

## **KARAKTERISASI BEBERAPA ION LOGAM TERHADAP AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN**

### **(THE CHARACTERIZATION OF SEVERAL METAL IONS TOWARDS THE ENZYME TRYPsin ACTIVITY)**

**Eddy Sulistyowati, Das Salirawati, dan Amanatie**

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta

Jl. Colombo No. 1 Yogyakarta

e-mail: eddy\_sulistyowati@uny.ac.id

#### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum enzim tripsin dan mengetahui pengaruh penambahan ion logam  $\text{Ag}^+$  (dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ ), ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $\text{CuCl}_2$ ), ion logam  $\text{K}^+$  (dalam bentuk senyawa  $\text{KHPO}_4$ ), dan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $\text{ZnSO}_4$ ) dalam berbagai variasi konsentrasi terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein. Aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein ditentukan dengan metode Anson pada kondisi optimum. Analisis data secara deskriptif kualitatif. Hasil yang diperoleh menunjukkan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein 10 mg/mL pada kondisi optimum pada pH 8,37°C, waktu inkubasi 20 menit dengan penambahan ion logam ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ) pada berbagai variasi konsentrasi. Berdasarkan hasil penelitian terbukti secara empiris adanya kecenderungan ion logam  $\text{Ag}^+$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  bersifat inhibitor dan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada substrat kasein.

**Kata kunci:** ion logam, kasein, tripsin, aktivator, inhibitor

#### **Abstract**

This study was aimed at determining the optimal conditions of the trypsin enzyme and the effect of metal ion  $\text{Ag}^+$  (in the form of  $\text{AgNO}_3$ ), metal ion  $\text{Cu}^{2+}$  (in the form of  $\text{CuCl}_2$ ),  $\text{K}^+$  metal ions (in the form of  $\text{KHPO}_4$ ), and ion Metal  $\text{Zn}^{2+}$  (in the form of  $\text{ZnSO}_4$ ) in various concentrations towards trypsin enzyme activity using casein substrate. The activity of trypsin enzyme was determined by Anson method in optimum conditions. The data were analyzed using qualitative descriptive. The results show that the activity of trypsin enzyme with substrate casein 10mg/mL in pH 8.37°C, incubation time of 20 minutes with the additional of ion ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ) at various concentrations. Based on the research results, it was empirically proven that they were tendency of  $\text{Ag}^+$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  to act as inhibitors and metal ions  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{K}^+$  to act as activators to trypsin enzyme activity at casein substrat.

**Keywords:** metal ions, casein, trypsin, activators, inhibitors

## **PENDAHULUAN**

Enzim merupakan kelompok protein yang bersifat katalis dan mengatur perubahan senyawa kimia dalam sistem biologis. Enzim dapat dihasilkan oleh hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Secara katalitik, enzim menjalankan fungsinya dalam berbagai reaksi seperti hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerasi, adisi, transfer gugus, dan kadang-kadang pemutusan rantai karbon (Sumardjo, 2006). Enzim telah banyak digunakan dalam berbagai proses kimiawi, baik dalam bidang industri maupun dalam bidang bioteknologi. Seiring dengan peningkatan penggunaan enzim, berbagai eksplorasi penelitian tentang enzim telah banyak dilakukan (Falch, 1991).

Enzim tripsin merupakan salah satu enzim yang termasuk dalam golongan enzim proteolitik atau protease serin. Enzim ini mengkatalisis reaksi pemecahan protein dengan menghidrolisis ikatan peptidanya menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Tripsin dalam tubuh diproduksi di dalam pankreas. Situmorang (2014) memaparkan aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat. Pengaruh aktivator, inhibitor, dan kofaktor dalam beberapa keadaan juga merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Bailey dan Ollis (1988) menjelaskan salah satu karakteristik aktivitas enzim

adalah memerlukan kofaktor, yaitu gugus non protein dari enzim yang menentukan aktivitas katalitiknya. Kofaktor dapat berupa koenzim yang tidak terikat kuat dalam enzim yang biasanya berupa molekul organik, dan gugus prostetik yang terikat kuat dalam enzim yang biasanya berupa molekul anorganik (ion-ion logam), seperti ion logam  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$  (Lehninger, 1997).

