

ISOLASI ENZIM AMILASE DARI KECAMBAH KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*)

Elvina Maitri Pratantie¹⁾, V. Priyo Bintoro²⁾, Bambang Dwiloka³⁾

¹⁾Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang; Telp.024-7460024. Email: thiorongyuan.168@gmail.com

²⁾Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang; Telp.024-7460024. Email: vepebe@yahoo.com

³⁾Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang; Telp.024-7460024. Email: bdl_consulting@yahoo.com

Abstrak

Enzim amilase merupakan enzim yang berperan dalam proses pencernaan. Enzim amilase terdapat pada kecambah dari kacang-kacangan seperti kacang tunggak. Kacang tunggak merupakan salah satu jenis tanaman kacang-kacangan yang memiliki sumber protein nabati yang tinggi serta memiliki jumlah yang melimpah di Indonesia. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi garam amonium sulfat dan lama inkubasi perkecambahan kacang tunggak yang optimal terhadap aktivitas enzim amilase. Penelitian dengan lama inkubasi perkecambahan kacang tunggak yang terdiri dari lima tingkatan yaitu 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam, dan 48 jam. Berdasarkan uji statistik yang dilakukan lama perkecambahan 24 jam menghasilkan aktifitas amilase $6,20 \pm 0,62$ Unit/mL, protein $132,09 \pm 1,86$ mg/mL, aktifitas spesifik $0,047 \pm 0,004$ Unit/mg, dan pH $6,08 \pm 0,10$; 30 jam menghasilkan aktifitas amilase $5,67 \pm 0,26$ Unit/mL, protein $103,93 \pm 2,32$ mg/mL, aktifitas spesifik $0,055 \pm 0,002$ Unit/mg, dan pH $6,15 \pm 0,10$; 36 jam menghasilkan aktifitas amilase $5,79 \pm 0,38$ Unit/mL, protein $72,19 \pm 1,34$ mg/mL, aktifitas spesifik $0,080 \pm 0,004$ Unit/mg, dan pH $6,33 \pm 0,05$; 42 jam menghasilkan aktifitas amilase $3,11 \pm 0,28$ Unit/mL, protein $75,31 \pm 2,53$ mg/mL, aktifitas spesifik $0,041 \pm 0,004$ Unit/mg, dan pH $6,15 \pm 0,10$; dan 48 jam menghasilkan aktifitas amilase $5,98 \pm 1,11$ Unit/mL, protein $112,60 \pm 7,07$ mg/mL, aktifitas spesifik $0,054 \pm 0,013$ Unit/mg, dan pH $6,03 \pm 0,10$. Hasil perkecambahan 36 jam menghasilkan aktifitas spesifik terbanyak.

Kata kunci: Amilase, Enzim, Kacang Tunggak.

Abstract

Amylase is an enzyme that plays a role in digestion. Cowpea is a type of legume plant that has a high source of vegetable protein in Indonesia. The aim of this study was to determine the effect of the ammonium sulfate concentration and the optimal incubation time for cowpea germination on the activity of the amylase enzyme. Research with cowpea germination incubation duration consisted of 24 hours, 30 hours, 36 hours, 42 hours, and 48 hours. Based on statistical tests carried out, the 24 hour resulted in amylase activity $6,20 \pm 0,62$ Unit/mL, protein $132,09 \pm 1,86$ mg/mL, specific activity $0,047 \pm 0,004$ Unit/mg, and pH $6,08 \pm 0,10$; 30 hours resulted in amylase activity $5,67 \pm 0,26$ Unit/mL, protein $103,93 \pm 2,32$ mg/mL, specific activity $0,055 \pm 0,002$ Unit/mg, and pH $6,15 \pm 0,10$; 36 hours resulted in amylase activity $5,79 \pm 0,38$ Unit/mL, protein $72,19 \pm 1,34$ mg/mL, specific activity $0,080 \pm 0,004$ Unit/mg, and pH $6,33 \pm 0,05$; 42 hours resulted in amylase activity $3,11 \pm 0,28$ Unit/mL, protein $75,31 \pm 2,53$ mg/mL, specific activity $0,041 \pm 0,004$ Unit/mg, and pH $6,15 \pm 0,10$; and 48 hours resulted in amylase activity $5,98 \pm 1,11$ Unit/mL, protein $112,60 \pm 7,07$ mg/mL, specific activity $0,054 \pm 0,013$ Unit/mg, and pH $6,03 \pm 0,10$. The result of the research pointed that 36 hours of germination produced the most specific activity of amylase.

