



Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Urease dari Biji Kacang Panjang (*Vigna unguiculata subsp sesquipedalis* L.)

Zusfahair^{a*}, Dian Riana Ningsih^a, Amin Fatoni^a, Darul Santri Pertiwi^a

^aJurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto 53123, Indonesia.

* Corresponding author

E-mail: zusfahair@gmail.com

DOI: 10.20961/alchemy.14.1.13000.72-83

Received 16 April 2017, Accepted 25 August 2017, Published online 1 March 2018

ABSTRAK

Urease merupakan enzim yang digunakan dalam hidrolisis urea menjadi amoniak dan asam bikarbonat dan telah banyak digunakan dalam proses industri. Tujuan penelitian adalah isolasi dan pemurnian urease dari kacang panjang serta karakterisasinya. Penelitian dimulai dengan melakukan perkecambahan biji kacang panjang selama 8 hari. Kecambah biji kacang panjang selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan buffer fosfat pH 7 dan dipisahkan menggunakan sentrifugasi sehingga diperoleh ekstrak kasar urease. Ekstrak kasar urease selanjutnya difraksinasi menggunakan aseton pada tingkat konsentrasi 20, 40, 60 dan 80%. Fraksi yang mempunyai aktivitas spesifik paling tinggi selanjutnya dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE untuk menentukan berat molekulnya dan dikarakterisasi lanjut meliputi: pengaruh suhu, pH, konsentrasi substrat dan penambahan ion logam terhadap aktivitas urease. Aktivitas urease ditentukan dengan metode Nessler. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas spesifik urease dari kacang panjang paling tinggi ditemukan pada fraksi aseton (FA) 20. Hasil analisis berat molekul dengan metode SDS-PAGE diperoleh beberapa pita protein yang diduga berukuran sekitar 25 KDa dan 17 KDa. Kondisi optimum dari aktivitas urease diperoleh pada suhu 30 °C, pH 7 dan konsentrasi urea 16,6 mM dengan nilai aktivitas 407,62 U/mL. EDTA dan ion logam dalam CaCl₂, NaCl, NiCl₂ dan CuCl₂ pada variasi konsentrasi 10⁻³, 10⁻⁴ dan 10⁻⁵ M merupakan inhibitor urease FA 20 dari kacang panjang.

Kata kunci: aseton, kacang panjang, metode SDS-PAGE, urease

ABSTRACT

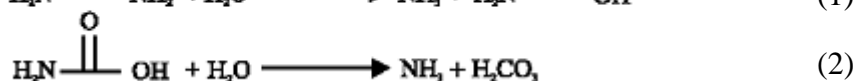
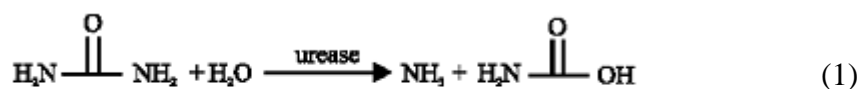
Partial Purification and Characterization of Urease from Asparagus Bean (*Vigna unguiculata subsp sesquipedalis* L.). Urease is an enzyme used in urea hydrolysis to ammonia and bicarbonate acid and has been widely used in industrial processes. The study focused on isolation and purification of urease from asparagus beans and its characterization. The study was started with germination of asparagus beans for 8 days. Germinated asparagus beans were further extracted using phosphate buffer pH 7 and separated by centrifugation to obtain a crude extract of urease. The crude extract of urease was further fractionated using acetone at concentrations of 20, 40, 60 and 80%. The fraction with highest specific activity was then analyzed using SDS-PAGE method to determine its molecule weight and characterized further including the influence of temperature, pH, substrate concentration, and metal ion addition to urease activity. The urease activity was determined by the Nessler's method. The results showed that the specific activity of urease from asparagus beans was found with highest activity in fraction of acetone (FA) 20. Analytical result using SDS-PAGE method was obtained some protein bands having molecular weights about 25 KD and 17 KDa. The optimum conditions of urease activity was obtained at 30 °C, pH 7, incubation time 20 min and urea

concentration 16.6 mM with activity value 407.62 U/mL. EDTA and metal ions contained in CaCl₂, NaCl, NiCl₂ and CuCl₂ at concentrations of 10⁻³, 10⁻⁴ and 10⁻⁵ M were FA 20 urease inhibitors.