Senyawa kofaktor yang berupa ion logam ada yang berpotensi meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim yang disebut sebagai aktivator enzim, ada pula ion logam yang menghambat aktivitas enzim disebut inhibitor enzim (Sumardjo, 2006). Kemampuan logam tertentu untuk berikatan dengan banyak ligan dalam bidang koordinasi logam menyebabkan logam dapat ikut serta dalam pengikatan substrat atau koenzim ke enzim dan menimbulkan polarisasi gugus reaktif di tempat aktif. Ion logam dapat mendukung efisiensi katalitik enzim. Ion logam dapat membantu reaksi katalitik dengan cara mengikat substrat pada sisi pemotongan. Selain berperan dalam pengikatan enzim dengan substrat, beberapa ion logam juga dapat mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya atau menginduksi formasi situs pengikatan atau situs aktif suatu enzim (Baehaki, Rinto, & Budiman, 2011).

Inhibitor adalah senyawa yang menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Berdasarkan sifat kinetiknya inhibitor dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu inhibitor kompetitif, nonkompetitif *reversible* dan nonkompetitif *irreversible*. Sedangkan suatu senyawa, unsur atau ion yang dapat meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim disebut aktivator enzim. Kebanyakan aktivator adalah ion-ion anorganik, terutama ion logam atau kation. Ion-ion logam ini umumnya ditambahkan dalam bentuk garam, misalnya ion  $\text{Ca}^{2+}$  dalam bentuk garam klorida. Kation-kation lain yang telah diketahui dapat mengaktifkan enzim adalah  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , dan  $\text{Al}^{3+}$ .

Soda dan Agustini (2013) mengatakan bahwa peningkatan aktivitas enzim papain dapat terjadi, karena ikatan yang terbentuk antara enzim dan ion logam  $\text{K}^+$  atau antara substrat dan ion logam  $\text{K}^+$  tidak terlalu kuat sehingga tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim. Penambahan ion logam dengan konsentrasi optimum akan meningkatkan konsentrasi kompleks logam substrat kasein, kemudian membuat kesetimbangan pada daerah yang diinginkan dan mengubah potensial elektrokinetik enzim, sehingga proses aktivasi dapat terjadi dengan optimal.

Penelitian Green dan Neurath (1953) menunjukkan bahwa keberadaan ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , dan  $\text{Mn}^{2+}$  dapat meningkatkan

aktivitas tripsin maksimal sebesar 25%, sebaliknya keberadaan ion  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  dan  $\text{Ag}^+$  menjadi penghambat aktivitas dengan substrat benzoil-n-arginin etil ester (BAEE), benzoil-n-argininamide (BAA), dan asetil-L-tirosin etil ester (ATEE). Dengan demikian berarti penambahan ion logam dalam bentuk senyawa kimia dapat mempengaruhi aktivitas enzim proteolitik.

Pada penelitian ini telah ditambahkan ion logam  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , dan  $\text{KHPO}_4$  sebagai kofaktor untuk diketahui secara empiris pengaruh ion-ion logam tersebut terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dalam berbagai konsentrasi pada kondisi optimum. Berdasarkan penelitian ini dapat ditentukan kondisi optimum aktivitas enzim tripsin meliputi pH, suhu, dan waktu inkubasi dan karakterisasi dari ion-ion logam yang ditambahkan termasuk aktivator atau inhibitor terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein.

Zhang, Zhang, Liu, Gao, & Liu (2014) menyatakan bahwa sifat aktivator ion  $\text{Zn}^{2+}$  relatif tidak terlalu tinggi meningkatkan aktivitas enzim tripsin, dalam artian kenaikan aktivitasnya tidak melebihi aktivitas optimum enzim tripsin yang tanpa penambahan ion logam (0,00336), meskipun untuk aktivitas tertinggi menurut hasil penelitian ini (0,0007). Lebih lanjut

dijelaskan bahwa ion logam  $Zn^{2+}$  hanya mampu sedikit mengubah struktur sekunder enzim tripsin, sehingga aktivitas enzim tersebut relatif stabil.

Penelitian ini sangat penting dilakukan, karena dapat menjadi dasar acuan bagi proses industri yang menggunakan enzim tripsin tentang kegunaan dan dampak dari ion-ion logam tersebut terhadap aktivitas enzim tripsin. Selain itu, dapat menjadi bahan pertimbangan cara mengantisipasi jika seseorang keracunan ion-ion logam tersebut dalam saluran pencernaannya. Hasil penelitian ini juga penting sebagai referensi bagi pengembangan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ion-ion logam yang lain terhadap aktivitas enzim-enzim yang lain yang ada dalam tubuh kita sehingga dengan mengetahui pengaruh keberadaan ion-ion logam tersebut dapat digunakan sebagai dasar dalam mengantisipasi dengan tepat jika ion logam tersebut masuk ke dalam tubuh.

