar dengan pereaksi dinitrosalisilat menggunakan prosedur seperti diatas.
- h. Aktivitas *α-amylase* inhibitor dihitung berdasarkan jumlah maltosa yang dibebaskan. Satu unit aktivitas enzim (*α-Amylase Unit Inhibited/mg*) di definisikan sebagai jumlah enzim yang dapat dibebaskan 1 mg maltosa dalam kondisi seperti percobaan diatas.

- i. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amylase ekstrak sampel ditetapkan dengan cara menginkubasikan 2,5 ml ekstrak sampel dengan 2,5 ml larutan enzim  $\alpha$ -amylase (1 mg/ml buffer Na-Phospat) dalam penangas air 37°C selama 10 menit, sebelum dilakukan hidrolisis pati seperti di atas. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan aktivitas enzim  $\alpha$ -amylase dalam jumlah yang diencerkan dengan air destilata.
- j. Blanko sampel dipersiapkan dengan cara mendidihkan ekstrak sampel selama 10 menit untuk melenyapkan aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor, kemudian dilanjutkan dengan prosedur seperti di atas.
- k. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amylase dihitung berdasarkan perbedaan aktivitas enzim prosedur nomor 9.

Rumus perhitungan unit aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor yang digunakan adalah sebagai berikut:

- a. Konsentrasi sampel  

$$= \frac{\text{standar} - (\text{sampel} - \text{kontrol})}{[A]}$$
- b. Unit sampel  

$$= \frac{\text{Konsentrasi sampel}}{\text{BM} \times 0,1}$$
- c. Konsentrasi Amilase  

$$= \frac{\text{Standar} + [B]}{[A]}$$
- d. Unit Amilase  

$$= \frac{\text{Konsentrasi Amilase}}{\text{BM} \times 0,1}$$
- e. AUI  

$$= (\text{Unit Amilase} - \text{Sampel})$$

Keterangan : [A] dan [B] diperoleh dari kurva standar maltosa.

**Analisis Data.** Data aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor dianalisis menggunakan software SPSS 18.0, dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan 10 kali ulangan.

Faktorial yang dianalisis terdiri dari tiga faktor yaitu:

1. Provenan; Kediri, Solomon dan Subang
2. Kondisi pohon; sehat dan sakit
3. Bagian pohon; kulit dan batang

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, dilakukan sidik ragam dengan uji F. Data diolah dengan menggunakan perangkat lunak statistika SPSS 18.0, jika :

- a. F hitung < F tabel, maka perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap parameter provenan, kondisi pohon dan bagian pohon.
- b. F hitung > F tabel, maka perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap parameter provenan, kondisi pohon dan bagian pohon.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Aktivitas  $\alpha$ -amylase Inhibitor Menggunakan Enzim Sintetis pada Pohon Sengon Provenan Kediri, Solomon, dan Subang.** Pengujian aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor dilakukan dengan menggunakan enzim sintetis

dan enzim alami yang berasal dari pencernaan larva boktor. Hasil pengujian aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor dengan menggunakan enzim sintetis disajikan pada Tabel 1.

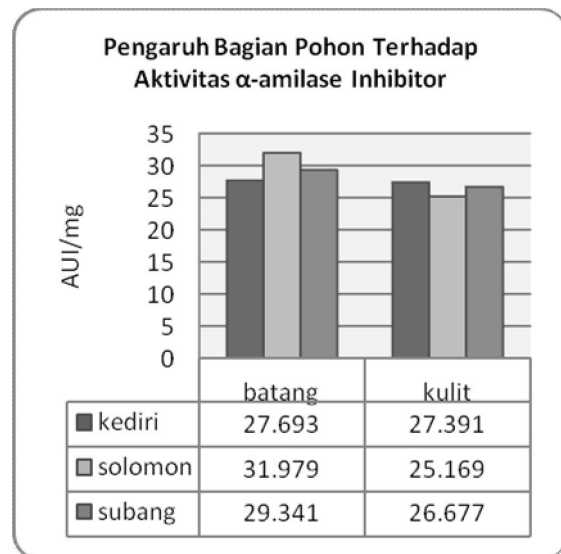
Tabel 1. Rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim  $\alpha$ -amylase sintetis

