

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Al^{3+} TERHADAP AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN

THE EFFECT OF Al^{3+} METAL ION ADDITION ON TRYPSIN'S ACTIVITY

Herlina Rani Wijayanti dan Das Salirawati

Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

herlinawijayanti13@gmail.com, das_salirawati@uny.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ terhadap aktivitas enzim tripsin. Sebelumnya telah dilakukan penentuan kondisi optimum enzim yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dilakukan menggunakan metode Anson pada kondisi optimum yang telah diperoleh. Variasi konsentrasi ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ yang ditambahkan adalah 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; 0,009 M. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum enzim pada pH 8; suhu $37,5^{\circ}C$; waktu inkubasi 20 menit; dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum, yaitu 0,00603 mg/mL/menit. Untuk aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ pada konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; 0,009 M berturut-turut, yaitu 0,006883; 0,00760; 0,008883; 0,008683; 0,00883 mg/mL/menit. Berdasarkan data tersebut, penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ bertindak sebagai aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum.

Kata kunci: aktivitas enzim, tripsin, ion logam Al^{3+} , aktivator

Abstract

This research aimed to determine the effect of Al^{3+} metal ion in $AlCl_3$ compound against trypsin's activity. The determination of optimum trypsin condition including the pH, temperature, incubation period, and substrate's concentration has been done before the conduction. Determination of trypsin's activity with casein substrate was undergone by Anson's Method. The variations of $AlCl_3$ concentration which were added are 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; 0,009 M. The results of the research show that the optimum condition of trypsin is in pH 8; $37,5^{\circ}C$; 20 minutes of incubation period, and 10 mg/mL as substrate's concentration.

The activity of trypsin in optimum condition is 0,00603 mg/mL/minute. Trypsin's activity with addition of AlCl_3 compound with 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; 0,009 M in a row as the concentration are 0,006883; 0,00760; 0,008883; 0,008683; 0,00883 mg/mL/minute. Based on the data, the addition of Al^{3+} metal ion in AlCl_3 compound has the quality as an activator against trypsin's activity in optimum condition.

Keywords: enzyme's activity, trypsin, Al^{3+} metal ion, activator

PENDAHULUAN

Enzim merupakan suatu kelompok protein yang berperan sangat penting dalam aktivitas biologis. Enzim ini akan kehilangan aktivitasnya akibat panas, asam atau basa kuat, pelarut organik atau pengaruh lain yang dapat menyebabkan denaturasi protein. Enzim dikatakan mempunyai sifat yang sangat khas, karena hanya bekerja pada substratnya [1].

Dalam tubuh kita ada ribuan enzim yang membantu berbagai reaksi yang terjadi dalam tubuh, salah satunya adalah enzim tripsin yang merupakan salah satu enzim protease. Protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein [2]. Enzim tripsin berfungsi memecah protein pada makanan dengan cara memutuskan ikatan peptida dari gugus karboksil residu asam amino arginin dari suatu polipeptida. Setiap enzim bekerja pada substrat yang spesifik, demikian

pula enzim tripsin hanya bekerja pada substrat kasein, benzoil-n-arginin etil ester (BAEE), benzoil-n-arginin-amide (BAA), dan asetil-L-tirosin etil-ester (ATEE). Enzim tripsin juga berfungsi mengubah tripsinogen menjadi tripsin aktif dan menghidrolisis protein yang dihasilkan oleh pankreas [3].

Enzim hanya akan bekerja dalam kondisi yang sesuai, seperti suhu, pH, konsentrasi, kofaktor, dan sebagainya [4]. 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) [5].

Molekul anorganik (ion-ion logam) dapat masuk ke dalam tubuh

dan bereaksi dengan enzim, salah satunya adalah ion logam Al^{3+} . Aluminium adalah logam yang ringan dan cukup penting dalam kehidupan manusia [6]. Tubuh manusia dapat mengatasi aluminium yang masuk dalam jumlah tertentu dan mengeluarkannya secara efektif. Namun apabila dalam jumlah yang berlebihan dapat membahayakan tulang dan otak.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ yang ditambahkan ke dalam enzim tripsin dengan substrat kasein. Pengaruh aktivitas enzim tripsin dilakukan dalam keadaan optimum.