## **METODE**

Penelitian ini termasuk jenis eksperimen laboratorium dengan subjek penelitian enzim tripsin, sedangkan objeknya adalah aktivitas enzim tripsin pada penambahan beberapa ion logam dalam bentuk senyawa kimia dengan berbagai konsentrasi. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ion logam dalam bentuk senyawa yang ditambahkan

pada penentuan aktivitas enzim tripsin, sedangkan variabel terikatnya adalah aktivitas enzim tripsin pada penambahan ion logam dalam bentuk senyawa dalam berbagai konsentrasi. Variabel terkendali dari penelitian ini adalah kondisi optimum dari enzim tripsin meliputi pH, suhu, dan waktu inkubasi.

Penelitian diawali dengan penentuan kondisi optimum aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi. Pada penentuan pH dengan menggunakan metode Anson, dilakukan dengan menentukan absorbansi larutan sampel, larutan kontrol, dan larutan blangko pada panjang gelombang maksimum (650 nm) yang sebelumnya telah ditentukan. Adapun variasi pH yang dilakukan berturut-turut 7; 7,5; 8; 8,5; dan 9 pada tabung reaksi. Prosedur ini dilakukan sebanyak tiga kali (triplo).

Penentuan suhu dan waktu inkubasi dilakukan dengan prosedur yang sama, hanya ketika menentukan suhu optimum berarti pH optimum dan waktu inkubasi yang digunakan tetap. Demikian juga ketika menentukan waktu inkubasi optimum, maka dilakukan pada pH dan suhu optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Terakhir dilakukan penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum dengan prosedur yang sama pula. Penentuan ini dilakukan pada pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum

yang telah diperoleh pada prosedur sebelumnya. Langkah selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein pada kondisi optimum (pH, suhu, waktu inkubasi) dengan penambahan beberapa ion logam dalam bentuk senyawa menggunakan metode Anson. Prosedur yang dilakukan sama dengan ketika penentuan kondisi optimum, hanya pada langkah setelah enzim tripsin dimasukkan diikuti dengan penambahan ion logam dengan konsentrasi bervariasi pada larutan sampel dan kontrol, sedangkan pada larutan blangko ion logam ditambahkan setelah memasukkan buffer fosfat. Pada penelitian ini ion logam yang ditambahkan adalah ion  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , dan  $\text{KHPO}_4$ .

Setelah diperoleh absorbansi aktivitas enzim tripsin terhadap substrat kasein dengan berbagai penambahan ion-ion logam dalam bentuk senyawa pada berbagai variasi, maka akan diperoleh data absorbansi yang kemudian dihitung aktivitasnya. Selanjutnya dilakukan karakterisasi masing-masing ion logam dengan cara membuat grafik hubungan penambahan ion logam tersebut terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum dibandingkan dengan aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion logam pada kondisi optimum. Berdasarkan grafik tersebut dapat diketahui pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim, termasuk aktivator

yang meningkatkan aktivitas enzim tripsin ataukah inhibitor yang menurunkan aktivitas enzim tripsin.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara empiris pengaruh penambahan ion-ion logam  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , dan  $\text{KHPO}_4$ , sebagai kofaktor terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dalam berbagai konsentrasi pada kondisi optimum.

Adapun langkah-langkah yang akan dilakukan dalam penelitian ini mula-mula akan ditentukan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein menggunakan metode Anson pada kondisi optimum (pH, suhu, waktu inkubasi) yang ditentukan. Kemudian dilakukan penentuan aktivitas enzim tripsin (substrat kasein) dengan penambahan ion-ion tersebut menggunakan tiga tabung, yaitu tabung T (sampel), tabung B (blangko), dan tabung  $T_0$  (kontrol). Analisis data secara deskriptif kualitatif, yaitu dengan membuat grafik hubungan penambahan ion dalam bentuk senyawa terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum dibandingkan dengan aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion dalam bentuk senyawa pada kondisi optimum, kemudian dideskripsikan pengaruh masing-masing ion terhadap aktivitas enzim tripsin.

Penentuan pH optimum dilakukan pada suhu 35°C, waktu inkubasi 20 menit, dan variasi pH yang digunakan adalah 7, 8, dan 9. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan kontrol, maka aktivitas enzim tripsin yang diperoleh pada pH 7, 8, dan 9 berturut-turut sebesar 0,0026; 0,0051; dan 0,0032 unit aktivitas enzim. Dengan demikian pH optimum berada pada pH 8.

Penentuan suhu optimum dilakukan pada pH optimum (pH 8), waktu inkubasi 20 menit, dan variasi suhu yang digunakan 31, 33, 35, 37, dan 39°C. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan kontrol, maka aktivitas enzim tripsin yang diperoleh pada suhu 31, 33, 35, 37, dan 39°C berturut-turut sebesar 0,00185; 0,00405; 0,00435; 0,00505; dan 0,00340 unit aktivitas enzim. Dengan demikian suhu optimum berada pada suhu 37°C.