Faktor	Sidik Ragam
Provenan	0,976 <sup>tn</sup>
Bagian Pohon	13,174 <sup>**</sup>
Kondisi Pohon	9,106 <sup>**</sup>
Provenan x Kondisi Pohon	1,554 <sup>tn</sup>
Provenan x Bagian Pohon	2,706 <sup>tn</sup>
Kondisi Pohon x Bagian Pohon	0,001 <sup>tn</sup>
Provenan x Kondisi Pohon x Bagian Pohon	1,939 <sup>tn</sup>

Keterangan :

- x : Interaksi antarfaktor
- \*\* : Berpengaruh nyata
- tn : Tidak berpengaruh nyata

Tabel diatas menunjukkan bahwa aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amylase sintetis dipengaruhi secara nyata oleh bagian dan kondisi pohon. Sedangkan faktor provenan serta interaksinya dengan faktor lain tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor. Hal ini sesuai dengan pernyataan Djati (2009) bahwa berdasarkan rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim sintetis, kondisi pohon dan bagian pohon berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor, tetapi faktor provenan tidak berbeda nyata.

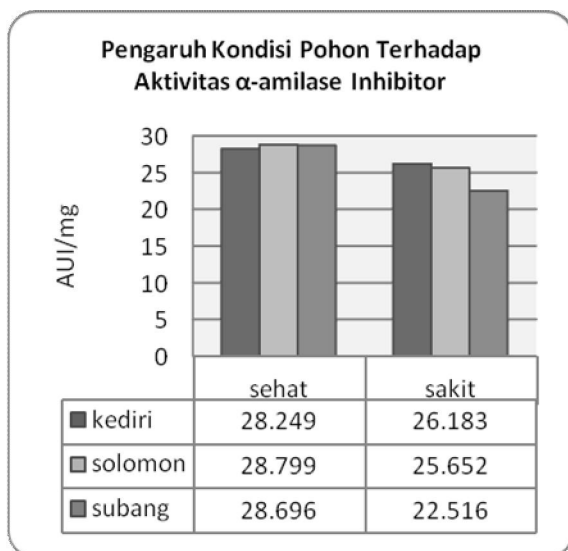


Gambar 1. Histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor bagian kulit dan batang pohon sengon menggunakan enzim sintetis.

Pada provenan Kediri, Solomon, dan Subang (Gambar 1), seluruhnya menunjukkan aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian kulit. Jika dirata-ratakan dari seluruh provenan, aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor

menggunakan enzim sintetis pada bagian batang mencapai 29,4751 AUI/mg. Bagian kulit nilainya lebih rendah, yaitu 26,4971 AUI/mg. Hal ini dikarenakan pada saat larva boktor mencapai ukuran 3,5 cm, larva sedang aktif menggerek batang pohon sengon yang berkayu. Selain itu bagian batang mengandung banyak karbohidrat sehingga boktor mensintesa enzim  $\alpha$ -*amylase* untuk mencerna karbohidrat tersebut (Djati 2009). Nilai rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor pada batang sengon tertinggi terdapat pada provenan Solomon dengan nilai 31,979 AUI/mg dan yang terendah terdapat pada provenan Kediri dengan nilai 27,693 AUI/mg. Sedangkan pada bagian kulit, nilai tertinggi ditunjukkan oleh provenan Kediri (27,391 AUI/mg) dan yang terendah ditunjukkan oleh provenan Solomon (25,169 AUI/mg).

Selain bagian pohon, faktor lain yang berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor adalah kondisi pohon, yaitu sehat dan sakit. Kondisi sakit dinyatakan pada pohon yang terserang hama boktor (*X. festiva*). Sebaliknya, pohon dinyatakan dalam kondisi sehat apabila tidak terkena serangan hama boktor.



