

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Ag^+ TERHADAP AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN

THE EFFECT OF Ag^+ METAL ION ADDITION ON TRYPSIN'S ACTIVITY

Titik Tri Wijayanti dan Eddy Sulistyowati

Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

titiktriwijayanti94@gmail.com, eddy_sulistyowati@uny.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein pada kondisi optimum. Sebelumnya, dilakukan penentuan kondisi optimum enzim tripsin meliputi pH, suhu, waktu inkubasi dan konsentrasi substrat. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dilakukan dengan metode Anson. Variasi konsentrasi senyawa AgNO_3 yang ditambahkan adalah 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M. Analisis data yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan membandingkan aktivitas enzim tripsin dengan dan tanpa penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 pada kondisi optimum yang telah diperoleh. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kondisi optimum enzim tripsin, yaitu pada pH 8, suhu 37°C , waktu inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum yaitu 0,00319 mg/mL/menit pada suhu 37°C . Sedangkan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M berturut-turut adalah 0,00163; 0,00030; 0,00023; dan 0,00010 mg/mL/menit pada suhu 37°C . Berdasarkan penelitian ini, ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 bersifat inhibitor terhadap aktivitas enzim tripsin.

Kata kunci: enzim, tripsin, ion logam Ag^+ , inhibitor

Abstract

This research aimed to determine the effect of Ag^+ metal ion in AgNO_3 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. Determination of trypsin's activity with casein substrate was undergone by Anson's Method. The variations of AgNO_3 concentration which were added are 0.001 M; 0.003 M; 0.005 M; and 0.007 M. The data analysis used is Descriptive-Qualitative, comparing trypsin's activity with and without Ag^+ metal ion addition in optimum condition that had been collected. The result shows the optimum condition of trypsin's activity is in pH 8; 37°C ; 20 minutes of incubation period and 10mg/mL as the concentration of substrate. The trypsin's activity in optimum condition is 0.00319 mg/mL/minute at the 37°C temperature. On the other hand, the trypsin's activity with addition of Ag^+ metal ion presented in AgNO_3 compound with 0.001 M; 0.003 M; 0.005 M; and 0.007 M in a row as the concentrations are 0.00163; 0.00030; 0.00023; and 0.00010 mg/mL/minute at the 37°C temperature. Based on the data, Ag^+ ion metal in AgNO_3 compound has the quality as an inhibitor against trypsin's activity.

Keywords: enzyme, trypsin, Ag^+ metal, inhibitor

PENDAHULUAN

Kasus keracunan logam berat telah menjadi penyebab kematian yang tinggi didunia. Keracunan logam berat banyak terjadi karena adanya pencemaran logam berat terhadap lingkungan melalui udara, air, maupun tanah. Pencemaran logam berat biasanya berasal dari kegiatan industri. Sebagai contoh kasus keracunan logam timbal di China pada tahun 2011. 139 warga China di sekitar pabrik baterai

disekitar daerah Taizhou, Zhejiang, China mengalami keracunan logam berat timbal. Tanah sekitar pabrik tersebut telah tercemar logam timbal yang melebihi ambang batas limbah [1].

Salah satu jenis logam yang kegunaannya dekat dengan makhluk hidup adalah perak (Ag). Senyawa perak yang banyak digunakan dalam kehidupan sehari – hari adalah senyawa perak nitrat (AgNO_3) [2]. Perak nitrat

merupakan salah satu jenis perak yang digunakan dalam bidang kesehatan yaitu untuk pengobatan anti infeksi topikal. Paparan yang berlebihan dari senyawa perak dapat menimbulkan keracunan dengan tanda timbulnya warna biru-keabu-abuan pada mata, sekat rongga hidung, tenggorokan dan kulit, iritasi pada kulit, borok dan gangguan pencernaan. Sedangkan paparan logam perak yang berkepanjangan dapat menimbulkan penyakit *argyria*, yaitu timbulnya warna biru keabu-abuan pada kulit [3].

Apabila logam masuk ke organel sel makhluk hidup, logam dapat mempengaruhi kinerja berbagai macam organel sel. Sebagai contoh organel sel retikulum endoplasma yang mengandung banyak enzim, kerja enzim akan dihambat oleh logam yang masuk ke dalam organel sel. Kerja utama dari logam adalah menghambat enzim dengan cara berinteraksi dengan gugus SH enzim [4]. Ada beberapa interaksi antara nanopartikel logam dan protein dalam tubuh yaitu adanya pembentukan ikatan kovalen, interaksi elektrostatis dan ikatan gugus -SH

asam amino. Interaksi-interaksi inilah yang dimungkinkan menghambat aktivitas enzim tripsin [5].

Aktivitas enzim didefinisikan sebagai kemampuan enzim sebagai katalis dalam reaksi biokimia tubuh, pengubahan substrat menjadi produk [6]. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH dan suhu lingkungan. Selain itu juga dipengaruhi adanya senyawa lain yang ditambahkan dalam lingkungan enzim.

