

## **PENGARUH PENAMBAHAN $ZnSO_4$ TERHADAP AKTIVITAS ENZIM TRIPSIN**

### ***THE EFFECT OF $ZnSO_4$ ADDITION ON TRYPSIN'S ACTIVITY***

**Kirana Kristina Mulyono dan Eddy Sulistyowati**

*Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta*

[magnificence.kirana@gmail.com](mailto:magnificence.kirana@gmail.com), [eddy\\_sulistyowati@uny.ac.id](mailto:eddy_sulistyowati@uny.ac.id)

#### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan  $ZnSO_4$  terhadap aktivitas enzim tripsin. Sebelumnya dilakukan penentuan kondisi optimum enzim tripsin meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan substrat kasein dilakukan dengan menggunakan metode Anson. Penentuan aktivitas enzim tripsin dengan dan tanpa penambahan  $ZnSO_4$  dilakukan pada kondisi optimum yang telah diperoleh. Variasi konsentrasi senyawa  $ZnSO_4$  yang ditambahkan adalah 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum enzim tripsin pada pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum, yaitu 0,00153 mg/mL per menit pada suhu 37°C. Untuk aktivitas enzim tripsin dengan penambahan  $ZnSO_4$  pada konsentrasi 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M berturut-turut sebesar 0,00157; 0,00158; 0,00165; 0,00158; dan 0,00163 mg/mL per menit pada suhu 37°C. Berdasarkan data tersebut, penambahan  $ZnSO_4$  bersifat aktivator terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum, tetapi tidak memberikan pengaruh yang besar terhadap aktivitas enzim tripsin.

**Kata kunci:** aktivitas enzim, tripsin,  $ZnSO_4$

#### **Abstract**

This research aimed to determine the effect of  $ZnSO_4$  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. Trypsin's activity determined with and without adding the  $ZnSO_4$  compound, were conducted in optimum condition which had been collected. The variations of

ZnSO<sub>4</sub> concentration which were added are 0.0010 M; 0.0015 M; 0.0020 M; 0.0025 M; and 0.0030 M. The results of research show 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 in optimum condition is 0.00153 mg/mL per minute at the 37°C temperature. On the trypsin's activity with addition of ZnSO<sub>4</sub> compound with 0.0010 M; 0.0015 M; 0.0020 M; 0.0025 M; and 0.0030 M in a row as the concentrations are 0.00157; 0.00158; 0.00165; 0.00158; and 0.00163 mg/mL per minute at the 37°C temperature. Based on the data, ZnSO<sub>4</sub> has the quality as an activator against trypsin's activity in optimum condition, but does not give big effect on trypsin's activity.

**Keywords:** enzyme activity, trypsin, ZnSO<sub>4</sub>

## **PENDAHULUAN**

Enzim merupakan kelompok protein yang bersifat katalis dan mengatur perubahan senyawa kimia dalam sistem biologis[1]. Setiap enzim bekerja pada substrat tertentu. Enzim dapat dihasilkan oleh hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Enzim proteolitik atau protease atau proteinase merupakan salah satu jenis enzim yang berfungsi memecah protein menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Contoh dari enzim proteolitik, yaitu enzim tripsin yang diproduksi dalam pankreas.

Aktivitas proteolitik suatu enzim dipengaruhi beberapa faktor. Salah satu karakteristik aktivitas enzim adalah

adanya efektor, yaitu molekul lain berupa molekul anorganik misalnya ion logam yang dapat mempengaruhi aktivitas katalitiknya. Aktivitas enzim tripsin dapat ditingkatkan dengan penambahan aktivator atau dihambat dengan penambahan inhibitor yang sering disebut sebagai efektor.

Sejak manusia ada di dunia ini, manusia sudah mengenal kebutuhan akan makan[2]. Berbagai unsur anorganik (mineral) terdapat dalam bahan biologi, tetapi tidak atau belum semua mineral tersebut terbukti esensial, sehingga ada mineral esensial dan nonesensial[3]. Zn merupakan salah satu contoh mineral esensial.

Zn dibutuhkan manusia dalam jumlah yang sangat sedikit. Sumber Zn dapat berasal dari makanan dan cairan pankreas. Kebutuhan Zn dalam tubuh orang dewasa sebesar 15 mg/hari dengan asumsi daya serap usus sebesar 25%. Zn terdapat dalam jaringan dengan konsentrasi yang sangat kecil.

Penyerapan Zn terjadi di duodenum, ileum, dan jejunum dan hanya sedikit terjadi di kolon ataupun lambung[4]. Di dalam darah transpor Zn diatur oleh albumin, antiprotease, dan  $\alpha_2$  makroglobulin untuk dibawa ke seluruh jaringan tubuh. Zn yang dibawa ke dalam pankreas digunakan untuk membuat enzim pencernaan dan dikeluarkan ke saluran pencernaan jika diperlukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ion Zn<sup>2+</sup> pada tripsin dengan substrat kasein. Pengaruh aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan kondisi optimum.