Keywords: Amylase, Cowpea, Enzyme.

1. PENDAHULUAN

Enzim amilase merupakan Salah satu enzim yang terdapat dalam tubuh dimana merupakan enzim yang berperan dalam proses pencernaan, terutama terdapat pada pankreas dan kelenjar ludah, dan diklasifikasikan dalam saccharidase atau enzim yang memotong polisakarida. Enzim amilase merupakan enzim yang proses kerjanya yaitu dengan mengkatalis hidrolisis

dari alfa-1,4-glikosidk polisakarida untuk menghasilkan dekstrin, oligosakarida, maltosa, dan D-glukosa. Amilase juga dapat berasal dari hewan, jamur, dan sumber tanaman (Ariandi, 2016). Enzim amilase dapat terdapat pada kecambah dari kacang-kacangan seperti kacang tunggak. Enzim amilase terdapat pada kecambah kacang-kacangan dikarenakan enzim dalam biji dibentuk pada masa awal perkecambahan oleh giberelin (Suarni dan Patong, 2007). Giberelin

merupakan suatu senyawa organik yang dapat membantu proses perkecambahannya dikarenakan sebagai agen penginduksi perkecambahannya. Giberelin banyak berperan dalam proses fisiologi tanaman seperti pembentangan dan pembelahan sel, pemecahan dormansi biji sehingga biji dapat berkecambah, dan memobilisasi endosperm cadangan selama awal pertumbuhan embrio (Asra dan Ubaidillah, 2012). Giberelin merangsang pemanjangan batang kecambah dengan menginduksi pembentukan enzim amilase yang menghidrolisis pati dan meningkatkan kadar gula serta tekanan osmosis cairan sel. Air yang masuk dalam sel sehingga sel memanjang dan turut serta meningkatkan panjang dari batang (Setiawan dan Wahyudi, 2014).

Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) atau biasa disebut dengan kacang tolo merupakan tanaman kacang-kacangan yang telah lama dibudidayakan di Indonesia yang termasuk dalam keluarga Leguminosae. Kacang tunggak merupakan tanaman yang diperkirakan berasal dari daerah Afrika Barat (Trustinah, 1998). Tanaman ini termasuk salah satu anggota famili *leguminosae* dengan kingdom *Plantae*, divisio *Spermatophyta*, subdivisio *Angiospermae*, class *Dicotyledoneae*, ordo *Polyetalae*, famili *Leguminosae*, subfamili *Papilionaceae*, genus *Vigna*, spesies *V. unguiculata*, varietas KT-1, KT-2, KT-3, KT-4, dsb. (Wahid *et al.*, 2020).

Perkecambahannya merupakan proses muncul dan berkembangnya radikula dan plumula dari benih ataupun biji (Marthen *et al.*, 2013). Radikula dan plumula merupakan struktur yang pertama kali muncul dan merobek selaput yang ada pada biji yang berasal dari bagian hipokotil (Suryanto dan Heri, 2013). Radikula berbeda dengan plumula dikarenakan radikula merupakan calon akar sedangkan plumula merupakan calon pucuk daun (Rosadi *et al.*, 2019). Perkecambahannya sendiri merupakan keadaan dimana benih biji mulai dapat mengambil unsur hara sendiri dengan benih yang masih tergantung kepada sumber makanan dari induknya atau dapat diartikan bahwa perkecambahannya merupakan permulaan munculnya pertumbuhan suatu biji menjadi semai/ tanaman (Sunarlim *et al.*, 2012). Proses perkecambahannya dimuali dengan diserapnya air dan inhibisi oleh biji/ embrio. Perkecambahannya dapat terjadi apabila substrat seperti karbohidrat, protein, dan lemak sebagai penyedia energi akan digunakan dalam proses morfologi seperti pemunculan organ-organ tanaman (Wusono *et al.*, 2015).

