

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM K⁺ (DALAM BENTUK SENYAWA KHPO₄) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN

THE EFFECT OF K⁺ METAL ION ADDITION (AS KHPO₄ COMPOUND) ON TRYPSIN'S ACTIVITY

Oleh: Muftiatul Rahmawati dan Eddy Sulistyowati
Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta
e-mail: eddysulistyowati@yahoo.co.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan ion logam K⁺ dalam bentuk senyawa KHPO₄ terhadap aktivitas enzim tripsin. Sebelumnya ditentukan kondisi optimum enzim tripsin meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat. Subjek penelitian ini adalah aktivitas enzim tripsin dengan objek berupa aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam K⁺ dalam bentuk senyawa KHPO₄ dalam berbagai variasi konsentrasi, yaitu 0,01 M; 0,03 M; 0,05 M; 0,07 M; dan 0,09 M. Kadar protein ditentukan menggunakan metode Lowry. Aktivitas enzim tripsin ditentukan dengan metode Anson. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dilakukan pada kondisi optimum. Data yang diperoleh adalah aktivitas enzim tripsin dalam satuan mg/mL/menit. Analisis data yang digunakan adalah deskriptif kualitatif, sehingga dapat diketahui peran ion logam berupa aktivator atau inhibitor. Hasil penelitian menunjukkan kadar protein enzim tripsin sebesar 0,074 mg/mL. Kondisi optimum enzim tripsin pada pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Aktivitas enzim tripsin sebesar 0,00312 mg/mL/menit. Aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam K⁺ pada konsentrasi 0,01 M; 0,03 M; 0,05 M; 0,07 M; dan 0,09 M dan suhu 37°C berturut-turut sebesar 0,00320; 0,00337; 0,00360; 0,00375 mg/mL; dan 0,00427 mg/mL/menit. Dengan demikian, penambahan ion logam K⁺ dalam bentuk senyawa KHPO₄ bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum.

Kata Kunci: aktivitas enzim tripsin, ion logam K⁺, KHPO₄.

Abstract

This research aimed to determine the effect of metal ion K⁺ as KHPO₄ compound against trypsin's activity. Determination of optimum condition of trypsin including the pH, temperature, incubation period and substrate's concentration had been undergone before the conduction. This research's subject is the trypsin's activity with object is the effect of ion K⁺ addition on trypsin's activity in the variety of concentration, which were 0.01 M; 0.03 M; 0.05 M; 0.07 M; dan 0.09 M. Determination of protein amount in trypsin undergone by Lowry's Method. Determination of trypsin's activity with casein substrate was undergone by Anson's Method. Trypsin's activity determined were conducted in optimum condition. The data collected in this research is trypsin's activity. The data analysis used is descriptive qualitative, so that could determine the trait of metal ion K⁺ is activator or inhibitor. The results of research showed that protein amount in trypsin is 0.074 mg/mL. The optimum condition of trypsin's activity is in pH 8, 37°C; 20 minutes of incubation period and 10

mg/mL as the concentration of substrate. The trypsin's activity is 0.00312 mg/mL/minute. On the trypsin's activity with addition of $KHPO_4$ compound with 0.01 M; 0.03 M; 0.05 M; 0.07 M; and 0.09 M in a row as the concentrations are 0.00320; 0.00337; 0.00360; 0.00375; and 0.00427 mg/mL/minute. Based on the data, metal ion K^+ as $KHPO_4$ compound has the quality as an activator against trypsin's activity in optimum condition.

Keywords: enzyme trypsin's activity, ion K^+ , $KHPO_4$

PENDAHULUAN

Sel hidup memiliki ciri yaitu memiliki proses metabolisme menggunakan media perantara berupa suatu protein yang disebut enzim. Enzim didapatkan dari sel hewan, tumbuhan ataupun mikroorga-nisme yang berfungsi meningkatkan laju reaksi tanpa adanya perubahan kesetim-bangan yang ada^[1]. Enzim bereaksi terhadap substrat dan mengubahnya men-jadi produk. Enzim bersifat spesifik dalam mengkatalisis suatu reaksi^[2].

Berdasarkan Poliana dan MacCabe (2007), enzim proteolitik bersifat esensial karena berfungsi dalam memecah protein menjadi molekul yang lebih kecil, termasuk di dalamnya adalah enzim tripsin^[3]. Aktivitas proteolitik enzim dipengaruhi oleh pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan buffer^[4]. Selain itu aktivitas suatu enzim juga dipengaruhi oleh suatu efektor (aktivator atau inhibitor).

Mineral penting bagi tubuh dan me-miliki fungsi untuk melakukan meta-bolisme dan membantu kerja enzim.