Penentuan waktu inkubasi optimum dilakukan pada pH optimum (pH 8), suhu optimum (37°C), dan variasi waktu inkubasi yang digunakan 10 menit, 15 menit, 20 menit, 25 menit, dan 30 menit. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan kontrol, maka aktivitas enzim tripsin yang diperoleh pada waktu inkubasi 10 menit, 15 menit, 20 menit, 25 menit, dan 30 menit berturut-turut sebesar 0,00210; 0,00300; 0,00425; 0,00225; dan 0,00170 unit aktivitas enzim. Dengan demikian waktu inkubasi optimum berada pada waktu inkubasi 20 menit.

Penentuan konsentrasi substrat (kasein) optimum dilakukan pada pH optimum (pH 8), suhu optimum (37°C), dan waktu inkubasi optimum (20 menit). Adapun variasi konsentrasi substrat (kasein) berturut-turut 2 mg/mL; 4 mg/mL; 6 mg/mL; 8 mg/mL; dan 10 mg/mL. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan kontrol, maka aktivitas enzim tripsin yang diperoleh pada konsentrasi substrat (kasein) 2 mg/mL; 4 mg/mL; 6 mg/mL; 8 mg/mL; dan 10 mg/mL berturut-turut sebesar 0,00085; 0,00150; 0,00210; 0,00310; dan 0,00350 unit aktivitas enzim. Dengan demikian konsentrasi substrat (kasein) optimum berada pada konsentrasi 10 mg/mL.

Penentuan konsentrasi substrat (kasein) optimum dilakukan pada pH optimum (pH 8), suhu optimum (37°C), waktu inkubasi optimum (20 menit), dan konsentrasi substrat (kasein) optimum 10 mg/mL. Adapun volum enzim tripsin yang digunakan sebesar 1,5 mL. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan sampel dan kontrol secara pentaplo (lima kali pengukuran), maka aktivitas enzim tripsin yang diperoleh rerata 0,00336 unit aktivitas enzim.

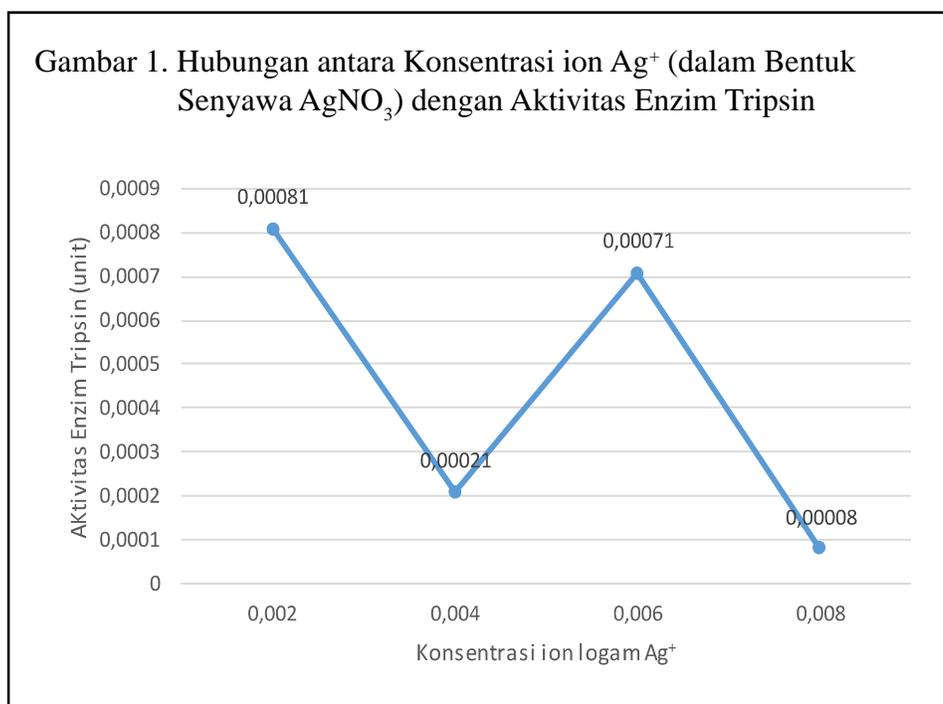
Prosedur yang dilakukan dalam menentukan aktivitas enzim tripsin terhadap penambahan ion logam Ag<sup>+</sup> (dalam bentuk senyawa AgNO<sub>3</sub>) pada kondisi optimum, yaitu pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat (kasein)