2. MATERI DAN METODE

Penelitian telah dilakukan pada tanggal 12 Oktober-30 Oktober 2020 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro untuk pembuatan Enzim

Amilase Dari Kecambah Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*).

2.1. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan enzim amilase adalah kecambah dari kacang tunggak yang berasal dari pasar desa Sukorejo, akuades, garam amonium sulfat, DNS (3,5 asam dinitrosalisilat), buffer sulfat 0,2 M pH 7. Peralatan yang akan digunakan adalah gelas ukur, kapas, kertas saring, labu ukur, pH meter, blender, sentrifuge, neraca analitik, almari pendingin, stopwatch, inkubator, botol vial, rak tabung reaksi, filter, spektrofotometer UV-VIS.

2.2. Rancangan Percobaan

Penelitian merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lama inkubasi perkecambahannya kacang tunggak yang terdiri dari lima tingkatan yaitu 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam, dan 48 jam pada suhu ruang atau berkisar pada suhu 25-35 °C yang mengacu pada Hustiany *et al.* (2019), pembuatan interval lama inkubasi perkecambahannya bertujuan untuk mengetahui lama inkubasi perkecambahannya paling optimal dalam menghasilkan enzim amilase.

2.3. Prosedur

Penelitian dimulai dengan persiapan proses perkecambahannya kacang tunggak, pembuatan ekstrak kecambah kacang tunggak, presipitasi enzim amilase dengan garam amonium sulfat, serta pengujian aktifitas enzim amilase pada hasil supernatan dan hasil presipitasi dengan garam amonium sulfat sesuai rancangan penelitian yang mengacu pada Wahjuni *et al.* (2017).

2.3.1. Proses Perkecambahannya

Kacang tunggak direndam dalam akuades selama 24 jam. Kacang yang telah direndam ditiriskan dan dimasukkan dalam gelas beaker yang telah diisi kapas basah sebagai media perkecambahannya selanjutnya ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama 24 jam (T1), 30 jam (T2), 36 jam (T3), 42 jam (T4), dan 48 jam (T5).

2.3.1. Pembuatan Ekstrak

Kecambah kacang tunggak (T1), (T2), dan (T3), (T4), dan (T5) diblender dengan masing-masing ditambahkan buffer fosfat pH 7. Bubur kecambah disaring dan didekantasi hingga terpisah antara filtrat dan endapan patinya. Filtrat diambil dan disentrifuge dengan putaran 2000 rpm selama 15 menit, didapatkan supernatan berupa enzim amilase (ekstrak kasar).

2.3.1. Presipitasi Amilase dengan Garam Amonium Sulfat

Enzim amilase dimurnikan dari supernatan dengan metode *salting out* menggunakan garam amonium

sulfat. Garam amonium sulfat diberikan dengan konsentrasi 50%. Bahan pengendap dimasukan dalam gelas kimia yang sebelumnya telah berisi supernatan pada suhu 2-4 °C sembari diaduk dengan stirer hingga homogen. Larutan didinginkan pada suhu 3-5°C selama 24 jam hingga terjadi koagulasi. Endapan akan diperoleh dengan sentrifuge pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit sebanyak 4 kali. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat pH 7.

2.4. Pengujian Parameter

2.4.1. Uji Aktifitas Amilase dengan Metode Asam Dinitrosalisilat (DNS)

- **Penentuan Kurva Standar Glukosa**

Penentuan kurva standar glukosa mengacu pada Wahjuni *et al.* (2017). Uji aktifitas amilase menggunakan metode DNS dengan baku standar dibuat dengan dimasukkannya larutan glukosa dalam tabung reaksi dimasukan masing-masing konsentrasi 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, dan 50 mg/mL sebanyak 1 ml. Dalam setiap tabung ditambahkan reagen DNS 1,5 ml. Tabung reaksi dimasukan dalam inkubator pada suhu 100°C selama 10 menit. Untuk blanko dicampurkannya 1 ml akuades dan 1,5 ml reagen DNS. Selanjutnya diukur absorbansi dari larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515,6 nm.