METODE PENELITIAN

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Aktivitas enzim tripsin ditentukan menggunakan metode Anson pada kondisi optimum enzim tripsin, yaitu pada pH 8; suhu $37,5^{\circ}C$; waktu inkubasi 20 menit; dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Pertama memasukkan larutan kasein 10 mg/mL sebanyak 5 mL ke dalam

tabung reaksi berbeda, sebelumnya kasein telah melalui proses prainkubasi selama 5 menit pada suhu $37,5^{\circ}C$. Kemudian menambahkan 0,5 mL buffer fosfat 0,1 M pH 8 dan 1,5 mL larutan tripsin (8 mg/ 20mL), diaduk hingga homogen. Inkubasi dilakukan selama 20 menit pada suhu $37,5^{\circ}C$. Setelah dilakukan inkubasi ditambahkan larutan TCA 20% dan mengaduknya dengan kuat untuk menghentikan reaksi. Pada tabung kontrol memasukkan 1,5 mL larutan tripsin terlebih dahulu dan menambahkan larutan TCA 20%, serta diaduk hingga homogen. Selanjutnya, menambahkan 5 mL kasein yang telah melalui proses prainkubasi selama 5 menit pada suhu $37,5^{\circ}C$ dan 0,5 mL larutan buffer fosfat serta diaduk kuat. Setelah itu, tabung sampel dan kontrol didiamkan selama 20 menit dalam air es. Semua tabung kemudian disentrifuge selama 15 menit. Mengambil 2 mL filtrat, memasukkan ke dalam tabung lain. Menambahkan ke dalam masing-masing tabung 4 mL NaOH 0,5 M dan mengaduknya. Menambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dan

mendiamkan selama 10 menit. Mengukur absorbansi pada λ maksimum (720 nm). Tabung blanko berisi 2 mL buffer fosfat 0,1 M. Aktivitas enzim tripsin dihitung dengan mencari selisih absorbansi antar tabung sampel dengan tabung kontrol per 20 menit. Analisis data yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan membandingkan aktivitas enzim tripsin dengan dan tanpa penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ pada kondisi optimum yang telah diperoleh.

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ pada Kondisi Optimum

Variasi konsentrasi senyawa $AlCl_3$ yang digunakan adalah 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; 0,009 M. Prosedur yang digunakan sama seperti prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum. Perbedaannya terletak pada tabung sampel berisi 1,5 mL enzim tripsin dan larutan kasein direaksikan terlebih dahulu,

kemudian ditambah 0,5 mL larutan $AlCl_3$.

HASIL DAN DISKUSI

Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Aktivitas enzim tripsin ditentukan pada kondisi optimum, yaitu pada pH 8; suhu $37,5^\circ C$; waktu inkubasi 20 menit; dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Penentuan aktivitas enzim pada kondisi optimum dilakukan sebanyak lima kali, data aktivitas enzim tripsin yang diperoleh ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum

Pengukuran ke-	Aktivitas Enzim Tripsin (mg/mL/menit) pada suhu $37,5^\circ C$
1	0,00545
2	0,00555
3	0,00610
4	0,00615
5	0,00690
Rerata	0,00603

Berdasarkan data aktivitas enzim tripsin dalam tabel, maka dapat dihitung rerata aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum yaitu sebesar 0,00603 mg/mL/menit pada 37,5°C.

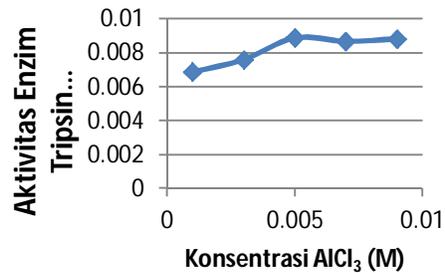
Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan AlCl₃ pada Kondisi Optimum

Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Al³⁺ dalam bentuk senyawa AlCl₃ dilakukan menggunakan metode Anson, dalam kondisi optimum, yaitu pH 8, suhu 37,5°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat sebesar 10 mg/mL. Konsentrasi Al³⁺ yang ditambahkan adalah 0,001 M, 0,003 M, 0,005 M, 0,007 M, dan 0,009 M, dalam bentuk senyawa AlCl₃. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ion logam Al³⁺ dalam bentuk senyawa AlCl₃ dilakukan tiga kali (triplo), dengan hasil rerata aktivitas enzim trisin ditunjukkan oleh Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan Senyawa AlCl₃

