

PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI ENZIM LIPOKSIENASE KACANG TANAH

[Purification and Characterization of Peanut Lipoxygenase Enzyme]

B.A.S. Santosa ¹⁾, A.Eliana ²⁾ dan S.Widowati ¹⁾

¹⁾ Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian, Badan Litbang Pertanian

²⁾ Alumnus Institut Pertanian Bogor

Diterima 20 Juni 2005 / Disetujui 10 Agustus 2005

ABSTRACT

Fat oxidation of peanut is a serious problem, because it could reduce of peanut quality and form a hydroperoxide compound. Hydroperoxide could be broken down into acid, ketone and low peptide, and resulted in volatile compounds with undesirable aroma. EXtraction on enzyme was carried out by water, while purification and fractionation were conducted using ammonium sulphate and chromatography. The objective of this research was to evaluate of the protein fraction, lipoxygenase properties, and enzyme activity during fractionation. The result showed that the highest fraction of protein was globulin, i.e 41-48% of total extracted protein, and the activity of lipoxygenase enzyme in the albumin fraction was 40-54% of the total activity. Purification of lipoxygenase enzyme was conducted by using ammonium sulphate (40-60% saturated) and this increased its specific activity up to 2.0-4.2 times from the crude enzyme. Separation of lipoxygenase enzyme using Sephadex G- 150 revealed 3 (three) peaks of activities, with specific activities 6.0-70.0 fold of the crude enzyme. Lipoxygenase enzyme of Gajah variety denatured when heated at 70 °C during 30 minutes. The activation energy of lipoxygenase enzyme from Gajah variety (19.083 Cal/Mol) was relatively lower than 1509 and 1512 which were, 25.446 Cal/Mol and 24.780 Cal/Mol, respectively. The result showed that lipoxygenase enzyme from Gajah variety was relatively more heat stable as compared to the 1509 and 1512 lines. Lower activation energy of lipoxygenase enzyme indicated that effect of temperature alteration toward 'k' value was smaller. Lipoxygenase enzyme was active at pH higher than 3.0 or lower than 10.0. The data indicated that 'Km' value of lipoxygenase enzyme from Gajah variety was higher than that of 1509 and 1512 lines. It means that lipoxygenase enzyme from 1509 and 1512 lines more reactive than gajah variety.

Key words : Lipoxygenase, peanut, purification.

PENDAHULUAN

Minyak kacang tanah sebagian besar adalah asam lemak tidak jenuh esensial. Oksidasi asam lemak merupakan masalah yang dapat mempengaruhi mutu minyak dan produk olah kacang tanah. Oksidasi lemak ini didukung atau dikatalisis oleh beberapa factor, antara lain cahaya, oksigen, panas, kadar air, mikro organisme dan enzim. Salah satu enzim yang dapat mengkatalisis oksidasi asam lemak ialah enzim lipoksigenase (Leoni, et al., 1985). Enzim lipoksigenase mengkatalisis asam lemak tidak jenuh atau esternya, yang memiliki ikatan cis,cis-pentadiena dengan menggunakan oksigen. Reaksi oksidasi menghasilkan senyawa hidroperoksida yang dapat terurai menjadi asam, keton dan aldehyd. Senyawa-senyawa tersebut dapat menimbulkan flavor yang pahit dan langu (grassy-nut flavor) atau yang tidak disukai (off-flavor), sedang hidroperoksida yang terbentuk berinteraksi dengan protein, peptida dan asam amino, sehingga menurunkan nilai gizi dan menghasilkan senyawa volatil dengan bau tidak enak yang menyengat (Truong dan Mendoza, 1982). Hidroperoksida yang dihasilkan sangat reaktif, sehingga dapat merusak protein dan vitamin yang dapat menurunkan nilai biologi (Santosa, 1985). Aktivitas enzim lipoksigenase bervariasi

tergantung pada varietas kacang tanah dan bagian-bagian yang berbeda didalam bijinya. Kacang tanah mempunyai 94% total aktivitas lipoksigenase di bagian kotiledon dan 90% kacang tanah adalah kotiledon. Tujuan penelitian ini ialah mempelajari beberapa karakteristik enzim lipoksigenase kacang tanah, aktivitas enzim lipoksigenase di beberapa fraksi protein, stabilitas pH dan panas. Penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan oleh pemulia kacang tanah dalam merakit varietas serta bagi industri pengolahan lanjut, terutama untuk produk cair nabati dimana enzim lipoksigenase sangat berperan dalam mutu produknya.