Keywords: acetone, asparagus beans, SDS-PAGE method, urease

PENDAHULUAN

Urease merupakan enzim yang berperan penting sebagai katalis hidrolisis urea menjadi amoniak dan asam karbamat dan asam karbamat kemudian mengalami reaksi hidrolisis secara spontan membentuk amoniak dan asam karbonat (Banerjee *and* Aggarwal, 2012). Reaksi hidrolisis urea oleh urease dituliskan pada reaksi (1) dan (2).



Urease dapat mendeteksi urea dalam darah atau urine (Kumar *et al.*, 2009), mendeteksi urea dalam susu (Sharma *et al.*, 2008), mendeteksi logam berat, menghilangkan urea dalam minuman beralkohol (Fathima *and* Jayalakshmi, 2012), urease dapat membunuh insektisida dan mempunyai aktivitas antijamur (Carlini *and* Polacco, 2008). Peran urease yang banyak dalam bidang industri perlu dilakukan eksplorasi urease. Urease telah diisolasi dan dimurnikan dari bakteri, jamur dan tanaman (Follmer, 2008). Urease telah dimurnikan dari biji pare (*Momordica charantia*) (Krishna *et al.*, 2011), buncis (*Cicer arietinum* L.) (Sana *et al.*, 2009), biji Syrian mesquite (*Prosopis farcta*) (Hamzah, 2014), strain *Proteus mirabilis* (Mohammed *et al.*, 2014), spesies bakteri Klebsiella (Fathima *and* Jayalakshmi, 2012). Pada penelitian ini telah dilakukan pemurnian parsial urease dari biji kacang panjang.

Kacang panjang merupakan anggota famili Fabacea yang termasuk ke dalam golongan sayuran dan mengandung zat gizi cukup banyak. Kacang panjang adalah sumber protein yang baik, vitamin A, thiamin, riboflavin, besi, fosfor, kalium, vitamin C, folat, magnesium dan mangan (Rahayu *et al.*, 2007). Kacang panjang merupakan tanaman yang melimpah. Kacang panjang selama ini hanya digunakan untuk sayuran. Nilai ekonomi kacang panjang dapat ditingkatkan salah satunya dengan menggunakan kacang panjang sebagai sumber urease. Urease yang diisolasi dari kacang panjang dilakukan pemurnian parsial menggunakan aseton dan selanjutnya dikarakterisasi. Tujuan penelitian adalah pemurnian parsial dan karakterisasi urease dari biji kacang panjang.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, biji kacang panjang (*Vigna unguiculata subsp. sesquipedalis* L.), urea (Merck, Jerman), reagen Nessler (Kalium iodida, MgCl₂, KOH), asam asetat (Merck, Jerman), natrium asetat, natrium fosfat (Merck, Jerman), dinatrium hidrogen fosfat (Merck, Jerman), CuCl₂, CaCl₂, NaCl₂, NiCl₂, EDTA, Tris (hidroksimetil) aminomethane (Merck, Jerman), HCl (Merck, Jerman), aseton (Merck, Jerman). Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat alat gelas ditambah alat penunjang spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), SEM (JEOL JSM type 6510-LA), sentrifuge (Haraeussepatech), seperangkat alat elektroforesis (Bio-Rad).

Isolasi urease dari biji kacang panjang

Tahap perkecambahan (EL-Hefnawy *et al.*, 2014)

Isolasi dilakukan pada bagian biji kacang panjang sebanyak 200 g biji direndam dalam air selama 6 jam, setelah itu ditiriskan dan dimasukkan ke dalam wadah plastik yang telah diisi kapas basah, lalu ditutup dengan *wrapping* dan didiamkan dalam ruang gelap pada suhu ruang 8 hari.

Tahap ekstraksi (Banerjee *and* Aggarwal, 2012)

Kecambah diambil sebanyak 200 g dan dihaluskan menggunakan mortar selanjutnya direndam dalam 800 mL buffer fosfat pH 7 suhu 4 °C dilakukan pengadukan dengan stirrer selama 3 jam hingga dihasilkan 2 lapisan yaitu filtrat dan suspensi. Filtrat dipisahkan dengan menggunakan kain muslin. Filtrat yang didapat disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 15 menit suhu 4 °C. Supernatan yang dihasilkan digunakan sebagai ekstrak kasar.