Gambar 2. Histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor pada pohon sengon kondisi sehat dan sakit menggunakan enzim sintetis.

Gambar 2 menunjukkan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor yang lebih tinggi pada pohon dengan kondisi sehat, baik provenan Kediri, Solomon, maupun Subang. Pada provenan Kediri rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor pohon sehat adalah 28,249 AUI/mg, sedangkan untuk pohon sakit hanya 26,183 AUI/mg. Provenan Solomon memiliki rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor sebesar 28,799 AUI/mg untuk pohon sehat dan 25,652 AUI/mg untuk pohon sakit. Hal yang sama juga terjadi pada provenan Subang yang mempunyai nilai rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor sebesar 28,696 AUI/mg pada pohon sehat dan 22,516 AUI/mg pada pohon sakit. Berdasarkan provenannya, aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor tertinggi dicapai oleh provenan Solomon dengan nilai 28,5739 AUI/mg. Sedangkan aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor terendah

dicapai oleh provenan Kediri dengan nilai 27,5421 AUI/mg.

Apabila digabungkan, rata-rata aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor pada pohon sehat mencapai nilai 28,5689 AUI/mg, sedangkan pohon sakit hanya 25,6894 AUI/mg. Aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor yang lebih tinggi pada pohon sehat menunjukkan bahwa pohon sehat memiliki kemampuan untuk menghambat serangan hama boktor yang lebih besar.  $\alpha$ -*amylase* inhibitor akan menghambat proses degradasi pati (karbohidrat) dalam pencernaan larva boktor sehingga larva tidak dapat mengubahnya menjadi energi. Diduga dengan adanya mekanisme ini, larva boktor akan menghindari pohon sengon dengan aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor yang tinggi.

**Aktivitas  $\alpha$ -*amylase* Inhibitor pada Bagian Batang Pohon Sengon Menggunakan Enzim Alami dari Pencernaan Larva Boktor.** Pada pencernaan larva boktor terjadi suatu proses pemecahan molekul nutrisi kompleks menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana sehingga mudah untuk dicerna. Salah satunya adalah pemecahan pati atau karbohidrat menjadi molekul yang lebih sederhana oleh enzim  $\alpha$ -*amylase* (Muchtadi 1993). Oleh karena itu selain menggunakan enzim  $\alpha$ -*amylase* sintetis, pengujian juga dilakukan dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -*amylase* alami yang berasal dari pencernaan larva boktor. Namun pengujian hanya dilakukan pada bagian batang pohon saja, karena pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa aktivitas  $\alpha$ -*amylase* tertinggi terdapat pada bagian batang (Djati 2009). Berikut adalah rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor pada batang sengon menggunakan enzim  $\alpha$ -*amylase* alami dari pencernaan larva boktor.

Tabel 2. Rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor menggunakan enzim  $\alpha$ -*amylase* alami dari pencernaan larva boktor

Faktor	Sidik Ragam
Provenan	6,851**
Kondisi Pohon	45,414**
Provenan x Kondisi Pohon	6,851**

Keterangan :