METODOLOGI

Bahan yang digunakan ialah kacang tanah yang telah dihilangkan lemaknya (partially deffated peanut) pada varietas Gajah, serta Galur 1509 dan Galur 1512. Metodologi meliputi persiapan sampel, penentuan aktivitas lipoksigenase dengan metode Mitchell dan Malphrus (1977) yang dimodifikasi oleh Santosa (1985), ekstraksi dan isolasi enzim lipoksigenase dengan metode yang dimodifikasi oleh Santosa, et al., (1993), serta penentuan fraksinasi dan purifikasi protein enzim lipoksigenase (Santosa, 1985).

Persiapan sampel, ekstraksi dan purifikasi enzim.

Biji kacang tanah yang telah dihilangkan lemaknya sebagian, kemudian dipisahkan kulit ari (penghilangan lemak dilakukan secara pengepresan dengan alat press hidroulik pada tekanan 300 kg per cm²). Biji kacang tanah yang telah di hilang lemaknya sebagian, digiling sehingga lolos saringan 60 mesh, menjadi tepung. Kemudian tepung kacang tanah yang hilang lemaknya sebagian, dihilangkan lemak lagi dengan campuran chloroform-ethanol (2:1). Rasio sampel:pelarut ialah 1:10 (w:v). Sampel tepung kacang tanah bebas lemak disimpan pada suhu - 20°C, sehingga dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut, sesuai kebutuhan. Aktivitas enzim lipoksigenase dilakukan dengan metode Mitchell dan Malphrus (1977) yang dimodifikasi oleh Santosa (1985) dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 480 nm. Tahap ekstraksi dan purifikasi dilakukan pada suhu 4°C. Proses ekstraksi dari bahan tepung kacang tanah bebas lemak sebanyak 20 (dua puluh) gram diekstrak menggunakan air distilata sebanyak 400 ml, selama 1 (satu) jam. Proses ekstraksi dilakukan didalam ruangan suhu dingin (cold storage) pada suhu 4 °C. Supernatan dipisahkan dengan sentrifuse pada kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit. Supernatan dan residu disimpan untuk dianalisis. Fraksinasi dilakukan pada supernatan dengan menambahkan (NH₄)₂SO₄ padat sehingga diperoleh larutan 40% jenuh. Kemudian didiamkan semalam pada suhu 4°C, endapan yang tidak aktif dipisahkan dengan cara sentrifuse kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit. Supernatan ditambah dengan (NH₄)₂SO₄ sehingga 60% jenuh didiamkan semalam pada suhu 4°C. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam buffer fosfat 0,05M pH 6,5 dan didialisis dengan buffer yang sama selama 48 jam (penggantian buffer fosfat dilakukan tiga kali). Purifikasi selanjutnya dilakukan dengan gel filtrasi Sephadex G-150 (pharmacia fine chemical). Prinsip pemisahan enzim protein lipoksigenase berdasarkan berat molekul.

Pengaruh pH dan suhu.

Enzim lipoksigenase hasil gel filtrasi Sephadex G-150 diinkubasikan pada beberapa suhu (40, 50, 60 dan 70°C), waktu (0, 10, 20, 30 dan 40 menit) dan stabilitas enzim lipoksigenase berbagai pH diukur pada selang pH 3,0 – 11,0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi kimia dari beberapa varietas dan galur kacang tanah dapat dilihat pada Tabel 1. Kadar air dari varietas dan galur kacang tanah tidak berbeda. Pengepressan kacang tanah dengan hidroulik pres dapat menurunkan persentase kadar lemak dari 42,6 -

54,8% dari awal (bahan mentah), tetapi menaikkan persentase protein kacang tanah dari 45,1-51,3%.