- **Uji Aktifitas Amilase**

Uji Aktifitas Amilase kecambah kacang tunggak mengacu pada Wahjuni, *et al.* (2017). Uji kuantitatif amilase menggunakan metode spektrofotometri dengan reagen DNS. Sampel disiapkan dengan mereaksikan 1 ml sampel dengan 1 ml substrat dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7 dan divortex untuk menghomogenkan larutan. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada temperatur 70°C. Dalam larutan sampel 1 ml ditambah 1,5 ml reagen DNS. Campuran dihomogenkan dengan vortex. Diinkubasi kembali pada suhu 100°C selama 10 menit. Campuran didinginkan pada suhu ruang selama 20 menit, setelah dingin larutan dimasukan dalam vial dan diukur absorbansinya pada gelombang maksimal 515,6 nm. Aktivitas enzim amilase dinyatakan dalam unit per ml.

$$\text{Aktivitas enzim amilase} = \frac{\text{Glukosa}}{\text{BM Glukosa}} \times 1000 \times \frac{1}{T}$$

BM Glukosa = 180

1000 = konversi ppm ke µg

T = Waktu Inkubasi (menit)

2.4.2. Uji Protein dengan Metode Lowry

- **Penentuan Kurva Standar Protein**

Penentuan kurva standar protein mengacu pada Harjanoto (2017). Uji aktifitas amilase menggunakan metode lowry dengan baku standar dibuat dengan dimasukkannya larutan Bovine Serum Albumine (BSA)

dalam tabung reaksi dimasukan masing-masing konsentrasi 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, dan 50 mg/mL sebanyak 1 ml. Dalam setiap tabung larutan lowry B sebanyak 8 ml dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu ruang selama 10 menit. Selanjutnya tambahkan 1 ml larutan lowry A dan homogenkan kemudian diamkan selama 20 menit. Untuk blanko dicampurkannya 1 ml akuades dengan larutan lowry B sebanyak 8 ml dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu ruang selama 10 menit. Selanjutnya tambahkan 1 ml larutan lowry A dan homogenkan kemudian diamkan selama 20 menit. Selanjutnya diukur absorbansi dari larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

- **Uji Protein**

Uji protein kecambah kacang tunggak mengacu pada Harjanoto (2017). Uji protein dengan Metode Lowry, dengan cara larutan sampel sebanyak 1 ml dimasukan dalam tabung raksi. Dalam setiap tabung larutan lowry B sebanyak 8 ml dan homogenkan kemudian diamkan pada suhu ruang selama 10 menit. Selanjutnya tambahkan 1 ml larutan lowry A dan homogenkan kemudian diamkan selama 20 menit. Selanjutnya diukur absorbansi dari larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

2.4.3. Aktifitas Spesifik

Penentuan aktivitas spesifik enzim amilase kecambah kacang tunggak mengacu pada Suarni dan Patong (2007). Penentuan aktivitas spesifik enzim amilase dengan pembagian jumlah mikromol aktivitas amilase dibagi dengan miligram protein sehingga didapatkan aktifitas spesifik dari enzim.

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{\text{aktivitas amilase}}{\text{protein}}$$

2.4.4. Nilai pH

Penentuan pH enzim amilase kecambah kacang tunggak mengacu pada Bawinto (2015). Penentuan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Dengan sampel ditimbang sebanyak 10 ml dituang kedalam beker glass 10 ml, kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter. Sebelum pH meter digunakan, harus ditera kepekaan jarum penunjuk dengan larutan buffer pH 7. Besarnya pH adalah pembacaan jarum penunjuk pH setelah jarum skala konstan kedudukannya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Aktifitas Amilase

Hasil pengujian aktifitas amilase kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Aktifitas amilase kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda

Perlakuan	Aktifitas Amilase Unit/mL
T1	6,20±0,62 ^b
T2	5,67±0,26 ^b
T3	5,79±0,38 ^b
T4	3,11±0,28 ^a
T5	5,98±1,11 ^b

^{a-b}Superscript berbeda menunjukkan perbedaannya nyata ($p < 0,05$). T₁ = 24 jam, T₂ = 30 jam, dan T₃ = 36 jam, T₄ = 42 jam, T₅ = 48 jam.