x : Interaksi antarfaktor

\*\* : Berpengaruh nyata

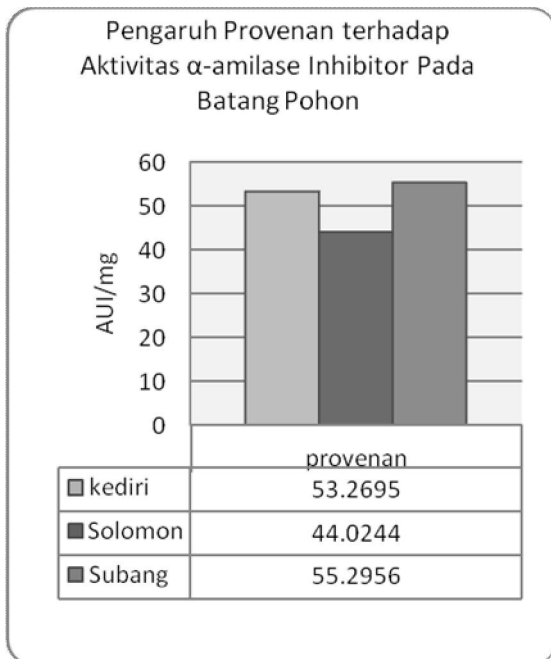
tn : Tidak berpengaruh nyata

Rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -*amylase* inhibitor menggunakan enzim  $\alpha$ -*amylase* alami dari pencernaan larva boktor menunjukkan bahwa faktor provenan memberikan pengaruh yang nyata. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya ukuran boktor yang tidak tepat, penggunaan enzim alami  $\alpha$ -*amylase* dari pencernaan boktor dan jumlah sampel yang tidak berimbang.

Sesuai dengan Prasetya (2007) yang diacu dalam Djati (2009), aktivitas enzim  $\alpha$ -*amylase* tertinggi diperoleh pada larva berukuran 3,5 cm. Pada saat berukuran 3,5 cm, larva sedang dalam kondisi banyak mencerna pati yang terdapat pada batang pohon sengon. Namun aktivitas  $\alpha$ -*amylase* akan mengalami penurunan

pada panjang larva 4 cm hingga 5 cm karena larva tidak melakukan aktivitas memakan kayu secara kontinyu. Dan dalam Marta (2005) disebutkan bahwa pada saat larva berukuran 4 cm sampai 5 cm, larva sedang dalam masa transisi antara stadium larvadan stadium pupa sehingga makanan yang dimakan hanya sedikit. Pada saat proses ekstraksi enzim  $\alpha$ -amylase dari pencernaan boktor, ukuran larva seringkali tidak tepat 3,5 cm, tetapi berkisar antara 3 cm hingga 4 cm. Ketersediaan larva boktor yang terbatas menyebabkan sulitnya untuk mendapatkan larva dengan ukuran yang sesuai.

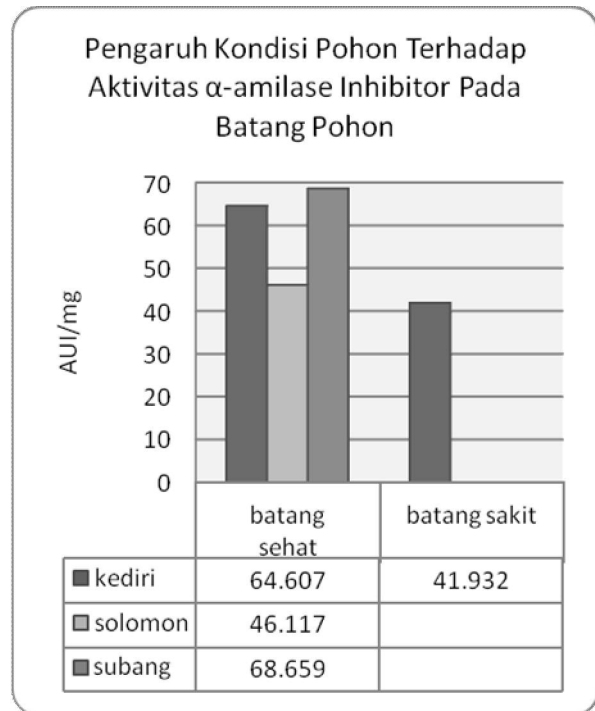
Kemudian saat proses ekstraksi enzim  $\alpha$ -amylase dari pencernaan boktor berlangsung, enzim tidak di purifikasi terlebih dahulu. Sedangkan dalam pencernaan boktor masih terdapat enzim lain yang ikut bereaksi dengan  $\alpha$ -amylase inhibitor dan menyebabkan penurunan aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor. Selain itu jumlah sampel yang tidak berimbang antara sampel batang yang sehat dengan sampel batang sakit juga dapat mempengaruhi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor. Pada penelitian ini, jumlah total sampel batang yang sehat adalah 30 sampel, masing-masing 10 sampel dari tiap provenan. Sedangkan jumlah sampel batang yang sakit hanya 10 sampel, yaitu dari provenan Kediri. Sampel sulit didapatkan karena pada saat pengambilan sampel dilapangan pohon yang sakit sudah banyak dibangi oleh masyarakat agar tidak menulari pohon disekitarnya.



