

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM K^+ TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN

THE ADDITION EFFECT OF THE METAL ION K^+ ON THE PAPAIN ENZYME ACTIVITIES

Fransiska Nay Soda dan Rudiana Agustini*

*Department of Chemistry, Surabaya State University
Jl. Ketintang Surabaya (6023) telp. 031-8298761*

Koresponden : e-mail : Fransiska_nay@yahoo.com*

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan pengaruh penambahan ion logam K^+ terhadap aktivitas enzim papain. Penentuan pengaruh penambahan ion logam dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim tanpa penambahan ion logam K^+ (0 mM) dan aktivitas enzim setelah ditambah ion logam K^+ dengan variasi konsentrasi 0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM dan 2 mM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion logam K^+ dapat meningkatkan aktivitas enzim papain dimana konsentrasi optimum pada konsentrasi 1 mM dengan aktivitas sebesar 1,977 unit/mL. Pada konsentrasi 0, 5 mM, 1,5 dan 2 mM masing-masing dapat meningkatkan aktivitas enzim papain sebesar 1,131 unit/mL, 1,552 unit/mL dan 1,043 unit/mL.

Kata Kunci : Aktivator, Enzim papain, ion logam K^+

Abstract. This study aimed to describe the effect of the addition of metal ion K^+ to papain enzyme activity. Determination of the effect of the addition of metal ion is done by measuring the enzyme activity without the addition of metal ion K^+ (0 mM) and enzyme activity after addition of metal ion with a variety of K^+ concentration of 0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM and 2 mM. The results showed that the metal ions K^+ can increase the activity of the enzyme papain which the optimum concentration at a concentration of 1 mM to the activity of 1,977 units /mL. At concentrations of 0, 5 mM, 1.5 and 2 mM each of which can increase the activity of the enzyme papain 1,131 units /mL, 1,552 units /mL and 1,043 units /mL.

Keywords : Activators, papain enzyme,, metal ion K^+

PENDAHULUAN

Enzim adalah katalisator (biokatalisator) yang dihasilkan oleh sel. Dewasa ini, enzim banyak digunakan dalam dunia industri karena mempunyai sifat yang potensial untuk dimanfaatkan, antara lain daya katalitiknya yang besar dan spesifitasnya terhadap substrat dari reaksi yang dikatalisisnya [1].

Pada industri yang menggunakan enzim, 59% enzim yang digunakan adalah protease salah satunya adalah papain [2]. Beberapa industri yang banyak memanfaatkan enzim papain adalah: industri makanan, minuman, farmasi, industri kosmetik, tekstil dan

penyamakan kulit. Pemanfaatan papain dalam bidang industri memberikan beberapa keuntungan antara lain: mudah didapat, tersedia dalam jumlah banyak, tidak bersifat toksik, tidak ada reaksi samping, merupakan enzim yang relatif tahan terhadap suhu proses [3].

Menurut British of Pharmaceutical Codex-1934, yang dimaksud dengan papain adalah campuran enzim-enzim proteolitik yang terdapat didalam getah pepaya dengan syarat harus mempunyai aktivitas proteolitik minimal 20 unit/gram preparat [4]. Papain termasuk dalam jenis protease Sulfidril yang aktivitasnya

bergantung pada adanya satu atau lebih residu Sulfhidril pada sisi aktifnya. Papain merupakan katalis pada reaksi hidrolisis suatu substrat protein. Enzim ini banyak terkandung dalam getah pepaya, baik di daun, batang maupun buahnya.

Aktivitas proteolitik suatu enzim sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, kekuatan ionik, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, adanya reduktor ataupun oksidator dan buffer.

Pengujian aktivitas enzim dilakukan untuk mengukur kemampuan enzim menghidrolisis atau menguraikan protein menjadi asam-asam amino. Aktivitas enzim dapat ditentukan dari kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim, kecepatan yang diukur sebanding dengan jumlah enzim yang ada [5].

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Witono (2009) ditemukan bahwa garam seperti NaCl maupun KCl baik pada konsentrasi 1 mM maupun 5 mM dapat menstabilkan aktivitas protease biduri dimana protease biduri termasuk dalam jenis sulfhidril (protease sistein) [6]. Sedangkan pada penelitian Kahar (2008) ditemukan bahwa garam KCl pada konsentrasi 0,01 M sampai dengan 0,04 M menunjukkan pengaruh menaikkan aktivitas enzim papain dari getah buah pepaya [7].