10 mg/mL sama dengan prosedur yang dilakukan pada penentuan aktivitas enzim tripsin. Perbedaannya 0,5 mL larutan buffer fosfatnya diganti dengan larutan  $\text{AgNO}_3$  dengan berbagai konsentrasi, yaitu 0,002 M; 0,004 M; 0,006 M; dan 0,008 M. Hasil pengukuran larutan sampel dan kontrol pada konsentrasi tersebut berturut-turut sebesar 0,00085; 0,00025; 0,00075; dan 0,00010 unit aktivitas enzim. Hasil tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 tampak bahwa pada penambahan ion logam  $\text{Ag}^+$  terjadi fluktuasi aktivitas enzim tripsin yang semula turun kembali naik dan kemudian turun lagi. Namun kenaikan aktivitas enzim tripsin yang terjadi, baik pada penambahan

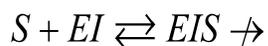
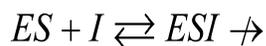
konsentrasi ion logam  $\text{Ag}^+$  sebesar 0,002 M (0,00085) maupun 0,006 M (0,00075) masih berada di bawah aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion logam konsentrasi (0.00336).

Berdasarkan penelitian Green dan Neurath (1953), keberadaan ion  $\text{Ag}^+$  menjadi penghambat aktivitas dengan substrat benzoil-n-arginin etil ester (BAEE), benzoil-n-argininamide (BAA), dan asetil-L-tirosin etil ester (ATEE). Ion logam  $\text{Ag}^+$  merupakan *inhibitor nonkompetitif reversible* yang mempunyai sifat dapat berikatan dengan enzim bebas (E) ataupun kompleks enzim (ES), maka sifat kereversibelannya membuat ion  $\text{Ag}^+$  dapat mengganggu aktivitas enzim dalam



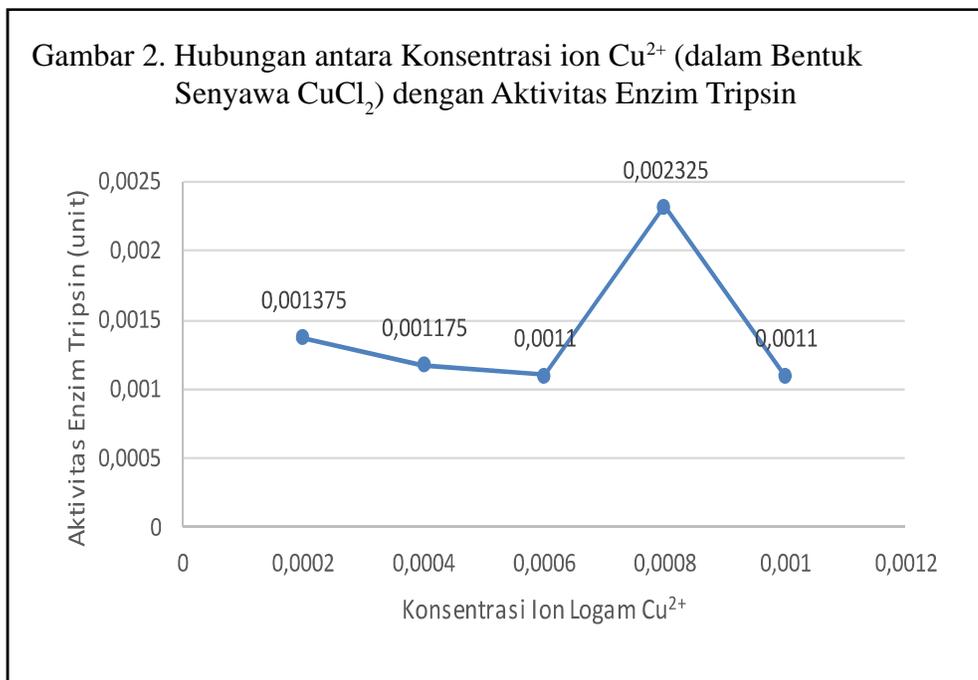
menghasilkan produk, tetapi dapat pula membiarkan enzim berikatan bebas dengan substrat hingga menghasilkan produk. Hal ini karena *inhibitor nonkompetitif* memiliki tempat yang berbeda dari sisi aktif enzim, sehingga tidak bersifat memblokir substrat untuk tidak berikatan dengan enzim.

