

ENZIMOLOGI

Macam, fungsi, dan aplikasi enzim

Noer Komari, S.Si, M.Kes

Dr. Tanto Budi Susilo, M.Si



ENZIMOLOGI

Macam, fungsi, dan aplikasi enzim

Noer Komari, S.Si, M.Kes
Dr. Tanto Budi Susilo, M.Si

Editor : Nia Septia Sari
Tata letak dan Desain Sampul : Salman Alfarisi

Hak cipta dilindungi undang-undang pada Penulis.
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa
izin tertulis dari Penerbit.

Ukuran : viii, 126 hlm, 15.5 x 23 cm
ISBN : 978-623-97027-1-7
Cetakan Pertama : Juni, 2021

Penerbit:
CV Banyubening Cipta Sejahtera
Jl. Sapta Marga Blok E No. 38 RT 007 RW 003
Guntung Payung, Landasan Ulin, Banjarbaru 70721
Telp/WA: 0818-0936-2734
E-mail: penerbit.bcs@gmail.com

PRAKATA

Rasa terimakasih yang tinggi kami haturkan ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat anugrah-Nya sehingga Buku Enzimologi macam, fungsi dan aplikasi enzim ini dapat saya selesaikan dengan baik. Buku ini mengupas tentang macam-macam enzim, fungsinya, cara isolasi dan aplikasinya dalam kehidupan sehari-hari, terutama pada bidang industri.

Bioteknologi telah berkembang pesat dalam beberapa tahun terakhir dan menjadi salah satu teknologi yang paling menjanjikan dalam menghadapi tantangan masa depan. Peningkatan kualitas pangan hasil pemuliaan dan rekayasa genetika memiliki efek positif dalam mengurangi krisis pangan dan memerangi perubahan iklim. Kemajuan bioteknologi dalam bidang pangan tersebut meliputi teknologi fermentasi, rekayasa genetika, dan teknologi aplikasi enzim. Hal ini menyebabkan penggunaan enzim dalam industri semakin meningkat. Pengetahuan dan pemahanan serta teknologi tentang enzim harus dipelajari oleh para ilmuwan, terutama para peneliti yang berhubungan dengan pangan.

Kami menyadari buku Enzimologi macam, fungsi dan aplikasi enzim ini masih banyak kekurangan dan memerlukan perbaikan, sehingga kami sangat senang jika para pembaca memberikan kritik dan masukan terhadap buku ini untuk perbaikan di edisi berikutnya. Semoga buku ini dapat bermanfaat.

Banjarbaru, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
BAB 1 AMILASE.....	1
1.1 Pengertian Enzim Amilase.....	1
1.2 Manfaat Enzim Amilase.....	3
1.3 Cara Kerja Enzim Amilase	4
1.4 Isolasi Enzim Amilase	4
1.5 Klasifikasi Enzim Amilase	6
1.6 Enzim Amilase dalam Kehidupan	7
1.7 Sumber Rujukan	9
BAB 2 ENZIM PROTEASE.....	11
2.1 Pengertian Enzim Protease.....	11
2.2 Manfaat Enzim Protease.....	12
2.3 Sumber Enzim Protease.....	13
2.4 Aplikasi Enzim Protease	14
2.6 Aktivitas Enzim Protease	17
2.5 Isolasi Enzim Protease.....	18
2.7 Sumber Rujukan	18
BAB 3 ENZIM LIPASE	21
3.1 Pengertian Enzim Lipase	21
3.2 Sifat Enzim Lipase	23
3.3 Sumber Enzim Lipase	23
3.4 Aktivitas Enzim Lipase	24
3.5 Isolasi Enzim Lipase	26

