

AKTIVITAS LIPASE DAN METABOLISME LIPID SELAMA MASA PERKECAMBAHAN WIJEN (*Sesamum indicum. L*)

Lipase Activity and Lipid Metabolism during Sesame Germination

Tri Agus Siswoyo¹⁾ dan Norry Eka Palupi¹⁾

¹⁾ Pusat Penelitian Biologi Molekul dan Jurusan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Email : siswoyo.triagus@gmail.com

ABSTRACT

Experiments were conducted to determine the relationship between lipase activity and the metabolism of lipids during germination of sesame (*Sesamum indicum. L*) seed. During the course of germination, concentration of the non-polar lipid fractions and lipase activity increased. The glycolipids and phospholipid fractions were relative stable during early germination, but there were marked changes phospholipid fractions after 5 days germination. In a comparison among lipid fractions Non-polar lipids (NL), Glycolipids (GL), and Phospholipids (PL), there were no significant regressions between the quantitative changes in lipid fractions and lipase activities. It was concluded that the degradation in NL and increase in PL and GL observed during sesame germination were not controlled by the level of lipase activity. Rather, it was suggested that sesame may have another lipase present in the cells where the oil bodies are located that hydrolyzes lipids from the oil bodies during germination.

Key words : lipase, glycolipids, phospholipid, lipase, sesame seed

PENDAHULUAN

Wijen (*Sesamum indicum. L*) adalah salah satu komoditas pertanian penghasil minyak nabati yang amat potensial untuk mendukung pengembangan aneka industri. Produk wijen makin dibutuhkan dalam aneka industri, terutama industri makanan dan minyak goreng. Biji tanaman wijen mempunyai kadar minyak yang lebih tinggi dibandingkan biji tanaman minyak (*Oil seed*) lain. Biji wijen mengandung lipid antara 45 – 60% dan hampir 50% nya berupa natural antioxidant antara lain sesamin dan sesamol (Brar dan Ahuja, 1979). Komposisi asam lemak pada minyak sangat beragam tergantung jenis kultivar (Yermanos *et al.*, 1972; Brar 1982).

Lipid adalah unsur penyimpan yang sangat penting dalam sel tanaman terutama dalam penyediaan energi. Triasilgliserol merupakan bentuk penyimpan lipid utama dalam jaringan tanaman yang terletak di oleosome (Anderson and Beardall, 1991) dan merupakan sumber karbon dan energi yang efisien selama masa

perkecambahan benih (Buchanan *et al.*, 2000). Kandungan total lipid terdiri dari nonpolar lipid, phospholipid, dan glikolipid dengan triasilgliserol sebagai nonpolar lipid utama (Anderson dan Beardall, 1991).

Untuk memenuhi kebutuhan energi dalam pertumbuhan atau perkecambahan benih, beberapa jenis enzim banyak yang terlibat diantaranya adalah enzim lipolitik. Enzim lipolitik atau lipase (*triacylglycerol acylhydrolase*, EC 3.1.1.3) yang termasuk dalam famili esterase sangat aktif pada biji yang mempunyai kandungan lipid tinggi. Enzim ini sangat bertanggung jawab terhadap hidrolisis triasilgliserol (Schmid dan Verger, 1998).

Pada budidaya tanaman wijen kualitas benih yang baik dan bermutu adalah memiliki kandungan minyak tinggi sebagai sumber konsumsi pangan dan juga kandungan tersebut tidak mengganggu atau mengurangi proses perkecambahan.

Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan beberapa hubungan antara aktivitas lipase dan perubahan kandungan

lipid yang terdapat pada biji wijen terutama pada saat perkecambahan.

METODA PENELITIAN

Bahan

Benih wijen varietas Sumber Rejo II diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Keras Malang. Bahan kimia (*analytical reagent grade*) yang digunakan adalah lauric acid 4-nitrophenyl ester (Fluka); massa molekul protein standar (Daiichi Chemical); asam silikat (Wako) dan bahan kimia lain yang digunakan dalam penelitian ini akan disebutkan pada metode.