Reaksi yang terjadi antara substrat dengan inhibitor nonkompetitif dalam bersaing dengan substrat untuk menempati tempatnya masing-masing dari enzim dapat dituliskan:



Dengan prosedur yang sama seperti yang dilakukan ketika penambahan ion logam  $Ag^+$ , hanya berbeda jenis ion logam yang ditambahkan, yaitu ion  $Cu^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $CuCl_2$ ) dengan variasi konsentrasi 0,002; 0,004; 0,006; 0,008; dan 0,01 M. Hasil pengukuran larutan sampel dan kontrol pada konsentrasi tersebut berturut-turut sebesar 0,00138; 0,00118; 0,0011; 0,00233; dan 0,0011 unit aktivitas enzim. Hasil tersebut dapat disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa ion logam  $Cu^{2+}$  bersifat inhibitor terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein. Hal ini sesuai dengan penelitian Green dan Neurath (1953), keberadaan ion



$\text{Cu}^{2+}$  menjadi penghambat aktivitas dengan substrat benzoil-n-arginin etil ester (BAEE), benzoil-n-argininamide (BAA), dan asetil-L-tirosin etil ester (ATEE). Demikian juga penelitian yang dilakukan oleh Zufahair, Ningsih, dan Habibah (2014) yang berhasil menunjukkan bahwa ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  mampu menurunkan aktivitas enzim papain baik yang diisolasi dari daun pepaya kalifornia maupun bangkok. Hal ini menunjukkan ion  $\text{Cu}^{2+}$  bertindak sebagai inhibitor bagi enzim papain dari daun pepaya kalifornia dan bangkok.

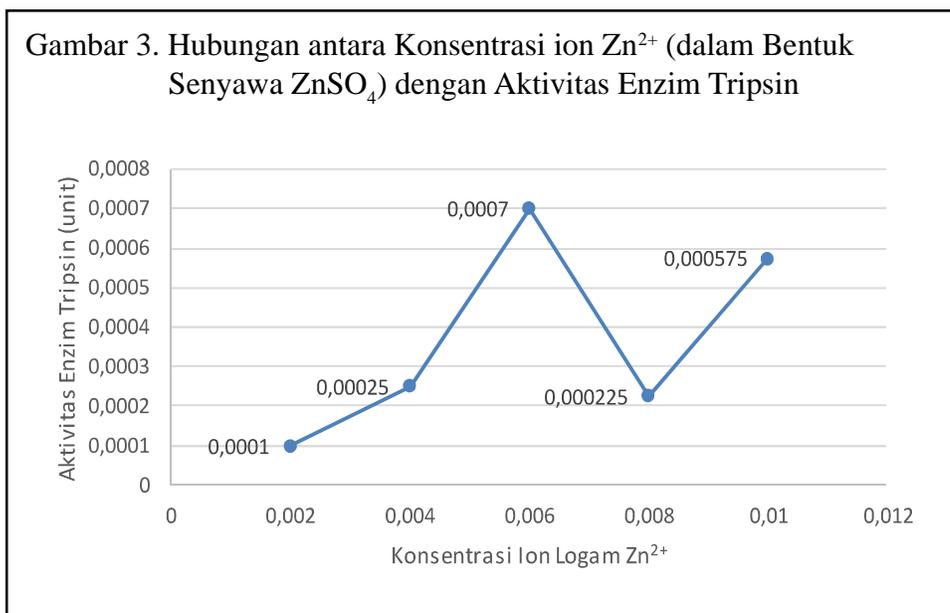
Senyawa inhibitor merupakan senyawa yang dapat mengubah kemampuan enzim dalam mengikat substrat sehingga menyebabkan perubahan daya katalisator enzim. Perubahan ini disebabkan oleh ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  berikatan dengan sisi aktif enzim atau ion tersebut menggantikan logam yang berada pada sisi aktif, sehingga struktur enzim berubah sedemikian rupa. Perubahan ini mengakibatkan konformasi enzim menjadi tidak efektif dalam mengikat substrat dan akhirnya membuat aktivitas katalitiknya menurun. Ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  dalam papain kalifornia memiliki aktivitas yang sangat rendah diduga karena ikatan enzim dengan ion tersebut mengakibatkan konformasi sisi aktif enzim menjadi sangat tidak sesuai untuk berikatan dengan substrat.

Dilihat dari grafik menunjukkan pada konsentrasi ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  aktivitas enzim

tripsin mengalami kenaikan relatif tinggi. Hal ini kemungkinan besar karena sifat inhibitor ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  yang berikatan lemah dengan enzim, sehingga suatu saat mudah lepas dan digantikan oleh substrat, sehingga aktivitas enzim meningkat yang ditunjukkan dengan terbentuknya produk yang besar. Namun kenaikan aktivitas enzim tripsin yang terjadi, pada penambahan konsentrasi ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  sebesar 0,008 M (0,00233) masih berada di bawah aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion logam konsentrasi (0.00336).