Pengepressan kacang tanah bertujuan untuk mengurangi kadar lemak secara bertahap, sehingga proses penghilangan lemak selanjutnya dengan pelarut organik lebih efisien dan efektif, baik secara teknis maupun ekonomis. Kacang tanah yang telah dipres bersifat lebih mudah digiling dan tidak lengket pada alat giling dan ayakan. Tepung kacang tanah yang digunakan untuk penelitian enzim lipoksigenase, yang mampu yai kadar lemak yang seminimal mungkin, kisaran 1,2-1,7 (tabel 1) yaitu ekstraksi pada pelarut campuran chloroform-ethanol 2:1, sehingga mempermudah analisis, karena supernatan yang diperoleh tidak keru atau jernih.

Tabel 1. Komposisi kadar air, lemak dan protein dari varietas dan galur kacang tanah dan komponennya (berat kering)

Varietas/Galur	Komposisi kimia (%)		
	Air	Lemak	Protein
Var. Gajah			
Mentah	6,0 ± 0,8	55,7 ± 1,8	17,7 ± 0,7
Press	9,5 ± 1,0	31,8 ± 0,8	41,5 ± 1,0
Bebas Lemak	1,8 ± 1,1	1,7 ± 0,4	56,2 ± 1,0
Galur 1509			
Mentah	6,0 ± 0,6	54,6 ± 1,7	18,8 ± 0,8
Press	7,9 ± 0,9	29,2 ± 0,4	36,6 ± 1,4
Bebas Lemak	11,4 ± 1,0	1,5 ± 0,3	48,3 ± 1,7
Galur 152			
Mentah	6,0 ± 0,5	51,6 ± 1,6	22,8 ± 0,8
Press	7,6 ± 0,6	23,3 ± 0,7	41,5 ± 1,2
Bebas Lemak	11,8 ± 1,0	1,2 ± 0,4	47,6 ± 1,7

Catatan : hasil rata-rata dari 3 (tiga) ulangan analisis

Fraksinasi dan aktivitas enzim protein liposigenase kacang tanah lemak rendah.

Fraksinasi kacang tanah lemak rendah dilakukan dengan metode Santosa, et al., (1993) yang telah dimodifikasi. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi protein kacang tanah terlarut terbanyak ialah 99,6 – 99,8% dari total protein. Fraksi protein kacang tanah berdasarkan urutan konsentrasi terbesar yaitu globulin, albumin, glutelin dan prolamin sesuai dengan hasil penelitian Santosa, et al., (1993). Fraksi yang diperoleh dalam fraksinasi kacang tanah kemudian dianalisis aktivitas enzim lipoksigenasenya. Hasil analisis dapat dilihat Tabel 2 dan total lipoksigenase tertinggi ada pada fraksi albumin, yaitu berkisar 34,4 – 48,1% dari total aktivitas. Penelitian Truong dan Mendoza (1982) menunjukkan bahwa aktivitas lipoksigenase kacang tanah yang tertinggi ada pada fraksi albumin, baru kemudian pada fraksi globulin, glutelin dan prolamin (Tabel 2). Berdasarkan hasil penelitian tersebut (Table 2), maka penelitian fraksinasi dilakukan pada fraksi albumin.

Tabel 2. Fraksi-fraksi protein dari varietas dan galur kacang tanah

Varietas/Galur	Fraksi protein	Total protein		Aktivitas enzim lipoksigenase (unit absorbansi 480 nm/g protein)	
		(g)	(%)	(unit)	(%unit)
Var. Gajah.	Albumin	0,39 ± 0,01	38,7 ± 0,50	11,0 ± 0,40	53,8 ± 1,30
	Globulin	0,42 ± 0,02	41,3 ± 1,20	4,0 ± 0,20	20,8 ± 0,75
	Prolamin	0,01 ± 0,00	0,5 ± 0,20	2,0 ± 0,20	9,6 ± 0,40
	Glutelin	0,20 ± 0,01	19,3 ± 0,50	2,6 ± 0,30	12,9 ± 0,50
	Residu	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
Galur 1509.	Albumin	0,27 ± 0,03	34,4 ± 0,45	5,8 ± 0,20	40,1 ± 1,20
	Globulin	0,32 ± 0,04	48,1 ± 1,20	4,8 ± 0,20	33,1 ± 1,00
	Prolamin	0,01 ± 0,00	0,8 ± 0,40	1,0 ± 0,10	7,0 ± 0,70
	Glutelin	0,13 ± 0,01	1,64 ± 0,60	2,6 ± 0,15	18,0 ± 0,80
	Residu	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
Galur 1512	Albumin	0,42 ± 0,05	39,1 ± 0,60	8,0 ± 0,60	50,2 ± 1,10
	Globulin	0,51 ± 0,10	48,1 ± 1,50	5,4 ± 0,50	30,5 ± 1,00
	Prolamin	0,01 ± 0,00	0,5 ± 0,02	0,7 ± 0,03	7,0 ± 0,70
	Glutelin	0,13 ± 0,01	12,0 ± 0,40	0,7 ± 0,03	18,0 ± 0,80
	Residu	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00