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan pengaruh penambahan ion logam K^+ terhadap aktivitas enzim papain.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim papain, buffer fosfat pH 7 0,05 M, TCA, Na_2CO_3 , tirosin, substrat kasein, KCl, pereaksi follin ciocalteu, aquabides.

Alat

Alat-alat gelas yang umum digunakan, water bath, oven, aluminium foil, tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, magnetic stirrer, neraca digital, pipet mikro, rak tabung reaksi, alat sentrifuge, lemari es, pH meter, vortex.

Prosedur Kerja

Penentuan Enzim Papain Tanpa Penambahan Ion Logam

Tahap Penentuan Absorbansi Sampel

Di dalam sebuah tabung reaksi dimasukkan 0,1 ml larutan enzim 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein, 0,5 ml buffer pH 7 0,05 M, lalu dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu $50^{\circ}C$ selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml aquades lalu divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam oven pada suhu $37^{\circ}C$ selama 10 menit selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Diambil filtratnya sebanyak 0,75 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 2,5 ml larutan Na_2CO_3 0,4 M. Ditambahkan 0,5 ml pereaksi follin ciocalteu dan divortex hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada λ maks 671 nm. Dilakukan empat kali pengulangan.

Tahap Penentuan Absorbansi Blanko

Di dalam sebuah tabung reaksi dimasukkan 0,5 ml larutan substrat kasein 0,5 g/25 ml, 0,1 ml aquades, 0,5 ml buffer pH 7 0,05 M, lalu dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu $50^{\circ}C$ selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml larutan enzim 0,1 g/ml lalu divortex hingga homogen dan diinkubasi dalam oven pada suhu $37^{\circ}C$ selama 10 menit selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Filtratnya diambil sebanyak 0,75 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 2,5 ml larutan Na_2CO_3 0,4 M. ditambahkan 0,5 ml pereaksi follin ciocalteu dan divortex hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada λ maks 671 nm. Dilakukan empat kali pengulangan.

Penentuan Enzim Papain Dengan Penambahan Ion Logam K^+

Tahap Penentuan Absorbansi Sampel

Disediakan empat buah tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi ion logam K^+ sebesar 0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM dan 2 mM. Pada setiap tabung reaksi dimasukkan 0,1 ml larutan enzim papain 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,5 g/25 ml, 0,1 ml larutan ion logam K^+ dan 0,5 ml buffer pH 7 0,05 M, kemudian dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu yaitu $50^{\circ}C$ selama 10 menit. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml aquades dan divortex hingga homogen selanjutnya diinkubasi dalam oven pada suhu $37^{\circ}C$ selama 10 menit lalu disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Di ambil filtratnya sebanyak 0,75 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 2,5 ml larutan Na_2CO_3 0,4 M lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi follin ciocalteu kemudian divortex hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada λ maks 671 nm. Dilakukan empat kali pengulangan.

Tahap Penentuan Absorbansi Blanko

Di sediakan empat buah tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi ion logam K^+ sebesar 0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM dan 2 mM. Pada setiap tabung reaksi dimasukkan 0,1 ml larutan enzim papain 0,1 g/ml, 0,5 ml larutan substrat kasein 0,5 g/25 ml, 0,1 ml larutan ion logam K^+ dan 0,5 ml buffer pH 7 0,05 M, kemudian dikocok hingga homogen dengan tangan dan diinkubasi dalam *water bath* pada suhu yaitu $50^{\circ}C$ selama 10 menit. Ditambahkan 1 ml TCA 0,1 M dan 0,1 ml aquades dan divortex hingga homogen selanjutnya diinkubasi dalam oven pada suhu $37^{\circ}C$ selama 10 menit lalu disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Di ambil filtratnya sebanyak 0,75 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 2,5 ml larutan Na_2CO_3 0,4 M lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi follin ciocalteu kemudian divortex

hingga homogen. Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada λ maks 671 nm. Dilakukan empat kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data penelitian yang diperoleh dari beberapa tahap yang meliputi penentuan panjang gelombang maksimum, penentuan kurva standar larutan tirosin dan penentuan pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas enzim papain.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum dalam suatu penelitian penting untuk dicari hal ini dikarenakan setiap instrumen memiliki kesensitifan yang berbeda-beda. Pada penelitian ini konsentrasi larutan tirosin yang digunakan untuk menentukan panjang gelombang optimum adalah 5 mM dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-700 nm. Data yang diperoleh disajikan dalam Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Data Absorbansi Dan Panjang Gelombang Larutan Tirosin

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
671.00	0,637
415.00	0,311

Dari data yang diperoleh menunjukkan panjang gelombang maksimum larutan tirosin tercapai pada panjang gelombang 671 nm. Jadi panjang gelombang yang digunakan pada penelitian ini adalah 671 nm.