3.6	Aplikasi Enzim Lipase	27
3.7	Sumber Rujukan	27
BAB 4	ENZIM FOSFATASE	29
4.1	Pengertian Enzim Fosfatase.....	29
4.2	Suhu Optimal Enzim Fosfatase	31
4.3	Fungsi Enzim Fosfatase	32
4.4	Aktivitas Enzim Fosfatase.....	33
4.5	Isolasi Enzim Fosfatase.....	34
4.6	pH Optimum Enzim Fosfatase	34
4.7	Sifat Enzim Fosfatase	35
4.8	Aplikasi Enzim Fosfatase	36
4.9	Sumber Enzim Fosfatase	37
4.10	Sumber rujukan	37
BAB 5	ENZIM PEROKSIDASE.....	39
5.1	Pengertian Enzim Peroksidase	39
5.2	Enzim Peroksidase sebagai Biokatalisator ...	41
5.3	Sumber Enzim Peroksidase	42
5.4	Aktivitas Enzim Peroksidase.....	42
5.5	Isolasi Enzim Peroksidase	44
5.6	Pemurnian Enzim Peroksidase.....	45
5.7	Aplikasi Enzim Peroksidase.....	46
5.8	Sumber Rujukan	46
BAB 6	ENZIM PEKTINASE	49
6.1	Pengertian Enzim Pektinase	49
6.2	Aktivitas Enzim Pektinase	51
6.3	Manfaat Enzim Pektinase	52
6.4	Sumber Enzim Pektinase	52

6.5	Aplikasi Enzim Pektinase.....	54
6.7	Sumber Rujukan	54
BAB 7	ENZIM LAKTASE.....	57
7.1	Pengertian Enzim Laktase	57
7.2	Reaksi Kimia Enzim Laktase	58
7.3	Situs Aktif dari Enzim Laktase	59
7.4	Aktifitas Enzim Laktase	59
7.5	Isolasi Enzim Laktase	60
7.6	Manfaat Enzim Laktase	60
7.7	Sifat Enzim Laktase.....	61
7.8	Sumber Enzim Laktase	62
7.9	Fungsi Enzim Laktase	62
7.9	Identifikasi Enzim Laktase	63
7.10	Mekanisme enzimatik Enzim Laktase	63
7.11	Tempat Kerja dari Enzim Laktase	64
7.12	Sumber Rujukan	65
BAB 8	ENZIM KITINASE	67
8.1	Pengertian Enzim Kitinase.....	67
8.2	Isolasi Enzim Kitinase.....	69
8.3	Aplikasi Enzim Kitinase	71
8.4	Sifat Enzim Kitinase.....	72
8.5	Sumber Enzim Kitinase	73
8.6	Aktivitas Enzim Kitinase.....	74
8.7	Sumber Rujukan	77
BAB 9	ENZIM MANANASE	79
9.1	Pengertian Enzim Mananase.....	79
9.2	Sumber Enzim Mananase	80

9.3	Aktivitas Enzim Mananase	82
9.4	Isolasi Enzim Mananase	83
9.5	Aplikasi Enzim Mananase.....	84
9.6	Sumber Rujukan	86
BAB 10	ENZIM INULINASE	89
10.1	Pengertian Enzim Inulinase.....	90
10.2	Peran Enzim Inulinase pada Makhluk Hidup.....	92
10.3	Hidrolisis dari Enzim Inulinase	92
10.4	Hasil Penelitian dari Enzim Inulinase	93
10.5	Sumber Enzim Inulinase	95
10.6	Sumber Rujukan	96
BAB 11	ENZIM TANASE	97
11.1	Pengertian Tannin dan Enzim Tanase	97
11.2	Sifat Enzim Tanase.....	99
11.3	Sumber Enzim Tanase	100
11.4	Aktivitas Enzim Tanase.....	101
11.5	Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Tanase	102
11.6	Aplikasi Enzim Tanase.....	105
11.7	Sumber Rujukan	106
BAB 12	ENZIM XILANASE.....	109
12.1	Pengertian Enzim Xilanase.....	109
12.2	Sumber Enzim Xilanase.....	110
12.3	Peranan Enzim Xilanase	110
12.4	Aktifitas Enzim Xilanase.....	112
12.5	Sumber Rujukan	113