Hasil pengujian ANOVA yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) pada perbedaan lama perkecambahan kacang tunggak terhadap nilai aktifitas enzim amilase pada kecambah kacang tunggak. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa lama waktu perkecambahan T1 memiliki kadar aktifitas amilase paling tinggi senilai 6,20±0,62 Unit/mL dibandingkan dengan lama waktu perkecambhana lainnya. Serta lama waktu perkecambahan T4 memiliki kadar aktifitas amilase paling rendah senilai 3,11±0,28 Unit/mL dibandingkan dengan lama waktu perkecambahan lainnya.

Enzim amilase yang dihasilkan oleh kecambah kacang tunggak berasal dari fase perkecambahan. Hal ini sesuai dengan pendapat Asra (2014) bahwa pada masa awal perkecambahan enzim amilase dihasilkan oleh giberelin untuk merombak karbohidrat sebagai sumber energi untuk pertumbuhan kecambah. Produksi enzim amilase akan menurun saat masa peralihan dari fase perkecambahan menjadi fase pertumbuhan pada waktu perkecambahan 24 jam memiliki hasil tertinggi dan selanjutnya mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan pendapat Bahri *et al.* (2012) bahwa produksi amilase mengalami penurunan pada waktu perkecambahan 36-54 jam dikarenakan fase perkecambahan beralih menjadi fase pertumbuhan.

Terbentuknya amilase berasal dari terjadinya imbibisi atau diserapnya air pada biji-bijian yang kering, penyerapan air menyebabkan biji menjadi mengembang dan membesar. Hal ini sesuai dengan pendapat Hedty *et al.* (2014) bahwa proses penyerapan air dalam ruang intraseluler dalam biji disebut dengan imbibisi. Air akan memicu hormon giberelin, hormon giberelin akan memicu sel-sel aleuron untuk memproduksi amilase. Hal ini sesuai dengan pendapat Permatasari *et al.* (2016) bahwa penggunaan air untuk merendam biji efektif untuk memicu perkecambahan dan pembentukan hormon pertumbuhan seperti giberelin. Inkubasi kecambah kacang tunggak dilakukan untuk menghasilkan enzim amilase pada masa perkecambahan. Hal ini sesuai dengan pendapat Setiawan dan Wahyudi (2014) bahwa enzim amilase diinduksi oleh giberelin untuk menghidrolisis pati

untuk merangsang pemanjangan dari kecambah. Pemberian garam amonium sulfat bertujuan untuk memurnikan enzim dengan mengendapkan protein-protein. Garam amonium sulfat memiliki kelarutan yang cukup tinggi serta tidak merusak dan dapat menstabilkan enzim yang ada. Ion-ion garam amonium sulfat berebut dengan protein untuk menyerap air sehingga protein-protein enzim menghasilkan gumpalan. Hal ini sesuai dengan pendapat Alviyulta *et al.* (2014) bahwa ion garam amonium sulfat berkompetisi dengan protein yang ada dalam menarik molekul air sehingga air yang mengeliling protein enzim sehingga protein-protein enzim akan berkumpul dan menghasilkan gumpalan. Pemurnian enzim dilakukan pada suhu rendah untuk mencegah terjadinya kerusakan.

3.2. Protein

Hasil pengujian protein kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Kadar protein kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda

Perlakuan	Protein mg/mL
T1	132,09±1,86 ^d
T2	103,93±2,32 ^b
T3	72,19±1,34 ^a
T4	75,31±2,53 ^a
T5	112,60±7,07 ^c

^{a-d}Superscript berbeda menunjukkan perbedaannya nyata ($p < 0,05$). T₁ = 24 jam, T₂ = 30 jam, dan T₃ = 36 jam, T₄ = 42 jam, T₅ = 48 jam.