Kalium merupakan salah satu mineral yang termasuk dalam golongan makro. Kebutuhan mineral makro dalam sehari berjumlah lebih dari 100 mg, untuk kalium diperkirakan 2000mg per hari.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Fransiska (2013) dengan mengguna-kan substrat kasein, menunjukkan kalium meningkatkan aktivitas enzim pada enzim papain^[5]. Enzim papain termasuk dalam jenis proteolitik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Titik (2016) dan Kirana (2017) digunakan ion logam Ag (II) dan Zn (II) untuk melihat pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim tripsin. Kedua logam memberikan reaksi yang berbeda, Ag (II) sebagai inhibitor^[6] dan Zn (II) sebagai aktivator^[7].

Penelitian ini bertujuan untuk me-ningetahu kondisi optimum aktivitas enzim tripsin dan pengaruh penambahan ion logam K^+ terhadap aktivitas tersebut.

METODE PENELITIAN

Bahan

Larutan Buffer Fosfat 0,1 M (pH 7, 8 dan 9), Larutan TCA 10%, Larutan Tripsin,

Reagen Folin-Ciocalteu 1 N, Larutan NaOH 0,5 M, Pereaksi Lowry, Larutan kasein 1%, KHPO₄, akuades

Alat

Seperangkat alat gelas, seperangkat alat spektrofotometer Merk Thermo-Genesys 20, neraca analitik, *sentrifuge klinis*, incubator, pH-meter dan *stopwatch*.

Prosedur

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin Pada Kondisi Optimum

Aktivitas enzim tripsin ditentukan dengan kondisi optimum enzim tripsin, yaitu pada pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan metode Anson termodifikasi. Memasukkan 5 mL larutan kasein 10 mg/mL ke dalam 5 tabung reaksi yang berbeda kemudian melakukan prainkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian menambahkan 1 mL buffer fosfat 0,1 M pH 8 dan 1 mL larutan tripsin (8 mg/ 20 mL) serta diaduk hingga homogen. Inkubasi dilakukan selama 20 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi tambahkan 3 mL larutan 10% TCA dan mengaduknya dengan kuat untuk menghentikan reaksi.

Pada tabung kontrol dilakukan dengan memasukkan 1 mL tripsin, dan menambahkan 3 mL TCA 10%, serta diaduk hingga homogen. Selanjutnya, menambahkan 5 mL kasein yang telah diprainkubasi 5 menit pada suhu 37°C dan 1 mL buffer fosfat serta diaduk kuat. Setelah itu, baik tabung sampel dan tabung kontrol didiamkan 20 menit dalam air es. Semua tabung disentrifugasi klinis selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Mengambil 2 mL filtrat yang telah disentrifugasi. Filtrat diuji dengan metoda Anson, yaitu dengan mencampurkan 2 mL TCA-filtrat dengan 4 mL 0,5 M NaOH. Lalu ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dan mendinginkan selama 10 menit kemudian mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm. Pada blanko langsung dilakukan penambahan 4 mL 0,5 M NaOH dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu 1 N. Tabung blanko berisi 2 mL buffer fosfat. Aktivitas enzim tripsin yang dihitung dengan mencari selisih serapan antara tabung sampel dengan kontrol per menit dengan waktu inkubasi 20 menit^[8]. Analisis data yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan melihat besarnya aktivitas enzim

tripsin pada penambahan ion logam K^+ dalam bentuk senyawa $KHPO_4$ dengan berbagai variasi konsentrasi pada kondisi optimum untuk mengetahui sifat logam tersebut sebagai aktivator atau inhibitor.

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin terhadap Penambahan $KHPO_4$

Variasi konsentrasi ion logam K^+ dalam bentuk senyawa $KHPO_4$ senyawa yang ditambahkan adalah 0,01 M; 0,03 M; 0,05 M; 0,07 M; dan 0,09 M. Prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam K^+ dalam bentuk senyawa $KHPO_4$ sama seperti prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin dengan kondisi optimum. Pada tabung kontrol setelah enzim ditambahkan TCA, ditambahkan 1 mL larutan $KHPO_4$, lalu 5 mL kasein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data kondisi optimum aktivitas enzim tripsin pada pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Prosedur

ini dilakukan sebanyak 5 kali dengan hasil pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum.

Pengukuran ke-	Aktivitas Enzim Tripsin ($\frac{mg}{mL}/menit$)
1	0,00310
2	0,00325
3	0,00305
4	0,00315
5	0,00305

Berdasarkan Tabel 1 rerata aktivitas enzim tripsin sebesar 0,00312 mg/mL/menit.