BAB 13 ENZIM GELATINASE	115
13.1 Pengertian Enzim Gelatinase.....	115
13.2 Sifat Enzim Gelatinase.....	115
13.3 Sumber Enzim Gelatinase.....	116
13.4 Aktivitas Enzim Gelatinase.....	116
13.5 Isolasi Enzim Gelatinase.....	116
13.6 Aplikasi Enzim Gelatinase	117
13.7 Sumber Rujukan	118
BAB 14 ENZIM SELLULASE.....	121
14.1 Pengertian Enzim Sellulase	121
14.2 Sifat Enzim Sellulase.....	122
14.3 Sumber Enzim Sellulase	122
14.4 Aktivitas Enzim Sellulase.....	123
14.5 Isolasi Enzim Sellulase.....	123
14.6 Aplikasi Enzim Sellulase.....	125
14.7 Sumber Rujukan	125

1

ENZIM AMILASE

- 1.1 Pengertian Enzim Amilase
- 1.2 Manfaat Enzim Amilase
- 1.3 Cara Kerja Enzim Amilase
- 1.4 Isolasi Enzim Amilase
- 1.5 Klasifikasi Enzim Amilase
- 1.6 Enzim Amilase dalam Kehidupan
- 1.7 Sumber Rujukan

1.1 Pengertian Enzim Amilase

Enzim adalah biokatalisator yang berfungsi sebagai katalis dalam proses biologis. Enzim merupakan sekelompok protein yang mengatur dan menjalankan perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologi. Enzim dihasilkan oleh organ-organ pada hewan dan tanaman yang secara katalitik menjalankan berbagai reaksi, seperti hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerasi, adisi, transfer radikal, pemutusan rantai karbon. Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kedali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Enzim berfungsi sebagai katalisator, yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia (Supriyatna *et al.*, 2015).

Amilase merupakan salah satu enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida pada amilum. Hasil hidrolisisnya berupa molekul-molekul yang lebih kecil seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin. Amilase dapat menghidrolisis amilum melalui tiga tahapan utama yaitu gelatinisasi,

likuifikasi, dan sakarifikasi. Ketiga proses tersebut mempunyai tingkat konsumsi energi yang tinggi (Susilawati *et al.*, 2015). Amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber mikroorganisme, tanaman, dan hewan. Molekul amilum akan dipecah oleh amilase pada ikatan α -1,4-glikosida dan α -1,6-glikosida. Amilase dibedakan menjadi endoamilase dan eksoamilase. Endoamilase umumnya dikenal sebagai α -amilase, sedangkan eksoamilase dikenal sebagai β -amilase (Supriyatna *et al.*, 2015). Salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim amilase adalah bakteri amilolitik. Bakteri amilolitik merupakan bakteri yang memproduksi enzim amilase dan bekerja memecah pati (Melisha *et al.*, 2016).

Enzim α -amilase (α -1,4-glucanglucanohydrolase) adalah enzim ekstraseluler yang menghidrolisis pada α -1,4-glikosidik secara acak pada rantai amilosa dan membentuk unit maltosa. Enzim tersebut memecah pati secara acak pada ikatan α -1,4-glikosida, akan tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap ikatan α -1,6-glikosida yang terdapat pada struktur amilopektin. Aktivitas α -amilase umumnya ditentukan dengan mengukur hasil degradasi pati. Hasil dapat dilihat dari penurunan kadar pati terlarut atau kadar dekstrinnya dengan menggunakan substrat jenuh. Hilangnya substrat dapat diukur dengan pengurangan derajat pewarnaan iodium. Pati yang mengandung amilosa bereaksi dengan iodium menghasilkan warna biru, sedangkan dekstrin bila bereaksi dengan iodium akan berwarna cokelat.