Variasi Konsentrasi AlCl₃	Rerata aktivitas Enzim Tripsin (mg/mL/menit) pada suhu 37,5°C
0,001 M	0,006883
0,003 M	0,00760
0,005 M	0,008883
0,007 M	0,008683
0,009 M	0,00883

Penambahan senyawa AlCl₃ dengan konsentrasi 0,001 M, 0,003 M, 0,005 M, 0,007 M, dan 0,009 M dapat meningkatkan aktivitas enzim tripsin, sehingga senyawa AlCl₃ berperan sebagai aktivator. Pada kondisi optimum, aktivitas enzim tanpa penambahan ion logam Al³⁺ adalah 0,00603 mg/mL/menit pada 37,5°C. Setelah penambahan ion logam Al³⁺ dalam bentuk senyawa AlCl₃ dengan konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M, dan 0,009 M, meningkatkan aktivitas enzim tripsin secara berturut-turut, yaitu 0,006883; 0,00760; 0,008883; 0,008683; dan 0,00883 mg/mL/menit pada suhu 37,5°C. Data kenaikan aktivitas enzim tripsin setelah penambahan ion logam disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan Konsentrasi AlCl₃ vs Aktivitas Enzim Tripsin

Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa penambahan Al³⁺ dapat meningkatkan aktivitas enzim tripsin, dibandingkan aktivitas enzim tanpa penambahan Al³⁺ yang memiliki rerata aktivitas sebesar 0,00603 mg/mL/menit pada 37,5°C. Perbedaan aktivitas enzim tripsin tidak terlalu signifikan jika dibandingkan, hal ini sesuai dengan penelitian [7] dan [8] yang menyatakan bahwa penambahan logam Al³⁺ tidak memiliki pengaruh besar apabila ditambahkan pada enzim tripsin. Penambahan AlCl₃ aktivitas enzim meningkat dikarenakan kompleks enzim-substrat yang terbentuk akan mengikat Al³⁺ pada sisi alosterik enzim tripsin dan menghasilkan lebih banyak asam amino, sehingga sisi aktif enzim

akan bertambah dan menyebabkan aktivitas enzim juga semakin meningkat.

Berdasarkan penelitian, Al³⁺ memiliki pengaruh sebagai aktivator enzim namun tidak terlalu signifikan meningkatkan aktivitas enzim, maka dari itu Al³⁺ dapat menguntungkan manusia apabila masuk ke dalam tubuh pada kadar tertentu. Dengan hasil penelitian ini diharapkan dapat menginformasikan mengenai pengaruh Al³⁺ dan toksikologinya, serta manfaatnya bagi tubuh.

SIMPULAN

Kondisi optimum enzim tripsin, yaitu pH 8; suhu 37,5°C; waktu inkubasi 20 menit; dan konsentrasi substrat 10 mg/mL dengan aktivitas enzim optimum sebesar 0,00603 mg/mL/menit. Ada pengaruh penambahan ion logam Al³⁺ dalam bentuk senyawa AlCl₃ dengan konsentrasi 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; dan 0,009 M, yaitu semakin besar konsentrasi ion logam Al³⁺ yang ditambahkan, maka semakin besar juga aktivitas enzim

tripsin. Hal tersebut menunjukkan bahwa ion logam Al^{3+} dalam bentuk senyawa $AlCl_3$ berperan sebagai aktivator enzim tripsin, namun peningkatan aktivitas enzim tripsin tidak terlalu signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Girindra, A. (1990). *Biokimia I*. Jakarta: Gramedia.
- [2] Ward, O. P. 1983. *Proteinase. Di dalam Microbial Enzyme and Biotechnology*. W. M. Fogart. Applied Science Publisher. New York.
- [3] Poedjadi, A. (2006). *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- [4] Bintang, M. (2010). *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- [5] Lehninger, A. . (1997). *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- [6] Anton, J. H. (1992). *Mengenal Pelapisan Logam Elektroplating*. Yogyakarta: Andi Offset.
- [7] Krejpcio, Z., et. al. (2002). The Influence of Al^{3+} Ions on Pepsin and Trypsin Activity in Vitro. *Polish Journal of Environmental Studies*. 11: 251-254.
- [8] Dornyei, A. et. al. (2003). The Effects of $Al(III)$ Speciation on The Activity of Trypsin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 97: 118-123.