Fraksinasi aseton

Ekstrak kasar difraksinasi secara bertahap menggunakan aseton pada suhu dingin (-12 °C) dengan konsentrasi aseton 20, 40, 60, 80%. Endapan protein yang diperoleh dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 30 menit. Semua endapan fraksi dilarutkan dengan 30 mL buffer fosfat 0,2 M pH 7. Larutan dialisat disentrifuge selama 10 menit, filtrat yang diperoleh disebut fraksi aseton 20% (FA 30), FA 40, FA 60, dan FA 80. Fraksi aseton selanjutnya diukur aktivitas menggunakan metode Nessler dan kadar protein menggunakan metode Lowry. Ekstrak kasar dan fraksi aseton dengan aktivitas spesifik tertinggi selanjutnya dikarakterisasi meliputi: pengaruh suhu, pH, konsentrasi substrat dan logam terhadap aktivitas urease. Fraksi aseton dengan aktivitas spesifik tertinggi ditentukan juga berat molekul (BM) menggunakan metode SDS-PAGE.

Uji aktivitas urease

Uji aktivitas urease (Jayaraman and Jayaraman, 2004) dilakukan sebagai berikut: sebanyak 1 mL urea konsentrasi 0,1% ditambah 1 mL larutan buffer fosfat pH 7 dimasukkan ke dalam tabung sampel. Sebanyak 0,05 mL larutan urease ditambahkan. Tabung diinkubasi pada suhu 35 °C selama 15 menit. Tabung didinginkan dengan es. Larutan pada tabung sampel ditambah 1 mL 2/3 N H₂SO₄ untuk menghentikan aktivitas enzim urease dan ditambah 1 mL Na-Wolframat untuk menyempurnakan kerja H₂SO₄. Tabung blanko diisi sebanyak 3 mL akuades. Kedua tabung disentrifuse selama 15 menit dan diambil supernatan dengan penyaringan. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Sebanyak 1,5 mL larutan masing-masing tabung sampel dan blanko diambil. Masing-masing larutan sampel dan blanko selanjutnya ditambah 250 µL reagen Nessler. Larutan kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV -Vis pada λ_{maks} 500 nm. Estimasi urease dilakukan menggunakan kurva standar ammonium sulfat. Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai “banyaknya ammonia yang terbentuk (µmol) per mL per menit dari hasil hidrolisis urea oleh urease”.

Karakterisasi enzim

Uji pertama yang dilakukan dalam karakterisasi adalah uji aktivitas urease pada variasi suhu. Penentuan aktivitas urease pada variasi suhu dilakukan sama seperti pada uji aktivitas namun dilakukan pada variasi suhu inkubasi yaitu 25, 30, 35, 40 dan 45 °C. Campuran diinkubasi 15 menit pada pH 7 0,2 M dan diukur aktivitasnya. Pada kondisi suhu optimum dilakukan penentuan aktivitas urease pada variasi pH substrat urea 0,1% pH 5, 6, 7, 8 dan 9 dalam 0,2 M larutan bufer. Pada pH 5 menggunakan buffer sitrat, pH 6 dan 7 menggunakan buffer fosfat, pH 8 dan 9 menggunakan buffer Tris-HCl. Untuk mempelajari pengaruh konsentrasi substrat pada aktivitas urease digunakan konsentrasi urea 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15% dilarutkan pada pH optimum kemudian diinkubasi pada suhu optimum dan diukur aktivitasnya. Untuk mempelajari pengaruh ion-ion logam digunakan sederetan larutan CaCl₂, NiCl₂, NaCl, CuCl₂ dan larutan EDTA pada konsentrasi 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ M. Aktivitas enzim diuji dengan menambahkan 1 mL urea 0,1% dan larutan enzim (0,05 mL enzim + 0,1 mL ion logam + 1,85 mL 0,2 M buffer). Campuran reaksi enzim diatur pada kondisi optimum menggunakan penambahan logam yang ditentukan.

Analisis SDS-PAGE (*Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*)

Analisis SDS-PAGE dilakukan pada kondisi gel poliakrilamida 12% untuk gel bawah dan poliakrilamida 5% untuk gel atas. Fraksi protein yang digunakan untuk analisis

5 μ L. Pita protein dideteksi menggunakan pewarnaan *Coomassie brilliant blue*. Kit penanda molekuler digunakan untuk menentukan BM protein.

Analisis Data

Analisis data menggunakan Anova untuk membedakan variasi pengulangan dan perbedaan antar perlakuan. Variabel tetap adalah, pH, suhu, konsentrasi substrat dan pengaruh logam. Masing-masing variable dianalisis dengan Anova satu faktor secara terpisah dan dilakukan bertahap. Variabel bebas adalah aktivitas urease. Hasil Anova yang menunjukkan perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji Tukey dengan kepercayaan 95%.