Gambar 3. Histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon sengon provenan Kediri, Solomon, dan Subang.

Dari Gambar di atas dapat dilihat bahwa masing-masing provenan memiliki nilai rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor yang berbeda-beda. Provenan Subang memiliki rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor tertinggi yaitu sebesar 55,2956 AUI/mg. Sedangkan Kediri dan Solomon memiliki rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor masing-masing sebesar 53,2695 AUI/mg dan 44,0244 AUI/mg.

Selain faktor provenan, dari hasil rekapitulasi pada tabel 2 diperoleh bahwa faktor kondisi pohon juga berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor. Begitu pula dengan interaksi antara provenan dengan kondisi pohon yang memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor (Gambar 4).



Gambar 4. Histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon sengon kondisi sehat dan sakit.

Ketiga provenan menunjukkan nilai rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor yang lebih tinggi pada batang pohon dengan kondisi sehat yaitu 64,607 AUI/mg untuk provenan Kediri, 46,117 AUI/mg untuk provenan Solomon, dan 68,659 AUI/mg untuk provenan Subang. Dan jika data dari ketiga provenan digabungkan, maka didapatkan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon dengan kondisi sehat adalah 59,7946 AUI/mg. Sedangkan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon yang sakit hanya 41,932 AUI/mg.

Hal ini sejalan dengan pernyataan sebelumnya bahwa pohon dengan kondisi sehat memiliki aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor tertinggi sehingga dapat menghambat serangan hama boktor. Dalam Bahagiawati (2005) disebutkan bahwa inhibitor  $\alpha$ -amylase adalah protein yang menghambat enzim amylase di dalam saluran pencernaan (midgut) serangga. Enzim amilase diperlukan serangga, terutama serangga pemakan biji-bijian dan ubi yang kaya akan pati. Pati ini harus dihidrolisis menjadi molekul karbohidrat yang lebih sederhana (kecil) seperti disakarida dan monosakarida, agar dapat digunakan dalam sistem metabolisme serangga. Dengan dihambatnya pemecahan pati oleh inhibitor  $\alpha$ -amylase maka serangga tidak mendapatkan kebutuhan karbohidratnya, sehingga berakibat fatal bagi serangga tersebut.

**Perbandingan Aktivitas  $\alpha$ -amylase Inhibitor Bagian Batang Menggunakan Enzim Sintetis dan Enzim Alami dari Pencernaan Larva Bektor**

Tabel 3. Rekapitulasi hasil sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim sintetis dan enzim alami dari pencernaan larva bektor

Faktor	Sidik Ragam
Provenan	2.999 <sup>tn</sup>
Kondisi	46.542 <sup>**</sup>
Enzim	203.348 <sup>**</sup>
Provenan x Kondisi	2.889 <sup>tn</sup>
Provenan x Enzim	5.678 <sup>**</sup>
Kondisi x Enzim	19.782 <sup>**</sup>
Provenan x Kondisi x Enzim	5.879 <sup>**</sup>