Tahap Penelitian

Perkecambahan

Biji wijen dikecambahkan selama 0-5 hari dengan menggunakan metode UkddP (Uji kertas digulung didirikan dalam plastik) yaitu dengan meletakkan benih wijen pada kertas merang yang digulung dalam plastik dan ditanam berdiri dalam *growth chamber*.

Ekstraksi Protein Enzim

Satu gram sampel diekstrak menggunakan nitrogen cair sampai halus dan ditambahkan 2.5 ml larutan 0.1 M phosphate buffer pH 7,2 mengandung 1 mM EDTA, 5mM β -ME dan 2% Triton X-100. Hasil ekstraksi disentrifuge pada kecepatan 10.000 rpm selama 40 menit pada suhu 4°C. Supernatan dipisahkan dan diukur aktivitas enzim serta total protein. Total protein diukur menggunakan larutan Bradford (Bradford, 1976) dengan absorbansi pada panjang gelombang 595 nm.

Aktivitas Lipase

Aktivitas lipase diukur berdasarkan jumlah *p*-nitrophenol yang dihasilkan pada larutan penguji yang terdiri dari 50 mM acetate acid buffer pH 5.6, 2.5 mM lauric acid 4-nitrophenyl ester, 2% triton X-100 dan 50 μ l larutan enzim. Campuran reaksi diinkubasikan pada suhu 37°C selama 15 min. Reaksi dihentikan dengan

menambahkan 2 ml acetone, setelah beberapa saat diukur absorbansi pada panjang gelombang 410 nm (Chang *et al.*, 1996). Satu unit aktivitas enzim dinyatakan dalam jumlah satu μ mole of *p*-nitrophenyl dari lauric acid 4-nitrophenyl ester per min.

Ekstraksi Lipid dan Fraksinasi lipid

Dua gram sampel diekstrak menggunakan nitrogen cair kemudian ditambahkan water saturated butanol (1/5;W/V) panas selama 3 jam dan diulang sebanyak 3 kali. Hasil ekstraksi di saring, filtrat di kumpulkan dan dikonsentrasikan dengan menggunakan evaporator pada suhu 65-70°C. Hasil kosentrat dilarutan dengan menggunakan campuran larutan Chloroform: Methanol: H₂O dengan perbandingan 1: 2: 0,8 sesuai prosedur yang dilakukan oleh Bligh dan Dyer (1959). Pemisahan lipid spesies seperti nonpolar lipid (NL); Glycolipid (GL), dan Phospolipid (PL) menggunakan silicic acid kolom kromatografi dengan pelarut secara berturut-turut Chlorofom: Aceton: Methanol. Berat hasil masing-masing fraksi diukur berdasarkan metode gravimetry.

Rancangan Percobaan

Dalam penelitian ini menggunakan nilai rerata dari 3 kali ulangan dan penentuan hubungan antara faktor pertama dan kedua menggunakan regresi sederhana $Y = AX + B$ dimana Y = perubahan komposisi lipid fraksi; X, Aktivitas Lipase; A, koefisien regresi dan B, interception faktor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Lipid Fraksi Pada Biji Wijen

Data pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa kandungan total lipid pada biji wijen sekitar 40%, ini lebih besar jika dibandingkan dengan kandungan lipid pada kedelai (20%) dan jagung (4.7%) tetapi akan lebih kecil bila dibandingkan dengan kacang tanah (48%) (Liu, 1997). Dari total lipid tersebut secara kualitatif dapat dipisahkan dengan