## **METODE PENELITIAN**

### **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[5]. Memasukkan 5 mL larutan kasein 10 mg/mL ke dalam 5 tabung reaksi yang berbeda kemudian melakukan pra-inkubasi 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 dipra-inkubasi 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 mendiamkan 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 balngko 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. Analisis data yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan membandingkan aktivitas enzim tripsin dengan dan tanpa penambahan  $ZnSO_4$  pada kondisi optimum yang telah diperoleh.

#### **Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan $ZnSO_4$**

Variasi konsentrasi senyawa  $AgNO_3$  yang ditambahkan adalah 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M. Prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin dengan penambahan  $ZnSO_4$  sama seperti prosedur penentuan aktivitas enzim tripsin dengan kondisi optimum. Perbedaannya terletak pada tabung sampel 1 mL enzim tripsin dan 1 mL larutan  $ZnSO_4$  direaksikan terlebih dahulu kemudian ditambahkan ke dalam larutan kasein. Pada tabung kontrol setelah enzim ditambahkan TCA, ditambahkan 1 mL larutan  $ZnSO_4$ , lalu 5 mL kasein.

### **HASIL DAN DISKUSI**

#### **Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin pada Kondisi Optimum**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh data aktivitas enzim tripsin dengan kondisi optimum, yaitu pada pH 8, suhu  $37^\circ C$ , waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat 10 mg/mL. Penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum dilakukan sebanyak lima kali dengan hasil aktivitas enzim tripsin yang

ditunjukkan pada tabel seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penentuan aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum

Sampel	Aktivitas Enzim Tripsin ( $\frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ /menit) pada suhu 37°C
1	0,00125
2	0,00115
3	0,00140
4	0,00250
5	0,00135

Berdasarkan nilai aktivitas enzim tripsin dalam tabel, maka dapat dihitung rerata aktivitas enzim tripsin, yaitu 0,00153 mg/mL per menit pada 37°C.

**Penentuan Aktivitas Enzim Tripsin dengan Penambahan ZnSO<sub>4</sub>**

Penentuan aktivitas enzim tripsin terhadap penambahan ZnSO<sub>4</sub> 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 Zn<sup>2+</sup> dalam bentuk ZnSO<sub>4</sub>

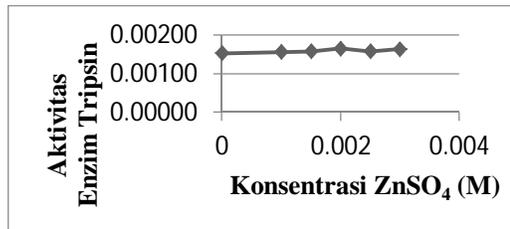
dilakukan dengan variasi konsentrasi 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M.

Tabel 2. Aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ZnSO<sub>4</sub>

Konsentrasi Senyawa ZnSO <sub>4</sub>	Aktivitas Enzim Tripsin ( $\frac{\text{mg}}{\text{mL}}$ /menit) pada suhu 37°C
0.0010 M	0,00157
0.0015 M	0,00158
0.0020 M	0,00165
0.0025 M	0,00158
0.0030 M	0,00163

Penambahan ZnSO<sub>4</sub> pada penentuan aktivitas enzim tripsin, senyawa ZnSO<sub>4</sub> meningkatkan kerja enzim tripsin, tetapi tidak memberikan pengaruh yang besar terhadap aktivitas enzim tripsin. Hal ini dapat dilihat dari naiknya aktivitas enzim tripsin pada saat penambahan ZnSO<sub>4</sub>. Aktivitas enzim tripsin meningkat setelah adanya penambahan ZnSO<sub>4</sub>. Aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum, yaitu 0,00153 mg/mL per menit pada 37°C. Pada aktivitas enzim tripsin dengan penambahan ZnSO<sub>4</sub> konsentrasi 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M;

dan 0,0030 M berturut-turut adalah 0,00157; 0,00158; 0,00165; 0,00158; dan 0,00163 mg/mL per menit pada suhu 37°C.



Gambar 1. Hubungan konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> dengan aktivitas enzim tripsin

Adanya ion logam Zn<sup>2+</sup> dapat meningkatkan kinerja enzim tripsin meskipun tidak terlalu besar. Ion logam Zn<sup>2+</sup> berikatan pada sisi alosterik enzim tripsin dan ikatannya lemah serta bersifat reversibel. Ikatan Zn<sup>2+</sup> pada sisi alosterik menyebabkan sedikit perubahan konformasi yang ditransmisikan melalui protein pada sisi aktif katalitik enzim. Oleh karena itu, sisi aktif dari enzim bertambah dan dihasilkan lebih banyak asam amino.