Penentuan Kurva Standar Tirosin

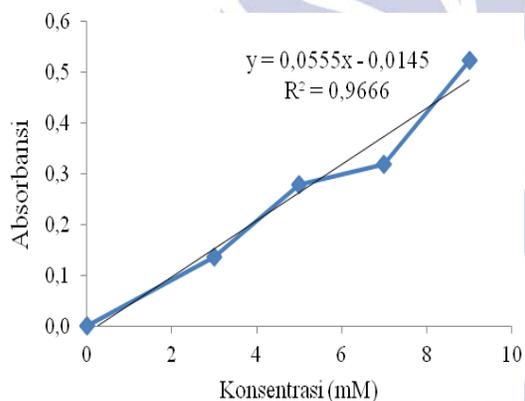
Pada penentuan aktivitas enzim papain langkah awal yang harus dilakukan adalah pembuatan kurva standar yakni menggunakan tirosin sebagai standar dengan variasi konsentrasi 0 mM, 3 mM, 5 mM, 7 mM dan 9mM kemudian nilai absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 671nm. Hasil

pengukuran absorbansi larutan standar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Absorbansi Larutan Standar Tirosin dengan Konsentrasi 0 mM - 9mM

Konsentrasi Tirosin (mM)	Absorbansi
0	0,000
3	0,137
5	0,280
7	0,319
9	0,523

Data nilai absorbansi pada Tabel 2 dapat dibuat kurva standar tirosin dengan memetakan nilai absorbansi dengan konsentrasi tirosin, seperti pada Grafik dibawah ini:



Gambar 1. Grafik Kurva Standar Tirosin

Berdasarkan kurva standar tirosin menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi tirosin maka semakin besar pula nilai absorbansinya serta diperoleh persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara absorbansi larutan standar tirosin dengan konsentrasinya yakni $Y = 0,0555X - 0,0145$ dimana $Y =$ absorbansinya dan $X =$ konsentrasi dengan $R^2 = 0,9666$. Persamaan garis regresi linier tersebut, digunakan untuk menentukan konsentrasi tirosin yang berhasil dihidrolisis oleh enzim papain dari substrat kasein.

Pengaruh Penambahan Ion Logam K^+ Terhadap Aktivitas Enzim Papain

Enzim papain termasuk golongan enzim protease sulfhidril yaitu enzim yang mempunyai residu sulfhidril pada lokasi aktifnya. Aktivitas enzim papain dapat ditingkatkan dengan penambahan aktivator. Aktivitas enzim papain dapat diketahui berdasarkan metode Miller dengan menggunakan reagen follin. Aktivitas enzim papain ditentukan dengan mengukur banyaknya tirosin hasil hidrolisis kasein.

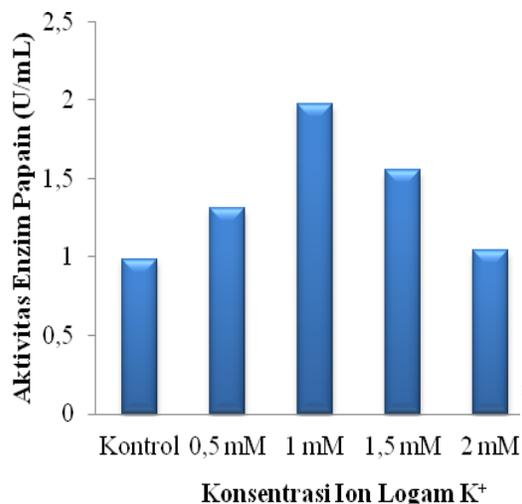
Pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas papain dapat diuji dengan mengukur aktivitas papain setelah diinkubasi dengan berbagai ion logam selama 10 menit lalu dibandingkan dengan aktivitas awal papain (tanpa penambahan ion logam).