Hasil pengujian ANOVA yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) pada perbedaan lama perkecambahan kacang tunggak terhadap nilai protein pada kecambah kacang tunggak. Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa lama waktu perkecambahan T1 memiliki kadar protein paling tinggi senilai 132,09±1,86 mg/mL dibandingkan dengan lama waktu perkecambhana lainnya. Serta lama waktu perkecambahan T3 memiliki kadar protein paling rendah senilai 72,19±1,34 mg/mL dibandingkan dengan lama waktu perkecambahan lainnya.

Protein yang terdapat pada kecambah lambat laun mengalami penurunan dikarenakan protein makro mengalami perombakan selama masa perkecambahan menjadi asam amino. Hal ini sesuai dengan pendapat Martiningsih *et al.* (2016) bahwa dalam masa perkecambahan protein makro dalam kecambah akan dipecah menjadi asam amino. Protein mengalami penurunan kandungannya pada masa pertumbuhan dikarenakan protein yang ada digunakan untuk membentuk struktur tubuh tumbuhan pada masa pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurjanti *et al.* (2018) bahwa pada masa perkecambahan

protein pada kecambah akan mengalami penurunan dikarenakan protein yang ada pada kecambah akan digunakan untuk membentuk struktur biologis pada fase pertumbuhan. Pemurnian protein terjadi dimana protein yang memiliki residu non polar yang tinggi akan mengendap terlebih dahulu. Hal ini sesuai dengan pendapat Atmaja *et al.* (2013) bahwa protein hidrofobitas yang tinggi akan mengendap terlebih dahulu dan protein yang mengandung sedikit residu non polar akan larut dalam pemurnian dengan garam amonium sulfat.

3.3. Aktifitas Spesifik

Hasil pengujian aktifitas spesifik kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Aktifitas spesifik kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda

Perlakuan	Aktifitas Spesifik Unit/mg
T1	0,047±0,004 ^{ab}
T2	0,055±0,002 ^b
T3	0,080±0,004 ^c
T4	0,041±0,004 ^a
T5	0,054±0,013 ^b

^{a-c}Superscript berbeda menunjukkan perbedaannya nyata ($p < 0,05$). T₁= 24 jam, T₂= 30 jam, dan T₃=36 jam, T₄= 42 jam, T₅= 48 jam.

Hasil pengujian ANOVA yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) pada perbedaan lama perkecambahan kacang tunggak terhadap nilai aktifitas spesifik amilase pada kecambah kacang tunggak. Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa lama waktu perkecambahan T3 memiliki kadar aktifitas spesifik paling tinggi senilai 0,080±0,004 Unit/mg dibandingkan dengan lama waktu perkecambhana lainnya. Serta lama waktu perkecambahan T4 memiliki kadar aktifitas amilase paling rendah senilai 0,041±0,004 Unit/mg dibandingkan dengan lama waktu perkecambhana lainnya.

Aktifitas spesifik enzim amilase tertinggi ada pada perkecambahan 36 jam menandakan bahwa pada perkecambahan 36 jam memiliki tingkat kemurnian tertinggi dibandingkan dengan lama waktu perkecambahan lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Yogaswari *et al.* (2016) bahwa aktifitas spesifik yang semakin tinggi dikarenakan enzim yang diperoleh semakin murni. Meningkatnya aktifitas spesifik enzim dikarenakan konsentrasi enzim pada perkecambahan 36 jam yang tinggi dibandingkan dengan perkecambahan lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Sya'bani *et al.*, (2017) bahwa aktifitas spesifik enzim tergantung pada kondisi tertentu seperti suhu, pH, dan konsentrasi.

3.4. Nilai pH

Hasil pengujian nilai pH kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Nilai pH kecambah kacang tunggak dengan lama perkecambahan yang berbeda

Perlakuan	Nilai pH
T1	6,08±0,10 ^a
T2	6,15±0,10 ^a
T3	6,33±0,05 ^b
T4	6,15±0,10 ^a
T5	6,03±0,10 ^a

^{a-b}Superscript berbeda menunjukkan perbedaannya nyata ($p < 0,05$). T₁= 24 jam, T₂= 30 jam, dan T₃=36 jam, T₄= 42 jam, T₅= 48 jam.