PEMBAHASAN

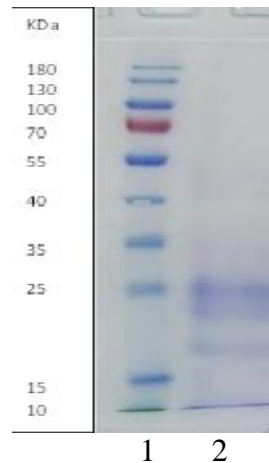
Penelitian dimulai dengan membuat kecambah kacang panjang dengan waktu inkubasi selama 8 hari. Biji kacang panjang kering direndam di dalam air. Proses perendaman menjadikan sel-sel pada jaringan tanaman menjadi aktif tumbuh dikarenakan terjadi proses imbibisi yaitu penyerapan air ke dalam rongga jaringan tanaman. Penumbuhan kecambah dilakukan pada keadaan gelap berfungsi untuk menjaga hormon pertumbuhan yaitu hormon auksin. Hormon auksin merupakan hormon pertumbuhan bagi tanaman yang sangat sensitif terhadap intensitas cahaya matahari, apabila kecambah terkena cahaya matahari dengan intensitas yang tinggi maka akan mengganggu kerja hormon auksin yang menyebabkan pertumbuhan kecambah menjadi terhambat dan dapat mengakibatkan kematian (Dwidjoseputro, 1992). Kecambah kacang panjang selanjutnya diekstraksi dan sentrifugasi pada suhu dingin yang berfungsi untuk mencegah terjadinya denaturasi akibat suhu panas. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim urease yang selanjutnya difraksinasi menggunakan aseton dingin. Ekstrak kasar urease dan fraksi aseton (FA) dilakukan uji aktivitas dan kadar protein (Tabel 1).

Berdasarkan hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa setelah dilakukan fraksinasi setiap fraksi memiliki aktivitas urease dan memiliki aktivitas spesifik yang meningkat. Aktivitas spesifik yang meningkat menunjukkan bahwa enzim yang diperoleh semakin murni. Fraksi dengan aktivitas spesifik tertinggi yaitu FA 20 dengan aktivitas spesifik sebesar $983,793 \pm 19,528$ U/mg. Fraksi ini diduga mempunyai kelarutan yang relatif rendah, dengan kemurnian 7,43 lebih besar dari pada ekstrak kasarnya. Fraksi-fraksi aseton mempunyai kadar protein yang lebih rendah dari pada ekstrak kasarnya, hal ini karena fraksi aseton telah melalui proses pemisahan yang menyebabkan protein nonenzim yang tercampur dalam enzim berkurang.

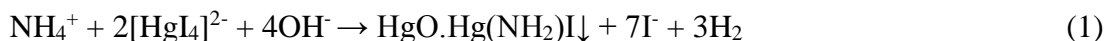
Tabel 1. Data fraksinasi urease dari biji kacang panjang menggunakan aseton

Tahap pemurnian	Aktivitas (U/mL)	Protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Pemurnian
Ekstrak kasar	102,322 ± 3,789	0,773 ± 0,003	132,359 ± 4,332	1,00
FA 20	92,895 ± 0,186	0,094 ± 0,002	983,793 ± 19,528	7,43
FA 40	154,168 ± 1,299	0,381 ± 0,002	404,523 ± 4,307	3,06
FA 60	121,068 ± 1,033	0,550 ± 0,003	220,009 ± 1,332	1,66
FA 80	142,599 ± 1,649	0,366 ± 0,007	389,545 ± 5,412	2,94

Urease dari kacang panjang yang telah difraksinasi menggunakan aseton (FA 20) dan dilanjutkan dengan *freeze dryer* ditentukan berat molekulnya menggunakan SDS-PAGE. Hasil (Gambar 1) menunjukkan bahwa urease dari kacang panjang belum murni dan terdiri dari beberapa pita protein yang diduga berat molekulnya berukuran sekitar 25 KDa dan 17 KDa. Urease dari strain *Proteus mirabilis* terdiri dari beberapa sub unit yang berat molekulnya berukuran 66, 45, 29 dan 15 KDa (Mohammed *et al.*, 2014).