Dalam studi kristalografi perak-tripsin, kation perak akan mengikat pusat aktif enzim tripsin yang berada antara gugus karboksil Asp 102 dan δ -nitrogen dari His 57 [7]. Selain itu, ion logam Ag^+ dapat menghambat aktivitas enzim tripsin dengan substrat BAEE, BAA dan ATEE [8].

Salah satu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa $AgNO_3$ terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein.

METODE PENELITIAN

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Aktivitas enzim tripsin ditentukan pada 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 yang dimodifikasi [9]. 5 mL larutan kasein 10 mg/mL dalam buffer fosfat 0,1 M pH 8 di prainkubasi selama 5 menit pada 37°C. Reaksi enzim dimulai dengan penambahan 1 mL mL larutan buffer fosfat 0,1 M pH 8. Kemudian menambahkan 1 mL larutan enzim tripsin (8 mg/20 mL) dalam buffer fosfat 0,1 M pH 8. Tabung diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C dihitung dari penambahan enzim. Reaksi dihentikan dengan penambahan 3 mL larutan TCA 10%. Larutan dan endapan yang dihasilkan di sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Asam amino yang terlarut pada supernatant diambil 2 mL kemudian ditambahkan 4 mL larutan NaOH 0,5 M dan 1 mL Folin-Ciocalteau

(perbandingan 1:1). Larutan didiamkan selama 10 menit untuk kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm. Larutan kontrol dibuat dengan menon-aktifkan enzim terlebih dahulu, yaitu dengan menambahkan 1 mL larutan buffer fosfat 0,1 M pH 8 dan 1 mL larutan enzim tripsin pH 8 dengan 3 mL larutan TCA 10%. Kemudian menambahkan 5 mL larutan kasein 10 mg/mL pH 8 dan menginkubasinya selama 5 menit pada suhu 37°C. Langkah selanjutnya seperti pada prosedur larutan sampel. Sedangkan pada larutan blanko menggunakan 2 mL larutan buffer fosfat 0,1 M pH 8 sebagai pengganti filtrat.

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan Ion Logam Ag⁺ dalam Bentuk Senyawa AgNO₃

Variasi konsentrasi senyawa AgNO₃ yang ditambahkan adalah 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M. Prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan senyawa AgNO₃ sama dengan prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin pada

kondisi optimum. Perbedaannya terletak pada penambahan penambahan 1 mL larutan AgNO₃ menggantikan penambahan 1 mL larutan buffer fosfat 0,1 M pH 8.

1	0.00320
2	0.00335
3	0.00320
4	0.00325
5	0.00295

HASIL DAN DISKUSI

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Aktivitas enzim tripsin dihitung dari nilai absorbansi yang diperoleh pada tabung larutan sampel dan tabung larutan kontrol. Aktivitas enzim tripsin dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$V = \frac{A_{ts} - A_{tk}}{t}$$

Keterangan:

V = aktivitas enzim tripsin

A_{ts} = Absorbansi tabung sampel

A_{tk} = Absorbansi tabung kontrol

t = waktu inkubasi (20 menit)

Tabel 1. Hasil penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum

Sampel	Aktivitas Enzim Tripsin (mg/mL/menit pada suhu 37°C)
--------	--

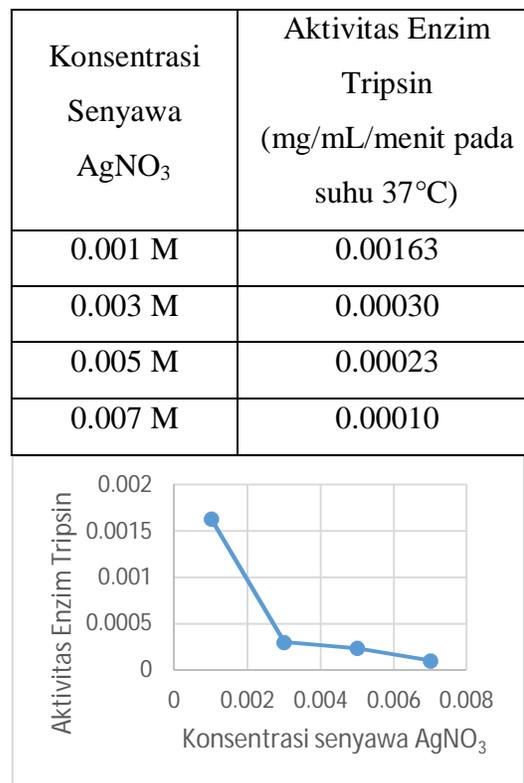
Berdasarkan nilai aktivitas enzim tripsin dalam tabel, maka dapat dihitung rerata aktivitas enzim tripsin, yaitu 0,00319 mg/mL/menit pada suhu 37°C.