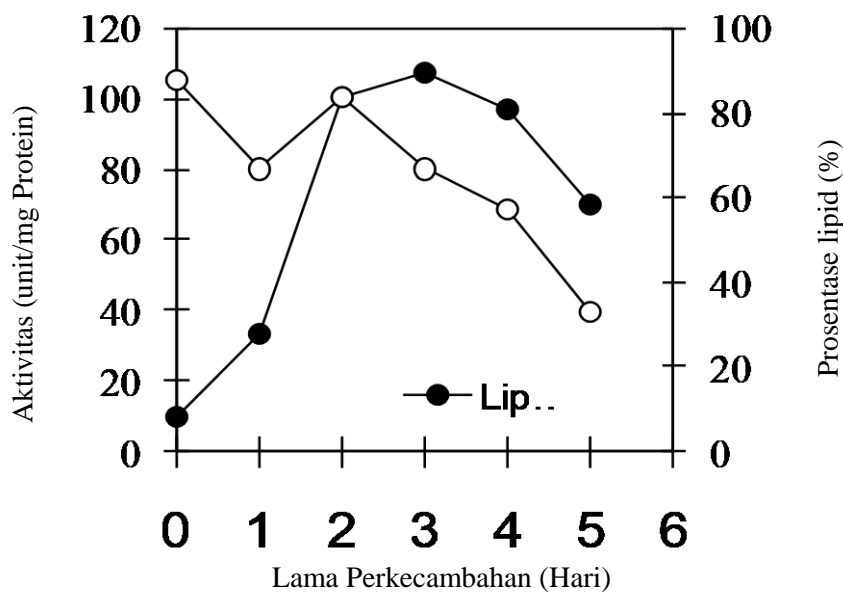
menggunakan silicic acid kolom kromatografi menjadi tiga fraksi diantaranya adalah non-polar lipid (NL); Glycolipid (GL) dan Phospholipids (PL). Fraksi non-polar lipid mempunyai jumlah yang paling besar dari total lipid kurang lebih 87%, sedangkan glycolipid 12% dan phospholipid 0.3%.

Tabel 1. Komposisi lipida biji wijen

Total Lipid (g/g sample)	0,4
Non polar lipids (%)	87,3
Glycolipids (%)	12,3
Phospholipids (%)	0,3
Aktivitas Lipase (unit/mg protein)	9,69

Perubahan Komposisi Lipid Fraksi pada Perkecambahan Biji Wijen

Gambar 1 menunjukkan aktivitas lipase yang mempunyai kecenderungan meningkat pada awal perkecambahan dan aktivitas tertinggi terjadi pada hari ke 3 sekitar 106 unit/mg total protein. Kemudian terjadi penurunan secara bertahap hingga hari ke 5 dengan aktivitas sebesar 69 unit/mg total protein dengan penurunan sekitar 37%. Pola perubahan aktivitas lipase ini ada kesamaan dengan jenis cerealia seperti gandum, barley (Urquhart *et al.*, 1984) dan pada jagung (*Zea mays* L.) (Wang and Huang 1987).



Gambar 1. Perubahan aktivitas lipase dan non-polar lipid selama perkecambahan wijen

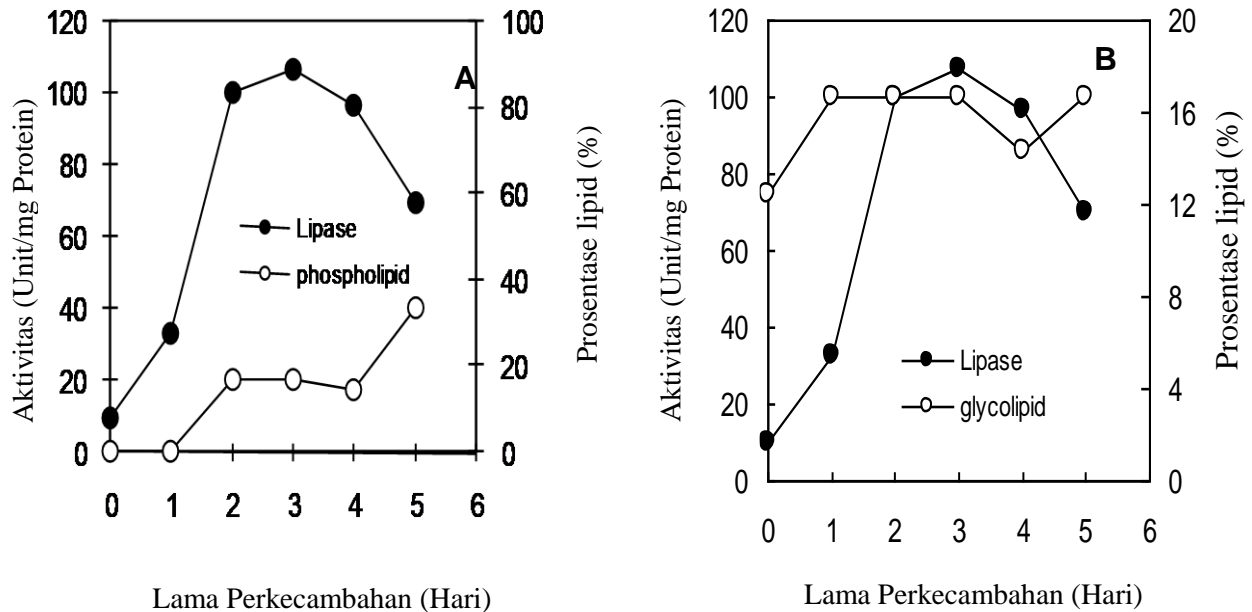
Pada awal perkecambahan aktivitas meningkat sangat cepat, hal ini dimungkinkan karena awal perkecambahan lipase berfungsi untuk mendegradasi lipid yang tersimpan selama masa perkecambahan. Penurunan aktifitas lipase hingga hari ke-5 yang diduga disebabkan oleh lepasnya karbon asam diacylglycerol dan monoglycerol. Pada **Gambar 1** terlihat penurunan jumlah fraksi NL terjadi mulai awal perkecambahan sampai hari ke 5 dengan