**Gambar 1.** Kromatogram SDS-PAGE. Marker protein (1) urease FA 20 dari kacang panjang (2)

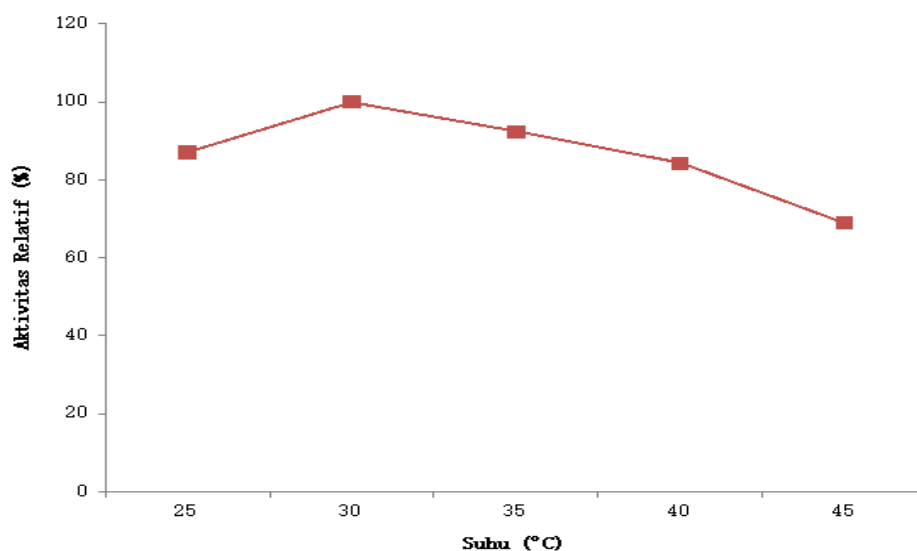
FA 20 juga dikarakterisasi meliputi penentuan kondisi optimum aktivitas urease seperti suhu, pH, konsentrasi substrat, dan pengaruh penambahan logam terhadap aktivitas urease. Uji aktivitas dilakukan dengan metode Nessler. Metode Nessler terdiri dari suatu analisis kimiawi dengan menggunakan alat spektrofotometer. Reagensia Nessler [K_2HgI_4] akan bereaksi dengan NH_3 . Reaksi yang menghasilkan larutan berwarna kuning-cokelat yang mengikuti hukum *Beer-Lambert*. Intensitas warna yang terjadi berbanding lurus dengan konsentrasi NH_3 dalam larutan yang bersifat basa. Endapan cokelat yang dihasilkan atau pewarnaan cokelat atau kuning dihasilkan sesuai dengan jumlah ammonia atau ion ammonia yang terdapat. Endapan tersebut adalah merkurium amidoiodida basa yang terdapat dalam sampel, yang kemudian ditentukan secara spektrofotometri seperti pada persamaan (1) (Vogel, 1951).



Karakterisasi Urease FA 20 dari Biji Kacang Panjang

Pengaruh suhu terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang

Pengujian pengaruh suhu terhadap aktivitas urease dilakukan untuk mengetahui suhu optimum aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang. Pengujian dilakukan pada variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45 °C (Gambar 2).



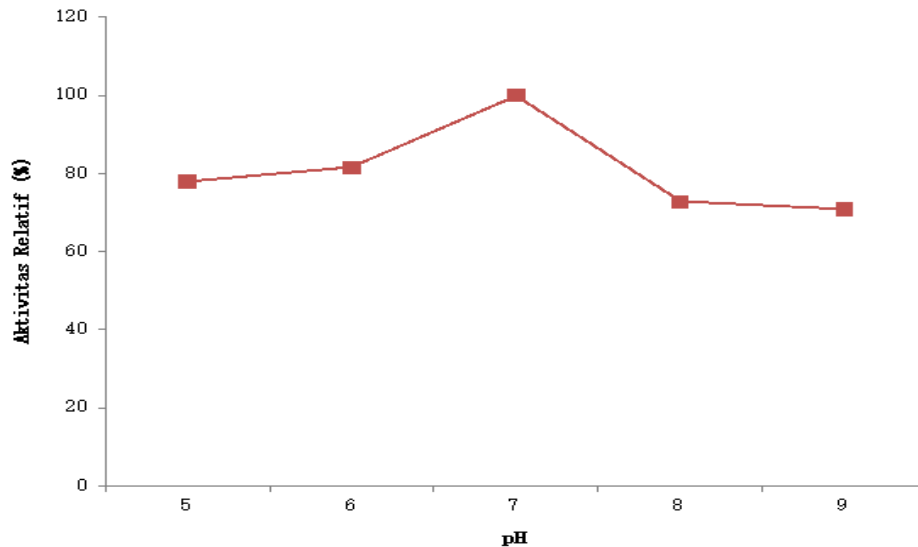
Gambar 2. Pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang.