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan Ion Logam Ag⁺ dalam Bentuk Senyawa AgNO₃

Perhitungan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Ag⁺ dalam bentuk senyawa AgNO₃ sama dengan perhitungan aktivitas enzim tripsin sebelumnya. Senyawa AgNO₃ yang ditambahkan sebanyak 1 mL dengan variasi konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M.

Tabel 2. Aktivitas enzim tripsin dengan penambahan senyawa AgNO₃

Pada penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 pada penentuan aktivitas enzim tripsin, senyawa AgNO_3 menghambat kerja enzim tripsin. Hal ini dapat dilihat dari turunnya aktivitas enzim tripsin pada saat penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 . Aktivitas enzim tripsin menurun setelah adanya penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 dengan variasi konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M. Aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum yaitu 0,00319 mg/mL/menit pada suhu 37°C . Nilai ini diperoleh dari nilai rerata aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum. Sedangkan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa AgNO_3 konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M berturut-turut adalah 0,00163; 0,00030; 0,00023; dan 0,00010 mg/mL/menit pada suhu 37°C .



Gambar 1. Hubungan konsentrasi AgNO_3 dengan aktivitas enzim tripsin

Penurunan aktivitas enzim tripsin ini terjadi karena adanya pengaruh ion Ag^+ yang berasal dari senyawa AgNO_3 . Ion Ag^+ menghambat kerja enzim tripsin dengan cara mengikat gugus sulfhidril ($-\text{SH}$) yang terdapat pada sistein dalam enzim tripsin maupun pada kasein. Reaksinya adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Reaksi pengikatan Ag^+ pada gugus sulfhidril [10]

Meskipun gugus $-SH$ bukan merupakan sisi aktif dari enzim tripsin, namun apabila gugus ini mengikat ion Ag^+ maka konformasi enzim akan berubah. Apabila ion Ag^+ berikatan dengan enzim tripsin maka akan diperoleh kompleks EI. Kompleks ini masih dapat berikatan dengan substrat membentuk kompleks EIS. Hal ini dapat terjadi karena sisi aktif pengikatan substrat dan sisi yang diikat oleh ion Ag^+ merupakan dua sisi yang berbeda. Sedangkan apabila enzim telah berikat dengan substrat pada sisi aktifnya maka ion Ag^+ tetap dapat mengikat enzim tripsin membentuk kompleks ESI. Kedua kompleks yang terbentuk ini tidak akan dapat menghasilkan produk. Sehingga produk yang dihasilkan menjadi rendah dan aktivitas enzim tripsin juga semakin rendah.

SIMPULAN

Kondisi optimum enzim tripsin dengan substrat kasein yaitu pada pH 8, suhu $37^{\circ}C$, waktu inkubasi 20 menit dan konsentrasi substrat 10 mg/mL.

Aktivitas enzim tripsin dalam kondisi optimum memiliki rerata 0,00319 mg/mL/menit pada suhu $37^{\circ}C$. Sedangkan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa $AgNO_3$ konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; dan 0,007 M berturut-turut adalah 0,00163; 0,00030; 0,00023; dan 0,00010 mg/mL/menit pada suhu $37^{\circ}C$. Aktivitas ini lebih rendah dibandingkan aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa $AgNO_3$. Berdasarkan penelitian ini, ion logam Ag^+ dalam bentuk senyawa $AgNO_3$ bersifat inhibitor terhadap aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim. (2011). *Darah Ratusan Warga Cina Mengandung Logam Berat*. Diakses dari <https://m.tempo.co/read/news/2011/03/25/118322931/darah-ratusan-warga-cina-mengandung-logam-berat> pada tanggal 05 April 2016 pukul 21.25 WIB.
- [2] Kristian H. Sugiyarto dan Retno D. Suyanti. (2010). *Kimia Anorganik Logam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

- [3] Hari Kuswati dkk. (2003). Perolehan Kembali Logam Perak dari Limbah Cair Pencucian Film Studio Dibanding Film X-ray dengan Menggunakan Metode SN Flake. *Jurnal Penelitian Unitas (Maret 2003 – Agustus 2003, Vol.11 no. 2): 46-56.*
- [4] Lu, Frank C. (2010). *Toksikologi Dasar*. Jakarta: UI Press.
- [5] Patil, Chandrashekhar D. et. al. (2016). Trypsin Inactivation by Latex Fabricated Gold Nanoparticles: A New Strategy Towards Insect Control. *Enzyme and Microbial Technology*. (Nomor 92 tahun 2016).Hlm. 18-25.
- [6] Togu Gultom. (2011). *Enzimologi*. Yogyakarta: UNY.
- [7] Chamber, J.L., et al. (1974). Silver Ion Inhibition of Serine Protease: Crystallographic Study of Silver-Trypsin. *Biochemical and Biophysical Research Communication*.(Nomor 1 tahun 1974). Hlm. 70-74.
- [8] Green, N. Michael and Hans Neurath. (1953). The Effects of Divalent Cations on Trypsin. *J.*