lemak bebas untuk mendukung pertumbuhannya. Karena lipid yang berupa triasilgliserol adalah sumber carbon dan energi yang efisien selama perkecambahan benih (Buchanan *et al.*, 2000). Hasil tersebut diperkuat dengan meningkatnya perubahan fraksi non-polar lipid (**Gambar 1**) seperti free fatty acids, penurunan sekitar 52%. Nonpolar lipid paling utama adalah tryacylglycerol yang merupakan penyimpan minyak pada benih semakin menurun dengan bertambahnya

waktu perkecambahan. Hal ini dikarenakan aktifnya pertumbuhan wijen untuk berkecambah dengan melepaskan karbon dari asam lemak yang digunakan untuk pertumbuhannya (Buchanan *et al.*, 2000).

Komposisi fraksi lipid (GL dan PL) selama perkecambahan wijen menunjukkan pola yang berbeda (**Gambar 2A dan B**) dimana

GL dan PL mempunyai komposisi yang lebih rendah dibandingkan dengan NL, selisih yang timbul kurang lebih sebesar 80%. Hal ini berbeda dengan **Gambar 2B** dimana perubahan fraksi glycolipid relatif tidak berubah dengan kisaran komposisi sekitar 12-16% dari total lipid untuk setiap fase perkecambahan.



Gambar 2. Perubahan aktivitas lipase, glycolipids dan phospholipids selama perkecambahan wijen

Hubungan Antara Aktivitas Lipase dan Komposisi Fraksi Lipids

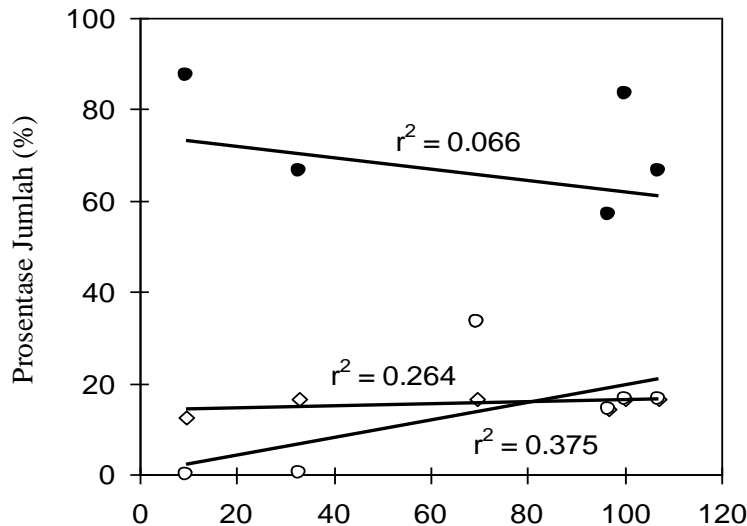
Hubungan antara aktivitas lipase dengan komposisi fraksi lipid selama masa perkecambahan wijen terlihat pada **Gambar 3**. Aktivitas lipase dan komposisi fraksi non polar lipid membentuk suatu korelasi negatif sesuai dengan sifat umum lipase yang berfungsi menghidrolisis atau memecah triacylglycerol atau diacylglycerol menjadi monoacylglycerol dan free fatty acids. Berdasarkan persamaan regresi untuk non-polar lipid mempunyai nilai slop yang relatif besar 0,125 dengan nilai $r^2=0,066$ jika dibandingkan dengan nilai slop yang diperoleh pada glycolipid sebesar 0,023 dengan nilai $r^2=0,264$. Hal ini dapat dikatakan bahwa komposisi non-