Hasil pengujian ANOVA yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) pada perbedaan lama perkecambahan kacang tunggak terhadap nilai pH pada kecambah kacang tunggak. Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa lama waktu perkecambahan T5 memiliki pH paling rendah senilai 6,03±0,10 dibandingkan dengan lama waktu perkecambhana lainnya. Serta lama waktu perkecambahan T3 memiliki pH paling tinggi senilai 6,33±0,05 dibandingkan dengan lama waktu perkecambahan lainnya.

pH berbanding lurus dengan aktifitas spesifik enzim. Enzim memiliki muatan positif dan negatif, dimana akan mengalami keseimbangan apabila memiliki pH yang seimbang pula. Keseimbangan muatan ini mempengaruhi jumlah aktifitas spesifik enzim. Hal ini sesuai dengan pendapat Sawitri, *et al.* (2008) bahwa aktifitas enzim akan optimal apabila terdapat kesetimbangan antara ion. Aktifitas enzim berkaitan dengan struktur yang ada pada enzim, struktur yang mengalami perubahan dapat menyebabkan perubahan aktifitas enzim. pH yang kurang optimum dapat menyebabkan perubahan struktur yang ada pada enzim yang dapat menyebabkan aktifitas enzim menjadi kurang optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Pramiadi, *et al.* (2014) bahwa pH mempengaruhi struktur yang ada pada enzim yang dapat mempengaruhi nilai aktifitas dari enzim.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Lama perkecambahan kacang tunggak sampai dengan 48 jam meningkatkan nilai aktifitas enzim amilase, protein, aktifitas spesifik dan pH. Dengan lama perkecambahan 36 jam menghasilkan aktifitas spesifik terbanyak.

4.2. Saran

Pada penelitian lebih lanjut dapat dilakukan penelitian pembuatan enzim amilase dari kecambah kacang