Catatan: Hasil rata-rata dari 3 (tiga) ulangan analisis

Purifikasi protein enzim lipoksigenase.

Purifikasi dilakukan dengan pemisahan protein albumin dengan ammonium sulfat dan gel filtrasi Sephadex G-150. Enzim dari fraksi protein albumin menunjukkan nilai tertinggi aktivitasnya dan hasil penelitian purifikasi enzim lipoksigenase menunjukkan kesamaan dengan peneliti Truong dan Mendoza, (1982). Aktivitas spesifik yang di peroleh dari enzim kasar yaitu 0,02 ; 0,01 dan 0,01 unit per mg protein, berturut-turut pada varietas Gajah, galur 1509 dan galur 1512. Setiap fraksinasi dianalisis aktivitas lipoksigenaseny, baik pada endapan maupun supernatannya. Pada fraksinasi tahap pertama dengan ammonium sulfat 40% jenuh menunjukkan kadar aktivitas lipoksigenase tertinggi ada di supernatan (0,03-0,09 unit per ml sampel), sedangkan aktivitas lipoksigenase pada endapan sangat rendah, pada kedua galur kacang tanah. Pada tahap fraksinasi ini terjadi kenaikan aktivitas spesifik sebesar 1,2 kali aktivitas enzim kasar. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Sanders, et. al., (1976) dan Yoon (1978). Fraksinasi ammonium sulfat tahap kedua dilakukan dengan menambah kan ammonium sulfat pada supernatan (SII) sehingga diperoleh larutan 60% jenuh. Tahap ini memiliki aktivitas lipoksigenase yang tinggi pada endapannya (PI), dan endapan tersebut didispersikan dalam buffer fosfat 0,05M pH 6,5 dan endapan ini mempunyai aktivitas lipoksigenase spesifik 2,0-4,2 kali aktivitas spesifik enzim kasar.

Larutan hasil gel filtrasi Sephadex G-150 dianalisis aktivitas lipoksigenaseny dan protein enzim. Uji aktivitas lipoksigenase dari masing-masing larutan

tersebut menghasilkan tiga puncak, kemudian masing-masing puncak dikumpulkan dan dianalisis larutannya untuk mengetahui kadar protein dan aktivitas lipoksigenaseny. Peningkatan aktivitas spesifik pada masing-masing fraksi sangat bervariasi, dan pada tingkat purifikasi diperoleh aktivitas enzim antara 6,0-70,0 kali enzim kasar. Tingkat purifikasi yang sangat bervariasi ini disebabkan kadar protein yang diperoleh dari hasil gel filtrasi juga bervariasi, sedangkan aktivitas per ml sampel relatif tidak berbeda dan fraksi puncak yang kedua mempunyai aktivitas paling kecil dibanding dua puncak lainnya.

Fraksinasi ammonium sulfat tahap kedua di lakukan dengan menambahkan ammonium sulfat pada supernatan (SII) sehingga diperoleh larutan 60% jenuh. Tahap ini memiliki aktivitas lipoksigenase tinggi pada endapannya (PI), dan endapan tersebut didispersikan dalam buffer fosfat 0,05M pH 6,5 dan endapan ini mempunyai aktivitas lipoksigenase spesifik 2,0-92,4 kali aktivitas spesifik enzim kasar.

Stabilitas enzim lipoksigenase terhadap pH dan suhu

Enzim lipoksigenase fraksi puncak 1, 2 dan 3 dianalisis stabilitas terhadap pH dan suhu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas lipoksigenase yang tinggi pada pH 6,0-7,0 dan terendah pada pH 3,0 atau pH 10,0 (Table 3), serta beberapa pH dimana enzim lipoksigenase mempunyai aktivitas tinggi yaitu pada pH 6,0 dan pH 7,0.