Berdasarkan data penelitian yang terlihat pada Gambar 2 dan didukung analisis ANOVA ($\alpha = 0,05$), diketahui bahwa suhu 30 °C berbeda nyata dengan suhu lainnya dan mempunyai nilai aktivitas tertinggi yaitu 96,1 U/mL, sehingga dapat disimpulkan suhu optimum urease dari FA 20 adalah 30 °C. Aktivitas enzim menurun setelah tercapai suhu optimum. Aktivitas enzim bersisa 92, 84 dan 69% berturut turut pada suhu 35, 40 dan 45 °C. Menurut (Bonner, 2007) banyak enzim dari tumbuhan stabil pada suhu 30-40 °C dan setelah melewati suhu tersebut komformasi enzim mengalami kerusakan.

Pengaruh pH terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang

Uji pengaruh pH substrat terhadap aktivitas urease FA 20 dilakukan pada variasi pH 5-9. Data hasil uji pengaruh pH terhadap aktivitas urease FA 20 dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan data penelitian yang terlihat pada Gambar 3 dan didukung analisis ANOVA ($\alpha = 0,05$), pH optimum urease FA 20 dari biji kacang panjang optimum pada pH 7 menggunakan buffer fosfat 0,2 M dengan nilai aktivitas urease sebesar 97,501 U/mL. Urease FA 20 dari biji kacang panjang dikategorikan urease dengan nilai pH netral. Nilai pH optimum aktivitas urease yang diisolasi dari biji kacang buncis (*Cicer arietinum* L.) adalah pada pH 7,2 (Pervin *et al.*, 2013), biji kacang gude (*Cajanus cajan*) adalah pH 7,5

(Banerjee *and* Aggarwal, 2012). Pada pH asam atau basa diduga ada suatu inhibitor yang mempengaruhi enzim sehingga menurunkan aktivitasnya. Sisi aktif enzim dipengaruhi oleh perubahan pH. Perubahan ini mempengaruhi ionisasi asam amino yang terlibat dalam hidrolisis substrat menjadi produk (Amin *et al.*, 2010).



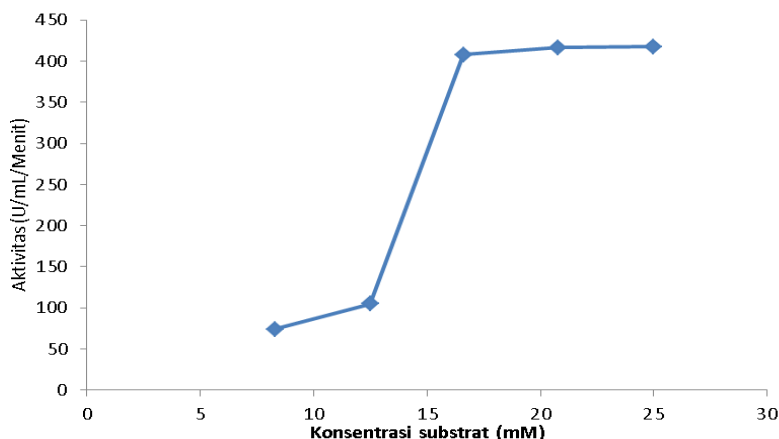
Gambar 3. Pengaruh variasi pH substrat terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang

Perubahan pH inkubasi dapat menyebabkan perubahan protonasi asam amino pada sisi aktif, protonasi seringkali merupakan proses reversibel yang tidak mempengaruhi aktivitas urease pada pH optimum. Jika tidak, perubahan pH juga berakibat pada perubahan muatan asam amino penting secara struktural yang sering menyebabkan perubahan ireversibel terhadap struktur asli urease kemudian menurunkan aktivitas pada nilai pH inkubasi yang lain (Hamzah, 2014).

Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang

Uji pengaruh konsentrasi urea terhadap aktivitas urease FA 20 dilakukan pada konsentrasi urea 0,05; 0,075; 0,1; 0,125 dan 0,15%. Data hasil uji pengaruh konsentrasi urea terhadap aktivitas urease FA 20 dapat dilihat pada Gambar 4. Data pada Gambar 4 dan didukung analisis ANOVA ($\alpha = 0,05$), menunjukkan bahwa aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang bertambah dengan bertambahnya konsentrasi urea dan mencapai optimum pada konsentrasi 16,6 mM dengan nilai aktivitas 407,62 U/mL. Aktivitas enzim selanjutnya tidak lagi dipengaruhi oleh konsentrasi urea. Pola yang sama juga diamati pada urease dari biji kacang gude (*Cajanus cajan*) (Banerjee *and* Aggarwal, 2012). Konsentrasi urea optimum pada hidrolisis urease dari biji buncis (*Cicer arietinum* L.) adalah 25 mM

(Shaela *et al.*, 2013), biji kedelai adalah 64 mM (Khan *et al.*, 2013), biji kacang kapri (*Pisum Sativum* L.) adalah 120 mM (EL-Hefnawy *et al.*, 2014).



Gambar 4. Pengaruh variasi konsentrasi substrat terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang.

Pengaruh penambahan larutan EDTA dan ion logam terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang

Uji aktivitas penambahan larutan EDTA dan ion logam CaCl_2 , NaCl , NiCl_2 dan CuCl_2 dilakukan pada inkubasi suhu $30\text{ }^\circ\text{C}$ pH 7, dan konsentrasi urea 16,6 mM. Data pengaruh penambahan EDTA dan ion logam CaCl_2 , NaCl , NiCl_2 dan CuCl_2 masing-masing pada konsentrasi 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} M terhadap aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang dapat dilihat pada Tabel 2.

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa larutan EDTA dan ion logam CaCl_2 , NaCl , NiCl_2 dan CuCl_2 mempengaruhi aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang. Semakin bertambah konsentrasi EDTA dan ion logam yang ditambah maka aktivitas urease semakin menurun. EDTA adalah pengkhelat logam sehingga menurunkan aktivitas enzim. Hal ini karena EDTA mengkhelat logam yang berada di sekitar sisi aktif enzim. Penambahan EDTA juga menurunkan aktivitas urease dari biji buncis (*Cicer arietinum* L.) (Sana *et al.*, 2009); urease dari jamur *Coccidioides immitis* (Mirbod *et al.*, 2002).

Larutan CaCl_2 , NaCl , NiCl_2 dan CuCl_2 menurunkan aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang. Aktivitas urease FA 20 dari biji kacang panjang tidak berbeda secara signifikan dengan penambahan ion logam CaCl_2 , NiCl_2 dan CuCl_2 10^{-4} M. Begitu juga dengan penambahan ion logam CaCl_2 , NiCl_2 dan CuCl_2 pada konsentrasi 10^{-5} M. Inhibisi aktivitas urease terbesar terjadi pada penambahan ion logam NiCl_2 10^{-3} M. Inhibisi aktivitas urease oleh logam Ni^{+2} juga terjadi pada urease dari jamur *Coccidioides* (Mirbod *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 1993). Penambahan ion logam CuCl_2 dan NaCl juga menurunkan

aktivitas urease dari biji buncis (*Cicer arietinum* L.) yang dikecambah (Pervin *et al.*, 2013).

Tabel 2. Pengaruh penambahan larutan EDTA dan ion logam terhadap aktivitas urease FA 20 biji kacang panjang.

Reagensia (M)	Aktivitas relatif (%)
Control	100
CaCl ₂ (10 ⁻³)	84
CaCl ₂ (10 ⁻⁴)	90
CaCl ₂ (10 ⁻⁵)	94
NaCl (10 ⁻³)	86
NaCl (10 ⁻⁴)	83
NaCl (10 ⁻⁵)	86
EDTA (10 ⁻³)	87
EDTA (10 ⁻⁴)	91
EDTA (10 ⁻⁵)	94
NiCl ₂ (10 ⁻³)	66
NiCl ₂ (10 ⁻⁴)	90
NiCl ₂ (10 ⁻⁵)	93
CuCl ₂ (10 ⁻³)	81
CuCl ₂ (10 ⁻⁴)	91
CuCl ₂ (10 ⁻⁵)	93