Peneliti mencoba melakukan penambahan variasi konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> yang lain, yaitu 0,001 M; 0,003 M; 0,005 M; 0,007 M; dan 0,009 M. Pada penambahan konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> 0,005

M; 0,007 M; dan 0,009 M aktivitas enzim tripsin berada dibawah aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ZnSO<sub>4</sub> (inhibitor). Efek inhibitor disebabkan oleh sisa ion Zn<sup>2+</sup> yang tidak terikat pada sisi alosterik enzim membentuk ikatan dengan substrat, sehingga mengakibatkan penurunan kompleks enzim substrat yang terbentuk. Pada penambahan konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> 0,001 M dan 0,003 M aktivitas enzim tripsin berada diatas aktivitas enzim tripsin tanpa penambahan ZnSO<sub>4</sub> (aktivator). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian pada variasi konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M yang bertindak sebagai aktivator.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat diketahui bahwa adanya cairan pankreas yang berfungsi membentuk enzim protease, yaitu tripsin dapat meningkatkan aktivitas katalitik dari tripsin, apabila Zn dikeluarkan oleh pankreas saat mencerna makanan. Kandungan Zn yang ditambahkan pada susu bubuk sekitar 5 mg, sehingga tidak akan mengganggu atau menghambat kinerja dari enzim tripsin. Pada

penelitian yang dilakukan, Zn dapat menurunkan aktivitas enzim tripsin pada konsentrasi 0,0025 M dan akan menghambat aktivitas enzim tripsin pada konsentrasi Zn lebih dari 0,0030 M.

Adanya penurunan dan peningkatan aktivitas enzim tripsin yang terjadi tidak besar pada variasi konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> yang lain. Adanya penambahan ion logam Zn<sup>2+</sup> tidak memberikan dampak yang besar terhadap aktivitas enzim tripsin [6][7] [8]. Oleh karena itu, Zn dapat menguntungkan manusia apabila dikonsumsi pada takaran yang sesuai.

## SIMPULAN

Kondisi optimum meliputi pH 8, suhu 37°C, waktu inkubasi 20 menit, dan konsentrasi substrat 10 mg/mL dengan aktivitas enzim tripsin sebesar 0,00153 mg/mL per menit pada suhu 37°C. Penambahan variasi konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> sebesar 0,0010 M; 0,0015 M; 0,0020 M; 0,0025 M; dan 0,0030 M pada penentuan aktivitas enzim tripsin

dengan kondisi optimum meningkatkan aktivitas enzim tripsin yang berarti bertindak sebagai aktivator, tetapi pengaruhnya relatif kecil terhadap aktivitas enzim tripsin.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] R., Irwan, Natsir, H., Maming, dan Rugiyah, A. (2014). Pengaruh Penambahan MnCl<sub>2</sub> Terhadap Produksi Enzim Protease Dari *Bacillus licheniformis* HSA3-1a. *Jurnal Ilmiah Biokimia*. <http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/8554>. Diakses: 12-Nov-2016.
- [2] Sulistyowati, E. (2008). *Diktat: Toksikologi*. Yogyakarta: Fakultas MIPA UNY.
- [3] Arifin, Z. (2008). Beberapa unsur mineral esensial mikro dalam sistem biologi dan metode analisisnya. *J. Litbang Pertan*. 27(3): 99–105.
- [4] Widhyari, S. D. (2012). PERAN DAN DAMPAK DEFISIENSI ZINC ( Zn ). *Wartazoa*. 22 ( 3):141–148.
- [5] Gultom, T. dan Sulistyowati, E. (2012) *Petunjuk Praktikum: Biokimia*. Yogyakarta: Fakultas MIPA UNY.

- [6] Zhang, T., Zhang, H., Liu, G., dan Gao, C. (2014). Interaction of Cu ( 2 + ), Pb ( 2 + ), Zn ( 2 + ) with Trypsin : What is the Key Factor of their Toxicity ? Interaction of Cu 2 + , Pb 2 + , Zn 2 + with Trypsin : What is the Key Factor of their Toxicity ?. *J. Fluoresc.* 24: 1803–1810.
- [7] Naz, S., Siddiqi, R., dan Sayeed, S. A. (2001). In vitro study of the inhibitory effect of Fe ( II ), Fe ( III ) and Zn ( II ) ions on the activity of trypsin. *Food Chem.* 73:381–384.
- [8] Bihan, E. Le, Perrin, A., dan Koueta, N. (2004). Development of a bioassay from isolated digestive gland cells of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. ( Mollusca Cephalopoda ): effect of Cu , Zn and Ag on enzyme activities and cell viability. *Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.* 309:47–66.