Keterangan :

x : Interaksi antarfaktor

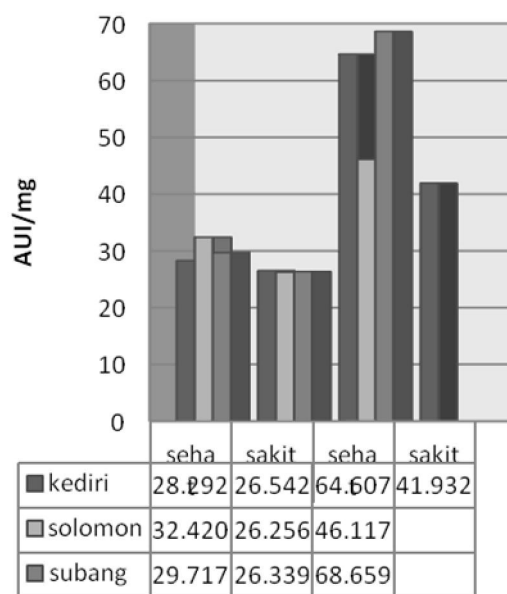
\*\* : Berpengaruh nyata

tn : Tidak berpengaruh nyata

Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa faktor kondisi pohon dan enzim memberikan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim sintetis dan enzim alami dari pencernaan larva bektor, sedangkan faktor provenan tidak berpengaruh nyata. Kondisi pohon memiliki pengaruh yang nyata yang konstan baik pada pengujian menggunakan enzim sintetis, enzim alami dari pencernaan larva, maupun gabungan keduanya. Kemudian interaksi antar faktor provenan dan kondisi pohon tidak berpengaruh nyata, tetapi interaksi antar faktor lainnya berpengaruh nyata.

Sampel yang digunakan dalam hal ini adalah sampel bagian batang pohon saja, karena pada pengujian menggunakan enzim alami hanya dilakukan pada sampel batang pohon saja yang memiliki aktivitas  $\alpha$ -amylase lebih tinggi dibandingkan dengan bagian kulit. Berikut adalah histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim sintetis dan enzim alami dari pencernaan larva bektor provenan Kediri, Solomon, dan Subang.

**Pengaruh Jenis Enzim Terhadap Aktivitas  $\alpha$ -amilase Inhibitor**



Gambar 5. Histogram rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim sintetis dan enzim alami dari pencernaan bektor.

Dari Gambar dilihat bahwa pada ketiga provenan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon dengan menggunakan enzim alami jauh lebih besar jika dibandingkan dengan pengujian menggunakan enzim sintetis. Setelah digabungkan, didapatkan angka rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim sintetis sebesar 29,4751 AUI/mg. Angka ini jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim alami, yaitu sebesar 50,8632 AUI/mg.

Bergmeyer (1974) diacu dalam Pasaribu (2008) menyatakan, pada proses pengamatan aktivitas inhibitor dengan menggunakan enzim alami dari pencernaan bektor, ada kemungkinan nilai yang dihasilkan lebih tinggi maupun lebih rendah dibandingkan dengan yang menggunakan enzim sintetis. Hal ini disebabkan 3 macam proses penghambatan yang mungkin terjadi:

1. Aktivitas dari proenzyme dalam serum, sekresi, dan ekstrak dari pankreas.
2. Progressive inhibition (*slow reacting inhibitors*) dan pe-nonaktifan enzim karena senyawa protein maupun autolysis.
3. Temporary inhibition, penghematan kerja enzim karena inhibitor atau karena protease lain.

Nilai rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor melalui pengujian dengan menggunakan enzim alami dari pencernaan bektor yang lebih besar diduga disebabkan karena proses penghambatan enzim oleh inhibitor pada bagian batang merupakan proses penghambatan yang

bersifat progressive inhibition (*slow reacting inhibitors*), dimana selain terjadi penghambatan oleh inhibitor yang berasal dari kayu, juga terjadi penonaktifan enzim oleh senyawa lain dari pencernaan boktor yang menyebabkan nilai aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor lebih tinggi.

Selain itu, dari Gambar 5 dapat pula diketahui bahwa rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon dengan kondisi sehat memang lebih tinggi dibandingkan dengan batang pohon dengan kondisi sakit. Untuk pengujian dengan menggunakan enzim sintetis, rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor tertinggi terdapat pada batang pohon sehat provenan Solomon sebesar 32,420 AUI/mg. Dan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor terendah terdapat pada batang pohon sakit provenan yang sama sebesar 26,256 AUI/mg. Sedangkan untuk pengujian dengan menggunakan enzim alami dari pencernaan larva boktor, rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor tertinggi terdapat pada batang pohon sehat provenan Subang sebesar 68,659 AUI/mg. Dan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor terendah terdapat pada batang pohon sakit provenan Kediri sebesar 41,932AUI/mg.