Tabel 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim lipoksigenase

pH	Aktivitas spesifik enzim lipoksigenase pada varietas dan gular (unit per mg protein)		
	Gajah	Galur 1509	Galur 11512
3,0	0,08 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,09 ± 0,01
4,0	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,20 ± 0,01
5,0	0,27 ± 0,02	0,52 ± 0,03	0,75 ± 0,03
6,0	0,45 ± 0,03	0,95 ± 0,10	1,00 ± 0,15
7,0	0,35 ± 0,03	0,85 ± 0,08	0,90 ± 0,20
8,0	0,32 ± 0,01	0,50 ± 0,04	0,75 ± 0,15
9,0	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,40 ± 0,10
10,0	0,08 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,05
11,0	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,05 ± 0,1

Catatan: Hasil rata-rata dari 3 (tiga) ulangan analisis

Purifikasi enzim lipoksigenase kacang buncis mempunyai aktivitas lipoksigenase pH 6,5-7,0 dan semua aktivitas lipoksigenase pada tumbuh-tumbuhan mempunyai pH 6,5-7,0, kecuali isoenzim-1 lipoksigenase kedelai (Chen dan Whitaker, 1998). Enzim lipoksigenase kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) stabil pada pH 4,0-9,0 bila diinkubasikan pada buffer yang sesuai selama 30 menit pada 25°C dan terdenaturasi sempurna pada pH dibawah 3,0 dan diatas pH 10,0. Enzim lipoksigenase yang diketahui stabilitas terhadap pH dapat membantu atau mendeteksi inaktivasi enzim tersebut. Analisis

stabilitas enzim lipoksigenase terhadap panas ditunjukkan pada hasil purifikasi dari gel filtrasi puncak. Pengaruh suhu terhadap stabilitas ditentukan dengan mengukur aktivitas sisa setelah diinkubasikan pada berbagai variasi suhu dan waktu pada pH optimal. Selang suhu yang digunakan yaitu 40-70°C dengan waktu 0-60 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim lipoksigenase terdenaturasi sempurna setelah dipanaskan 70°C selama 30 menit pada varietas Gajah, dan masing-masing selama 15 menit pada Galur 1209 dan 1512 pada suhu 70°C (Tabel 4).

Dalam penelitian ini plot log atau aktivitas sisa terhadap waktu inkubasi menghasilkan garis lurus yang linier dengan korelasi 0,99. Persamaan garis dan korelasi laju kerusakan enzim lipoksigenase kacang tanah dari berbagai suhu dapat dilihat pada Tabel 4. Konstanta laju reaksi tingkat pertama k dapat dihitung dari slope garis dengan rumus :

$$\text{Slope} = -k/2.303$$

Ketergantungan konstanta laju reaksi spesifik (k) terhadap suhu dapat ditulis dengan

$$\text{persamaan Arrhenius : } \log(k) = \log(A) - \frac{E_a}{2.303 RT}$$

k = konstanta laju reaksi spesifik pada beberapa suhu T (°K)

Ea = energi aktivasi

A = faktor frekuensi atau faktor Arrhenius

Tabel 4. Persamaan garis dan korelasi laju kerusakan enzim lipoksigenase kacang tanah pada berbagai suhu.

Varietas dan Suhu (°C)	Persamaan garis	r	n	Konstanta Kecepatan reaksi	Nilai energi aktivasi (kal/mol)	Aktivitas enzim lipoksigenase sisa (%)				
						0	10	20	30	40
Var. Gajah					19.083					
40	$Y^a = 1.989 - 0.007 X^n$	0.99	6	0,016						
50	$Y^a = 1.853 - 0.008 X^n$	0.90	6	0,018						
60	$Y^a = 1.848 - 0.025 X^n$	0.88	7	0,058						100 82 67 60 68
70	$Y^a = 2.085 - 0.099 X^n$	0.94	7	0,228						100 55 47 42 40
Galur 1509					25.446					
40	$Y^a = 1.921 - 0.004 X^n$	0.82	6	0,008						
50	$Y^a = 1.872 - 0.006 X^n$	0.84	6	0,013						
60	$Y^a = 1.829 - 0.020 X^n$	0.87	7	0,047						100 75 64 63 62
70	$Y^a = 1.711 - 0.129 X^n$	0.95	7	0,296						100 65 47 45 42
Galur 1512					25.780					
40	$Y^a = 1.932 - 0.004 X^n$	0.81	6	0,008						
50	$Y^a = 1.830 - 0.007 X^n$	0.81	6	0,016						
60	$Y^a = 1.804 - 0.021 X^n$	0.86	7	0,047						100 35 27 25 24
70	$Y^a = 1.953 - 0.139 X^n$	0.98	7	0,320						100 5 0 0 0