polar lipid selama perkecambahan wijen dipengaruhi oleh tingkat aktivitas lipase tetapi nilai signifikan rendah bila dilihat dari nilai r^2 . Sedangkan untuk komposisi fraksi glycolipid terlihat linear, hal ini berarti bahwa tingkat aktivitas lipase tidak non signifikan terhadap perubahan glykolipid. Hal ini dapat dijelaskan bahwa glycolipid selama masa pertumbuhan embrio membutuhkan energi dari jenis yang mudah digunakan dalam bentuk fruktosa atau glukosa dari pada dalam bentuk sugar yang ester.

Gambar 3 juga menunjukkan adanya korelasi positif yang relatif besar (r^2) yaitu 0,375 antara aktivitas lipase dengan perubahan komposisi fraksi phospholipids. Phospholipid semakin

meningkat seiring waktu perkecambahan, ini disebabkan oleh sel mengalami pertumbuhan selama perkecambahan, sehingga terjadi sintesis phospholipid

dalam membran sel yaitu pada retikulum endoplasma selama pertumbuhan kecambah berlangsung (Campbell *et al.*, 2000).



Gambar 3. Hubungan antara aktivitas lipase dengan perubahan komposisi fraksi lipid selama masa perkecambahan wijen. ● NL; ○, PL and ◇, GL.

KESIMPULAN

Degradasi non polar lipida (NL) dan peningkatan fraksi Phospholipida (PL) dan glikolipida (GL) selama perkecambahan wijen tidak dikendalikan oleh tingkat aktivitas lipase. Namun demikian, dapat dinyatakan bahwa wijen mungkin memiliki lipase yang lain di dalam sel dimana molekul minyak berada, yang menghidrolisis lipid dari minyak selama perkecambahan

DAFTAR PUSTAKA

Anderson JW and Beardall J (1991). *Molecular Activity of Plant Cells*. Blacwell Scientific Publications. Oxford.

Bligh EG and Dyer WJ (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.

Buchanan BB, Grussem W dan Jones RL (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*. Monona Drive. Rockville. USA.1367p

Bradford MM (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem*. 72, 248-254.

Brar GS and Ahuja KL (1979). Sesame: its culture, genetics, breeding and biochemistry p. 245-313. In: Malik, C.P.(ed). *Annu Rev of Plant Sci* Kalyani Publishers. New Delhi.

Brar GS (1982). Variations and Correlations in oil content and fatty acid composition of sesame. *Indian J Agric Sci* 52: 434-439.

Campbell NA, Reece JB dan Mitchell LG (2000). *Biologi Edisi Kelima Jilid 1*. Penerbit Erlangga. Jakarta.

- Chang RC, Chen JC and Shaw JF (1996). Studying The Active Site Pocket of Staphylococcus hycus Lipase by Site Directed Mutagenesis. *Biochem Biophy Res Comm* 229 : 6-10.
- Schmid RD dan Verger R (1998). Lipase: Interfacial enzymes with attractive applications. *Angew Chem Int* 37 : 1608-1633.
- Urquhart AA, Brumell CA, Altosaar I, Matlashewski GJ, and Sahasrabudhe MR (1984). Lipase activity in oats during grain maturation and germination. *Cereal Chem* 61:105-108.
- Wang SM and Huang AHC (1987). Biosynthesis of lipase in the scutellum of maize kernel. *J Biol Chem* 262:2270-2274.
- Yermanos DM, Hemstreet S, Saeed W and Huszar CK (1972). Oil Content and Composition of Seed In The Word Collection of Sesame Introduction. *JAOS* 49: 20-23.