### KESIMPULAN

1. Berdasarkan uji sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim sintetis, faktor bagian dan kondisi pohon berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor, sedangkan faktor provenan tidak berpengaruh nyata.
2. Aktivitas tertinggi  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim sintetis terdapat pada pengujian dengan sampel batang pohon sengon kondisi sehat dengan nilai rata-rata 28,5689 AUI/mg, sedangkan pada pohon sakit hanya 25,6894 AUI/mg. Ketiga provenan menunjukkan aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian kulit, yaitu 29,4751 AIU/mg untuk bagian batang dan 26,4971 AIU/mg untuk bagian kulit.
3. Berbeda dengan hasil pengujian dengan enzim sintetis, hasil uji sidik ragam aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor menggunakan enzim alami dari pencernaan boktor menunjukkan bahwa faktor provenan memberikan pengaruh yang nyata. Selain itu faktor kondisi pohon dan interaksi antara faktor provenan dengan kondisi pohon juga berpengaruh nyata terhadap aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor.
4. Pada pengujian menggunakan enzim alami, provenan Subang memiliki rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor tertinggi yaitu sebesar 55,2956 AUI/mg. Sedangkan provenan Solomon memiliki rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor terendah, yaitu 44,0244 AUI/mg.
5. Rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon sengon sehat (59,7946 AUI/mg) lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon sengon sakit (41,932 AUI/mg) pada pengujian dengan menggunakan enzim alami dari pencernaan larva boktor.
6. Hasil perbandingan antara enzim sintetis dengan enzim alami menunjukkan bahwa faktor kondisi pohon dan enzim memberikan pengaruh yang nyata, sedangkan faktor provenan tidak berpengaruh nyata.
7. Rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim alami (50,8632 AUI/mg) mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata aktivitas  $\alpha$ -amylase inhibitor pada batang pohon menggunakan enzim sintetis (29,4751 AUI/mg).

### DAFTAR PUSTAKA

- Atmosuseno BS. 1998. *Budidaya, Kegunaan, dan Prospek Sengon*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Bahagiawati. 2005. Isolasi dan Purifikasi  $\alpha$ -amilase dari Biji Kacang *Phaseolus vulgaris*. *Agrobiogen* 1(1):7-12. [http://www.indobiogen.or.id/terbitan/pdf/abgobiogen\\_1\\_1\\_2010\\_06-07.pdf](http://www.indobiogen.or.id/terbitan/pdf/abgobiogen_1_1_2010_06-07.pdf) [6 Juli 2010]
- Djati FDH. 2009. Studi trypsin inhibitor dan alfa-amylase inhibitor pada pohon sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) provenan Banjarnegara dan Subang [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Marta AK. 2005. Pengaruh berbagai jenis serbuk kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*) pada makanan buatan (Artificial Diet) terhadap pertumbuhan larva boktor (*Xylocopa festiva* Pascoe) [skripsi]. Bogor : Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Muchtadi D. 1993. Teknik evaluasi nilai gizi protein [disertasi]. Bogor : Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Pasaribu FA. 2008. Studi trypsin inhibitor dan  $\alpha$ -amylase inhibitor pada bagian daun, kulit, dan kayu sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Prasetya A. 2007. Studi tentang enzim trypsin dan  $\alpha$ -amylase pada hama boktor (*Xylocopa festiva* Pascoe) serta inhibitor trypsin pada pohon sengon [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Siregar IZ, Yunanto T, Ratnasari J. 2008. *Kayu Sengon*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winarni I. 2003. Studi keragaman trypsin inhibitor dan keragaman genetik isoenzim pohon plus sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada hutan rakyat di Jawa Barat [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.