Dengan prosedur yang sama seperti yang dilakukan ketika penambahan ion logam  $\text{Ag}^+$ , hanya berbeda jenis ion logam yang ditambahkan, yaitu ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $\text{ZnSO}_4$ ) dengan variasi konsentrasi 0,002; 0,004; 0,006; 0,008; dan 0,01 M. Hasil pengukuran larutan sampel dan kontrol pada konsentrasi tersebut berturut-turut sebesar 0,0001; 0,00025; 0,0007; 0,000225; dan 0,000575 unit aktivitas enzim. Hasil tersebut dapat disajikan dengan grafik yang ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan pada penambahan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  sebanyak 0,008 M terjadi penurunan aktivitas enzim tripsin. Hal ini disebabkan ion logam yang bertindak sebagai aktivator ikatannya dengan enzim lemah, sehingga reaksinya bersifat *reversible* dan akan menghasilkan produk yang melimpah,



begitu pula sebaliknya. Ion logam  $Zn^{2+}$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein. Kebanyakan aktivator adalah ion-ion anorganik, terutama ion logam atau kation. Ion-ion logam ini umumnya ditambahkan dalam bentuk garam, misalnya ion  $Zn^{2+}$  dalam bentuk garam klorida atau garam sulfat. Hal ini sesuai dengan penelitian Kamelia, Muliawati, dan Dessy (2005) yang menunjukkan ion  $Zn^{2+}$  dapat meningkatkan aktivitas enzim papain, dengan nilai aktivitas relatif sebesar 123,200% untuk daun pepaya kalifornia dan 131,673% untuk daun pepaya bangkok. Lebih lanjut dinyatakan bahwa peran  $Zn^{2+}$  dalam mengaktivasi reaksi hidrolisis protein didasarkan pada kemampuannya dalam membentuk ikatan kovalen koordinasi

dengan residu asam amino dari protease dan bersifat sebagai akseptor elektron, sehingga mampu berinteraksi dengan basa, yaitu gugus  $OH^-$  dari molekul air. Ion logam  $Zn^{2+}$  diduga akan mempolarisasi gugus karbonil substrat kasein dan memfasilitasi deprotonisasi molekul air, sehingga mempermudah reaksi hidrolisis.

Dengan prosedur yang sama seperti yang dilakukan ketika penambahan ion logam  $Ag^+$ , hanya berbeda jenis ion logam yang ditambahkan, yaitu ion logam  $K^+$  (dalam bentuk senyawa  $KHPO_4$ ) dengan variasi konsentrasi 0,002 M; 0,004 M; 0,006 M; 0,008 M; dan 0,01 M. Hasil pengukuran larutan sampel dan kontrol pada konsentrasi tersebut berturut-turut sebesar 0,002867; 0,004233; 0,004533; 0,003; dan 0,0047

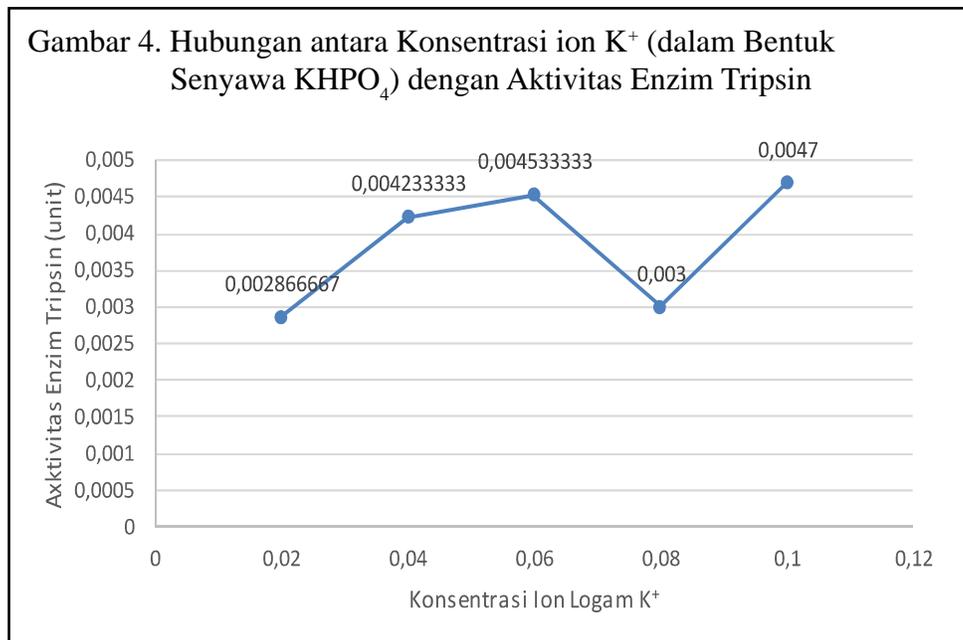
unit aktivitas enzim. Hasil tersebut dapat disajikan dengan grafik yang ditunjukkan pada Gambar 4.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4 menunjukkan pada penambahan ion logam  $K^+$  sebanyak 0,008 M terjadi penurunan aktivitas enzim tripsin. Hal ini disebabkan ion logam yang bertindak sebagai aktivator ikatannya dengan enzim lemah, sehingga reaksinya bersifat *reversible* dan akan menghasilkan produk yang melimpah, begitu pula sebaliknya.