Catatan: Y^a = log (aktivitas relative)

Xⁿ = waktu inkubasi (menit)

Energi aktivasi didefinisikan sebagai energi minimum yang harus dimiliki molekul reaktan untuk berubah menjadi molekul produk. Bila log (k) diplotkan terhadap 1/T (oK), nilai energi aktivasi (Ea), dapat dihitung dari slop garis lurus yang diperoleh, dengan rumus: Slope = - Ea/2.303 R;

$$R = 1,98 \text{ kal per mol K.}$$

Nilai energi aktivasi varietas Gajah, galur 1509 dan galur 1512, berturut-turut ialah 19.083, 25.446 dan 25.780 kal per mol. Nilai ini relatif tinggi dibanding energi aktivasi reaksi yang dikatalisis enzim umumnya. Energi aktivasi yang diperlukan untuk transformasi

reaktan menjadi produk yang dikatalisis enzim, besarnya 6.000-15.000 kal/mol dan energi aktivasi denaturasi antara 50.000 – 150.000 kal/mol. Energi aktivasi enzim lipoksigenase kacang tanah varietas Gajah mempunyai nilai relatif lebih rendah daripada galur-galur 1509 dan 1512. Hal ini menunjukkan bahwa lipoksigenase kacang tanah varietas Gajah lebih stabil, karena pengaruh perubahan suhu terhadap nilai k yang relatif kecil.

Tabel 5. Aktivitas protein enzim lipoksigenase di setiap tahap purifikasi.

Var./Galur Tahapan Purifikasi	Total protein (mg)	Aktivitas total (unit)	Aktif. Spesifik (unit/mg protein)	Tingkat Purifikasi*recovery**	
Var. Gajah					
Enzim kasar	2373,7	54,0	0,02	1,0	100,0
Amm.sulfat 40% (SI)					
Amm.sulfat 60% (PI)	1234,4	33,5	0,03	1,2	62,1
Sephadex G-150:	766,3	33,6	0,04	1,9	62,2
Puncak 1					
Puncak 2					
Puncak 3	93,1	45,7	0,50	21,6	84,7
	92,7	12,8	0,14	6,1	23,7
Galur 1509.	60,0	62,5	1,04	45,8	115,9
Enzim kasar					
Amm.sulfat 40% (SI)					
Amm.sulfat 60% (PI)	3666,8	48,7	0,01	1,0	100,0
Sephadex G-150:					
Puncak 1	1297,9	20,9	0,02	1,2	42,9
Puncak 2					
Puncak 3	956,0	33,2	0,04	2,6	68,1
Galur 1512.	41,1	22,8	0,55	41,7	46,8
Enzim kasar	9,8	4,0	0,40	30,4	8,1
Amm.sulfat 40% (SI)	32,5	17,7	0,54	41,0	36,3
Amm.sulfat 60% (PI)					
Sephadex G-150:					
Puncak 1	5070,5	39,8	0,01	1,0	100,0
Puncak 2					
Puncak 3	1334,9	12,4	0,01	1,2	31,2
	1531,8	25,0	0,02	2,1	62,9
	47,4	34,3	0,73	92,4	86,3
	55,9	11,3	0,20	25,9	28,5
	63,8	26,5	0,42	53,2	66,8

Catatan: * Aktivitas spesifik/aktivitas spesifik enzim kasar.

** (Aktivitas total/aktivitas total enzim kasar) X 100%

KESIMPULAN DAN SARAN

Fraksi protein tertinggi kacang tanah ialah fraksi protein globulin, kemudian berturut-turut fraksi protein albumin, glutelin dan prolamin. Aktivitas enzim lipoksigenase yang tertinggi terdapat pada fraksi protein albumin.