KESIMPULAN

Isolasi, pemurnian parsial serta karakterisasi urea dari biji kacang panjang telah dilakukan. Informasi dasar (pengaruh variasi suhu, pH, konsentrasi substrat, penambahan ion logam terhadap aktivitas urease serta berat molekulnya) dapat digunakan dalam aplikasi urease. Urease dari biji kacang panjang dapat diaplikasikan dalam biosensor urea berbasis urease.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dilaksanakan atas bantuan dana Riset Unggulan UNSOED tahun anggaran 2017 berdasarkan Surat Keputusan Ketua LPPM UNSOED No: Kept 1246/UN23.14/PN.01.00/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, F., Bhatti, H.N. and Asgher, M. 2010. Partial Purification and Characterization of an Acid Invertase from *Saccharum officinarum* L. *Pakistan Journal of Botany* 42(4), 2531-2540.
- Banerjee, S. and Aggarwal, A. 2012. Isolation, Partial Purification, Characterization and Inhibition of Urease (EC 3.5. 1.5) Enzyme from the *Cajanus cajan* Seeds. *Asian Journal of Bio Science* 7, 203-209.
- Bonner, P. L. 2007. *Protein purification*. Garland Science.
- Carlini, C.R. and Polacco, J.C. 2008. Toxic Properties of Urease. *Crop Science* 48, 1665-1672.
- Dwidjoseputro, D. 1992. *Pengantar fisiologi tumbuhan*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- El-Hefnawy, M.E., Sakran, M., Ismail, A.I. and Aboelfetoh, E.F. 2014. Extraction, Purification, Kinetic and Thermodynamic Properties of Urease from Germinating *Pisum Sativum* L. seeds. *BMC biochemistry* 15, 15.
- Fathima, F. and Jayalakshmi, S. 2012. Characterization of urease enzyme from marine bacterium *Klebsiella* species. *African Journal of Microbiology Research* 6, 5914-5923.
- Follmer, C. 2008. Insights into the Role and Structure of Plant Ureases. *Phytochemistry* 69, 18-28.
- Hamzah, N.A. 2014. Main Properties of Urease Partially Purified from Seeds of Syrian mesquite (*Prosopis farcta*). *Journal of Babylon University Pure and Applied Sciences* 22(3), 1071-1079.
- Jayaraman, J. and Jayaraman, J. 2004. *Laboratory Manual in Biochemistry*, Kalyani Publishers.
- Khan, M., Javed, M.M., Zahoor, S. and Haq, U. 2013. Kinetics and Thermodynamic Study of Urease Extracted from Soybeans. *Biologia*, 59, 7-14.
- Krishna, B.L., Singh, A.N., Patra, S. and Dubey, V.K. 2011. Purification, Characterization and Immobilization of Urease from *Momordica charantia* Seeds. *Process Biochemistry* 46, 1486-1491.
- Kumar, S., Dwevedi, A. and Kayastha, A.M. 2009. Immobilization of Soybean (*Glycine max*) Urease on Alginate and Chitosan Beads Showing Improved Stability: Analytical Applications. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 58, 138-145.
- Mirbod, F., Schaller, R. and Cole, G. 2002. Purification and Characterization of Urease Isolated from the Pathogenic Fungus *Coccidioides immitis*. *Medical mycology* 40, 35-44.
- Mohammed, S.O., Elshahaby, O. and Hafez, E.E. 2014. Characterization and Purification of Urease Enzyme from New *Proteus Mirabilis* Strain. *Journal of Advanced Scientific Research* 5, 12-20.
- Pervin, S., Sana, N. K., Jahan, M. G. S., Khan, M. M. H., Karim, M. R., Sarkar, B. C. and Shaha, R. K. 2013. Research & Reviews in.
- Rahayu, E., Haryanto, E. and Suhartini, T. 2007. *Budidaya Kacang Panjang*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Sana, N.K., Pervin, S., Jahan, M.G.S., Khan, M.M.H., Karim, M.R. and Shaha, R.K. 2009. Partial Purification and Characterization of Urease from Germinating Chickpea (*Cicer arietinum L.*) Seed. *Research & Reviews in BioSciences* 3.
- Shaela, P.M., Sana, N., Habibur, R.M. and Shaha, R. 2013. Effects of Some Environmental Variables on Urease in Germinating Chickpea (*Cicer arietinum L.*) Seed. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 9.
- Sharma, R., Rajput, Y.S., Kaur, S. and Tomar, S.K. 2008. A Method for Estimation of Urea Using Ammonia Electrode and Its Applicability to Milk Samples. *Journal of dairy research* 75, 466-470.
- Smith, P.T., King Jr, A.D. and Goodman, N. 1993. Isolation and Characterization of Urease from *Aspergillus niger*. *Microbiology* 139, 957-962.
- Vogel, A. I. 1951. *Text-book Of Quantitative Inorganic Analysis: Theory and Practice*, Longmans Green and Co.; London.