Ion logam  $K^+$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein. Kebanyakan aktivator adalah ion-ion anorganik, terutama ion logam atau kation. Ion-ion logam ini umumnya ditambahkan

dalam bentuk garam, misalnya ion  $K^+$  dalam bentuk garam fosfat. Hal ini sesuai dengan penelitian Soda dan Agustini (2013) yang menyatakan bahwa peningkatan aktivitas enzim papain dapat terjadi, karena ikatan yang terbentuk antara enzim dan ion logam  $K^+$  atau antara substrat dan ion logam  $K^+$  tidak terlalu kuat, sehingga tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim.

Penambahan ion logam dengan konsentrasi optimum akan meningkatkan konsentrasi kompleks logam substrat kasein, kemudian membuat kesetimbangan pada daerah yang diinginkan dan mengubah potensial elektrokinetik enzim, sehingga proses aktivasi dapat terjadi dengan optimal. Pada penelitian ini tidak dilakukan



penambahan ion logam pada konsentrasi optimum, sehingga aktivitas enzim yang terjadi tidak optimal pula.

Hasil penelitian ini berhasil membuktikan secara empiris adanya kecenderungan ion logam  $\text{Ag}^+$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  bersifat inhibitor dan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada substrat kasein. Kenaikan aktivitas enzim tripsin yang terjadi pada penambahan keempat ion logam tersebut ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$ ) masih berada di bawah aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion logam konsentrasi (0.00336).

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dipaparkan, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi optimum aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein sebanyak 10 mg/mL, yaitu berada pada pH 7, suhu 37°C, dan waktu inkubasi 20 menit. Ada pengaruh penambahan ion logam  $\text{Ag}^+$  (dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ ), ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $\text{CuCl}_2$ ), ion logam  $\text{K}^+$  (dalam bentuk senyawa  $\text{KHPO}_4$ ), dan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  (dalam bentuk senyawa  $\text{ZnSO}_4$ ) dalam berbagai variasi konsentrasi terhadap aktivitas enzim tripsin. dengan substrat kasein. Hasil secara empiris menunjukkan kecenderungan ion logam  $\text{Ag}^+$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  bersifat inhibitor dan ion logam

$\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada substrat kasein.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Baehaki, A., Rinto, & Budiman, A. (2011). Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 22(1), 37-42.
- Bailey, J. E., & Ollis, D. F. (1988). *Biochemical engineering fundamental* (2<sup>nd</sup> ed.). New York: Mc Graw-Hill Book Company.
- Falch, E. A. (1991). Industrial enzymes - developments in production and application. *Biotechnology advances*, 9(4), 643-658.
- Green, N. M., & Neurath, H. (1953). The effects of divalent cations on trypsin. *Journal of Biological Chemistry*, 204(1), 379-390.
- Kamelia, R., Muliawati, S., & Dessy, N. (2005). Isolasi dan karakterisasi protease intraselular termotabil dari bakteri *Bacillus stearothermophilus* RP1. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*. Departemen Kimia ITB, Bandung.
- Lehninger, A. L. (1997). *Dasar-dasar biokimia* Jilid I. Jakarta: Erlangga.
- Situmorang, N. (2014). *Aktivitas protease dan uji fisiologi isolat bakteri proteolitik dari limbah cair nanas* (Skripsi tidak Dipublikasikan). FMIPA Universitas Lampung, Lampung.
- Soda, F. N., & Agustini, R. (2013). Pengaruh penambahan ion logam  $\text{K}^+$  terhadap

- aktivitas enzim papain. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(2), 29-34.
- Sumardjo, D. (2006). *Pengantar kimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Zhang, T., Zhang, H., Liu, G., Gao, C., & Liu, R. (2014). Interaction of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  with trypsin: What is the key factor of their toxicity?. *Journal of fluorescence*, 24(6), 1803-1810.
- Zusfahair, Ningsih, D. R., & Habibah, F. N. (2014). Karakterisasi papain dari daun pepaya (*Carica Papaya L.*). *Molekul*, 9(1), 44-55.