Purifikasi dengan fraksinasi ammonium sulfat 40-60% jenuh meningkatkan aktivitas spesifik enzim lipoksigenase dari 2,0-4,2 kali aktivitas spesifik enzim lipoksigenase kasar. Gel filtrasi SephadexG-150 menunjukkan tiga puncak aktivitas spesifik enzim lipoksigenase dengan kelipatan 6,0-70,0 kali aktivitas spesifik enzim kasar.

Enzim lipoksigenase kacang tanah terdenaturasi setelah pemanasan 70°C selama 30 menit dan 15 menit, pada masing-masing varietas Gajah dan galur-galur 1509 dan 1512. Energi aktivasi enzim lipoksigenase kacang tanah varietas Gajah, galur-galur 1509 dan 1512, masing-masing mempunyai aktivasi 19.083; 25.780 dan 25.446 kal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa enzim lipoksigenase kacang tanah varietas Gajah lebih stabil, karena nilai energi aktivasinya lebih kecil sehingga pengaruh perubahan suhu terhadap nilai k lebih kecil. Enzim lipoksigenase mempunyai aktivitas pada pH 6,0-7,0 dan terdenaturasi atau aktivitas sangat kecil pada pH 3,0 atau diatas pH 10,0.

Hasil penelitian ini menyarankan pada pemulia kacang-kacangan untuk pengelompokan varietas-varietas kacang-kacangan (terutama kacang tanah) yang mempunyai kadar dan aktivitas enzim lipoksigenase serta mencari varietas kacang-kacangan (kacang tanah) yang mempunyai aktivitas enzim lipoksigenase rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Bisakowski, B., A.S.Atwal and S. Kermasha.2000.** Characterization of lipoxygenase activity from a partially purified enzymic extract from *Morehella esculenta*. *Process Biochem.* 36:1-7.
- Clemente, A., R. Olias and J.M.Olias. 2000.** Purification and characterization of broad bean lipoxygenase isoenzymes. *J.Agric. Food Chem.* 48: 1070- 1075.
- King, J.M., S.M. Chin., L.K. Svendsen., C.A. Reitmeier., L.A. Johnson and W.R. Fehr.2001.** Processing of lipoxygenase-free soybean and evaluation in foods. *JAOCS.vol.78(4):253-360.*
- King, J.M., L.K. Svendsen., W.R. Fehr., J.M. Narvel and P.J.White. 1998.** Oxidative and flavor stability of oil from lipoxygenase-free soybeans. *J.Am.Oil Chem.Soc.*75:1121-1126.
- Leoni, O., R. Lori and S. Palmieri. 1985.** Purification and properties of lipoxygenase in germinating sun flower seed. *J.Food Sci.* 50(1):88-92.
- Mitshell Jr., J.H. and R.K. Malphrus. 1977.** Lipid oxidation in Spanish peanuts: The effect of moist heat treatments. *J.Food Sci.* 42(6):1457-1461.
- Narvel, J.M., W.R.Fehr and G.A. Welke. 1998.** Agronomic and seed traits of soybean lines lacking seed lipoxygenase. *Crop Sci.* 38:926-928.
- Sanders, T.H., H.E. Pattee and J.A. Singleton. 1976.** Lipoxygenase isozymes of peanut. *Lipids* 10 (11):681-685.
- Santosa, B.A.S. 1985.** Studi lipoksigenase kacang tanah protein tinggi pada berbagai pH ekstraksi. Thesis. S2 Fakultas Pascasarjana UGM, Yogyakarta:85 hal.
- Santosa, B.A.S, D.S. Damardjati, M.A. Wirakartakusumah dan A. Elianan. 1993.** Penentuan Enzim Lipoksigenase dalam fraksi protein kacang tanah (*Arachis hypogaea*). MPS No.13:19-24.
- Torres-Penaranda, A.V., C.A.Reitmeier, L.A.Wilson, W.R.Fehr and J.M.Narvel. 1998.** Sensory characteristics of soymilk and tofu made from lipoxygenase-free and normal soybeans. *J.Food Sci.*63:1084-1087.
- Wilson, L.A. 1996.** Comparison of lipoxygenase-null and lipoxygenase-containing soybean for foods. In lipoxygenase enzymes and lipoxygenase pathway enzymes, edited by G.Piazza, AOCS, Champaign.pp:209-225.