Hasil pengukuran penambahan ion logam K^+ dengan berbagai variasi konsentrasi terhadap aktivitas enzim papain dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas Papain (Unit/mL) Pada Penambahan Ion Logam K^+ dengan Berbagai Variasi Konsentrasi

Konsentrasi Logam K^+	Aktivitas Enzim (U/mL)
Kontrol	0,982
0,5 mM	1,313
1 mM	1,977
1,5 mM	1,552
2 mM	1,043

Data nilai absorbansi pada Tabel 3 juga dapat di buat diagram batang yang menggambarkan hubungan antara pengaruh penambahan ion logam K^+ dengan aktivitas enzim papain, seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Batang Pengaruh Penambahan Ion Logam K⁺ Terhadap Aktivitas Enzim Papain.

Gambar diatas memperlihatkan bahwa pada penambahan ion logam K⁺ memberikan peningkatan aktivitas enzim papain baik pada konsentrasi 0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM dan 2 mM. Dimana aktivitas optimum terjadi pada konsentrasi 1 mM sebesar 1,977 Unit/mL. Sedangkan pada konsentrasi 0,5 mM, 1,5 mM dan 2 mM dapat menaikkan aktivitas enzim sebesar 1,313 unit/mL, 1,552 unit/mL dan 1,043 unit/mL. Hal ini dapat terjadi karena ikatan yang terbentuk antara enzim dan ion logam atau antara substrat dan ion logam tidak terlalu kuat sehingga tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim.

Adanya pengaruh konsentrasi ion yang berbeda terhadap aktivitas enzim diakibatkan oleh perubahan kesetimbangan dan potensial elektrokinetik dari enzim. Penambahan ion logam dengan konsentrasi optimum akan meningkatkan konsentrasi kompleks logam substrat, kemudian membuat kesetimbangan pada daerah yang diinginkan dan merubah potensial elektrokinetik enzim, sehingga proses aktivasi dapat terjadi dengan optimal. Sebaliknya jika konsentrasi di atas atau di bawah konsentrasi optimum, maka kesetimbangan dan potensial elektrokinetik tidak mencapai atau melebihi daerah yang diinginkan dan menyebabkan proses aktivasi tidak optimal

bahkan mungkin akan menghambat enzim dan berakibat terhadap penurunan aktivitas [8].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh penambahan ion logam K⁺ terhadap aktivitas enzim papain, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Ada pengaruh antara penambahan ion logam K⁺ dengan aktivitas enzim papain.
2. Aktivitas enzim papain dapat ditingkatkan oleh ion logam K⁺ dimana konsentrasi optimumnya adalah 1 mM dengan nilai aktivitas 1,977 Unit/mL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid I. Jakarta: Erlangga.
2. Agustini, R. 2006. Pemanfaat Protease Termofil yang Hidup di Sumber Air Panas Cagar Batu Malang. Jurusan Kimia FMIPA UNESA. <http://pdmfipa.ugm.ac.id/ojs/index.php/ijc/article/viewFile/306/260>, diakses pada tanggal 26 Februari 2012.
3. Nurhidayati, T. 2003. "Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Suhu Fermentasi terhadap Kualitas Keju Cottage". Surabaya: Biologi FMIPA-ITS. KAPPA (2003) Vol. 4, No.1, 13-17. ISSN 1411-4046.
4. Dongoran, D. S. 2004. *Pengaruh Aktivator Sistein dan Natrium Klorida Terhadap Aktivitas Papain*. Medan: jurusan kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Jurnal Sains Kimia vol. 8, No. 1, 2004:26-28. <http://repository.usu.ac.id>USU>, diakses pada tanggal 3 maret 2011.
5. Harper. 1997. *Biokimia* (24.ed.). Penerjemah Victor W. Rodwell. Penerbit Buku Kedokteran.
6. Witono, Yuli. 2009. *Spesifitas Dan Stabilitas Enzim Protease Dari Tanaman Biduri (Calotropis gigantea)*. Jember : Fakultas Pertanian Universitas Jember. Prosiding Seminar Nasional FTP UNUD, Hal 245- 251.

7. Kahar, Z. 2008. *Pengaruh Penambahan Garam terhadap aktivitas enzim papain dari Getah Buah Pepaya*. Padang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Laporan Penelitian Proyek DPP/SPP universitas Andalas.
8. Haryati, T, P.A. Marbun & T. Purwadarta. 2010. *Preservasi Xilanase Bacillus pumilus PU4-2 dengan Teknik Imobilisasi pada Pollard dan Penambahan Kation*. JITV Vol. 15 No. 1 Th. 2010: 63-71. <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/fullteks/jitv/jitv151-9.pdf> diakses tanggal 20 september 2012.