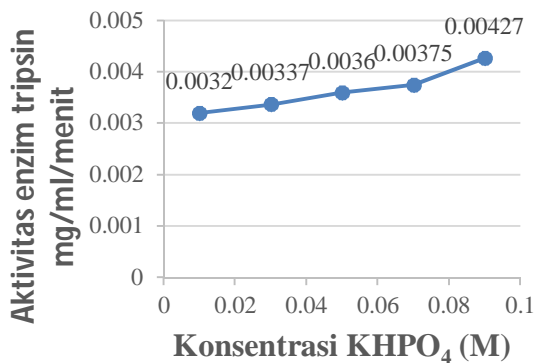
Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin terhadap Penambahan $KHPO_4$ dengan Metode Anson Termodifikasi

Penentuan aktivitas enzim tripsin terhadap penambahan $KHPO_4$ dengan metode Anson modifikasi dilakukan dengan kondisi optimum, yaitu pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat kasein 10 mg/mL. Penambahan ion logam K^+ dalam bentuk senyawa $KHPO_4$ dengan variasi konsentrasi 0,01 M; 0,03 M; 0,05 M; 0,07 M; dan 0,09 M.

Tabel 2. Aktivitas enzim tripsin dengan penambahan KHPO₄

Konsentrasi Senyawa KHPO ₄	Aktivitas Enzim Tripsin ($\frac{\text{mg}}{\text{mL}}/\text{menit}$)
0,01 M	0, 00320
0,03 M	0, 00337
0,05 M	0, 00360
0,07 M	0, 00375
0,09 M	0, 00427

Penambahan ion logam K⁺ dalam bentuk senyawa KHPO₄ pada penentuan aktivitas enzim tripsin, meningkatkan kerja enzim tripsin, Hal ini dapat dilihat dari naiknya aktivitas enzim tripsin pada saat penambahan KHPO₄, seperti terlihat pada Gambar 1



Gambar 1. Grafik Hubungan Penambahan KHPO₄ pada Berbagai Variasi Konsentrasi

dengan Aktivitas Enzim Tripsin

Enzim pada dasarnya memiliki dua sisi yaitu sisi aktif dan sisi alestolik. Pada sisi aktif, terjadi ikatan antara enzim dengan substrat karena bentuknya yang sesuai. Sedangkan sisi yang lain merupakan sisi alosterik, yang memiliki fungsi seperti sakelar yang dapat meningkatkan ataupun menurunkan kerja suatu enzim dengan melakukan ikatan pada inhibitor atau aktivator. Penambahan ion logam K⁺ dalam bentuk senyawa KHPO₄ pada penentuan aktivitas enzim tripsin bersifat aktivator karena me-ningkatkan kinerja enzim tripsin.

Ion logam K⁺ yang merupakan aktivator berikatan pada sisi alosterik enzim tripsin yang menyebabkan perubahan bentuk pada sisi aktif enzim menjadi cocok dengan substrat kasein. Ion logam K⁺ juga

meningkatkan kecepatan reaksi sehingga sisi aktif dari enzim tripsin dapat mengikat

lebih banyak substrat dan dapat menghasilkan lebih banyak asam amino.

KESIMPULAN

1. Kondisi optimum enzim tripsin berada pada pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 10 mg/mL dengan aktivitas enzim tripsin sebesar 0,00312 mg/mL per menit pada suhu 37°C.
2. Penambahan variasi konsentrasi KHPO_4 sebesar 0,01 M; 0,03 M; 0,05 M; 0,07 M; dan 0,09 M pada penentuan aktivitas enzim tripsin dengan kondisi optimum dapat meningkatkan aktivitas enzim tripsin. Sehingga KHPO_4 termasuk dalam aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kuchel dan Ralston. 2006. *Schaum's Easy Outlines*. Jakarta: Erlangga
- [2]. Falch, E.A. 1991. Industrial Enzymes Developments in Production and Application. *Biotech*. 9: 643-658.
- [3]. Poliana J, MacCabe AP. 2007. Industrial Enzymes; Structure, Function, and Applications. Springer, Dordrecht.
- [4]. Dongoran, D. S. 2004. Pengaruh Aktivator Sistein dan Natrium Klorida Terhadap Aktivitas Papain. *Sains Kimia*. 8(1) : 29-34
- [5]. Fransiska Nay Soda dan Rudiana Agustini. (2013). Pengaruh Penambahan Ion Logam K^+ terhadap Aktivitas Enzim Papain. *UNESA Journal of Chemistry* Vol. 2, No. 2
- [6]. Titik, T.W. (2016). *Pengaruh Penambahan Ion Logam Ag^+ terhadap Aktivitas Enzim Tripsin*. Skripsi Kimia . Yogyakarta: FMIPA UNY.
- [7]. Kirana, K.M. (2017). *Pengaruh Penambahan ZnSO_4 terhadap Aktivitas Enzim Tripsin*. Skripsi Kimia . Yogyakarta: FMIPA UNY.
- [8]. Togu, Gultom dan Eddy Sulistyowati. (2012). *Petunjuk Praktikum: Biokimia*. Yogya-karta: FMIPA UNY.