tunggak berupa sebuk sehingga dapat dikomersilkan secara luas.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Alvyulita, M., Hasibuan, P. R. M., & Hanum, F., 2014. Pengaruh penambahan amonium sulfat & waktu perendaman buffer fosfat terhadap perolehan crude papain dari daun pepaya (*carica papaya* L.). Jurnal teknik kimia. 3: 8-12.
- Ariandi, A., 2016. Pengenalan enzim amilase (alpha-amylase) & reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. Jurnal Dinamika. 7: 74-82.
- Asra, R., 2014. Pengaruh Hormon Giberelin (GA3) Terhadap Daya Kecambah & Vigoritas *Calopogonium caeruleum*. Jurnal biopecies. 7: 29-33.
- Asra, R. & Ubaidillah, U., 2012. Pengaruh konsentrasi giberelin (GA3) terhadap nilai nutrisi *Calopogonium caeruleum*. Jurnal Ilmu-ilmu peternakan. 15: 81-85.
- Atmaja, D. S., Wuryanti, W., & Anam, K., 2013. Isolasi, Purifikasi & Karakterisasi A-Amilase dari *Trichoderma Viride* FNCC 6013. Jurnal chemical info. 1: 85-93.
- Bahri, S., Mirzan, M., & Hasan, M., 2012. Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina* L.). Jurnal natural science. 1: 132-143.
- Bawinto, A. S., Mongi, E., & Kaeseger, B. E., 2015. Analisa kadar air, pH, organoleptik, & kapang pada produk ikan tuna (*Thunnus* Sp) asap, di kelurahan girian bawah, kota Bitung, Sulawesi Utara. Jurnal media teknologi hasil perikanan. 3: 55-65.
- Harjanto, S., 2017. Perbandingan pembacaan absorbansi menggunakan spectronic 20 D+ & spectrophotometer UV-Vis T 60U dalam penentuan kadar protein dengan larutan standar BSA. Jurnal kimia sains & aplikasi. 20: 114-116.
- Hedty, H., Mukarlina, M., & Turnip, M., 2014. Pemberian H₂SO₄ & Air Kelapa pada Uji Viabilitas Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.). Jurnal protobiont. 3: 7-11.
- Hustiany, R., Wati, N. W., Rahmawati, E., Rahmi, A., & Susi, S., 2019. Karakteristik tepung kecambah kacang nagara (*Vigna unguiculata* ssp *cylindrica*) pada skala kecil & scale up. Jurnal teknologi industri pertanian. 29: 222-232.
- Marthen, M., Kaya, E., & Rehatta, H., 2013. Pengaruh perlakuan pencelupan & perendaman terhadap perkecambahan benih sengon (*Paraserianthes falcataria* L.). Jurnal agrologia. 2: 10-16.
- Martiningsih, N., Sudrajat, H. W., & Darlian, L., 2016. Analisis Kandungan Protein Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus* L.) Terhadap Variasi Waktu Perkecambahan. Jurnal ampibi. 1: 38-42.
- Nurjanti, M., Winarsi, H., & Dwiyantri, H., 2018. Efek lama perkecambahan terhadap sifat sensori & kadar protein terlarut susu kecambah kacang merah (Sukarah) untuk remaja obesitas. Jurnal gipas. 2: 27-42
- Permatasari, D. A., Rahayu, Y. S., & Ratnasari, E., 2016. Pengaruh pemberian hormon giberelin terhadap pertumbuhan buah secara partenokarpi pada tanaman tomat varitas tomatu F1. Jurnal lenterabio. 5: 25-31.
- Pramiadi, D., Yulianti, E., & Rakhmawati, A., 2014. Isolasi & uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi. Jurnal sains dasar. 3: 9-19.
- Rosadi, H., Payung, D., & Naemah, D., 2019. Uji daya kecambah benih aren (*arenga pinnata* Merr.). Jurnal sylvia scienteae. 2: 844-853.
- Sawitri, M. E., Manab, A., Palupi, T. W. L., 2008. Kajian Penambahan Gelatin Terhadap Keasaman, Ph, Daya Ikat Air & Sineresis Yogurt. Jurnal Ilmu & Teknologi Hasil Ternak. 3: 35-42.
- Setiawan, S. & Wahyudi, A., 2014. Pengaruh giberelin terhadap pertumbuhan beberapa varietas lada untuk penyediaan benih secara cepat. Jurnal Bul. Littro. 25: 111-118.
- Suarni, S. & Patong, R., 2007. Potensi kecambah kacang hijau sebagai sumber enzim a-amilase. Indo. Jurnal Chem. 7: 332-336.
- Sunarlim, N., Zam, S. I., & Purwanto, J., 2012. Pelukaan benih & perendaman dengan atonik pada perkecambahan benih & pertumbuhan tanaman semangka non biji (*Citrullus vulgaris* Schard L.). Jurnal agroteknologi. 2: 29-32.
- Suryanto, S. & Heri, H., 2013. Pengaruh Beberapa Perlakuan Penyimpanan Terhadap Perkecambahan Benih Suren (*Toona sureni*). Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea. 2: 30-31.
- Sya'bani, N., Astuti, W., & Pratiwi, D. R., 2017. Isolasi & karakterisasi lipase dari kecambah biji alpukat (*Persea americana* Mill). Jurnal atomik. 2: 209-212.
- Trustunah, T., 1998. Biologi kacang tunggak. Monograf balitkabi. 1: 1-19.

- Wahid M., Uslan, U., & Basri, K. I., 2020. Pengembangan bio-booklet melalui pendekatan morfologi & kadar klorofil famili leguminosae untuk sumber belajar. *Jurnal biosains & edukasi*. 2: 12-16.
- Wahjuni, S., Suarya, P., & Saputra, I. M. A., 2017. Isolasi enzim amilase dari kecambah biji jagung lokal seraya (*Zea mays* L.) untuk hidrolisis pati. *Jurnal Kimia*. 11: 122-128.
- Wusono, S., Matinahoru, J. M., & Wattimena, C. M. A., 2015. Pengaruh ekstrak berbagai bagian dari tanaman *Swietenia mahagoni* terhadap perkecambahan benih kacang hijau & jagung. *Jurnal agrologia*. 4: 105-113.
- Yogaswari, S. A., Rukmi, M. G. I., & Raharjo, B., 2016. Ekplorasi Bakteri Selulolitik Dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (Pfh) & Limousine Peranakan Ongole (Limpo). *Jurnal biologi*. 5: 70-80.