Enzim amilase merupakan enzim yang digunakan dalam pengolahan industri pati, yang berfungsi untuk menghidrolisis polisakarida menjadi gula sederhana. Saat ini amilase yang bersumber dari mikroorganisme

termofilik dan hipertermofilik banyak digunakan dalam bidang industri, yang menggunakan suhu tinggi dalam prosesnya. Hal ini terjadi karena enzim yang berasal dari mikroorganisme tersebut memiliki termostabilitas dan aktivitas yang tetap optimal pada suhu yang tinggi. Enzim amilase memiliki aplikasi untuk skala yang sangat luas mulai dari industri tekstil, konversi pati untuk gula sirup, produksi *Cyclodextrins* untuk industri farmasi. Selain penggunaannya dalam *saccharification* pati, amilase juga mempunyai potensi aplikasi dalam sejumlah proses industri seperti makanan, kue, pembuatan bir, tekstil, deterjen, dan industri kertas. Berdasarkan kemampuannya dalam menghidrolisis pati dan berbagai keuntungan dari aplikasi yang dapat diberikannya maka enzim amilase tersebut harus diketahui aktivitasnya. Faktor-faktor yang memengaruhi aktivitas enzim adalah suhu dan pH. Suhu memiliki hubungan yang kuat antara aktivitas dan stabilitas enzim, karena enzim sangat sensitif terhadap perubahan suhu (Fitriyani *et al.* 2013).

1.2 Manfaat Enzim Amilase

Enzim amilase banyak digunakan sebagai industri gula cair, makanan, industri tekstil, dan industri farmasi. Enzim ini juga banyak digunakan pada industri minuman misalnya pembuatan *High Fructose Syrup* (HFS) maupun pada industri tekstil, sebagai food additive untuk memperbaiki tekstur bahan makanan. Penambahan enzim α -amilase dalam bentuk tepung malt atau tepung enzim hasil kerja mikroorganisme dapat meningkatkan kemampuan menghidrolisis pati yang dikandung dalam tepung terigu, dengan demikian khamir yang tumbuh pada pembuatan adonan mendapat energi yang cukup sehingga pembentukan

karbon dioksida optimal dan pengembangan adonan menjadi optimal amilase untuk produksi energi alternatif bioetanol, membantu metabolisme karbohidrat.

1.3 Cara Kerja Enzim Amilase

1. α -amilase

α -amilase pada umumnya aktif bekerja pada kisaran suhu 25°C- 95°C. Penambahan ion seng klorida dapat meningkatkan aktivitas kerja dan menjaga kestabilan enzim ini. α -amilase akan memotong ikatan α -1,4 glikosidik pada molekul pati.

2. β -amilase

β -amilase akan memotong ikatan glikosidik pada gugus amilosa, amilopektin, dan glikogen. Amilosa merupakan struktur rantai lurus, sedangkan amilopektin merupakan struktur percabangan. Hasil pemotongan oleh enzim ini akan didominasi oleh molekul maltosa dan beta-limit dekstrin terbatas. Dalam industri pangan, pembentukan senyawa beta-limit dekstrin seringkali dihindari karena membentuk kekentalan yang cepat. Enzim ini juga dapat memecah ikatan α -1,6 glikosidik, tetapi pada frekuensi yang lebih rendah dan hasil pemecahan adalah glukosa, suatu bentuk gula sederhana.

1.4 Isolasi Enzim Amilase

1. Alfa-amilase

Enzim alfa-amilase dapat diperoleh dan berbagai macam sumber di antaranya:

- Dapat dalam bentuk tepung malt, gandum yang

berkecambah

- Dapat berasal dari bakteri bacillus, *Bacillus subtilis*
- Dapat disintesa dari kapang *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*
- Dapat berasal dari cacing tanah
- Didapat dari cendawan *Aspergillus sp*
- Dapat berasal dari pankreas sapi dan babi
- Banyak terdapat di air ludah pencernaan manusia

2. Beta-amilase

Enzim beta-amilase banyak ditemukan pada tanaman tingkat tinggi, seperti gandum dan kacang kedelai. Disamping itu, beta-amilase juga dapat ditemukan pada beberapa mikroorganisme. antara lain *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus sp* dan *Thermoanaerobacterium sp*. Enzim yang berasal dari *Thermoanaerobacterium* umumnya banyak dipakai karena memiliki toleransi suhu dan pH.

3. Glukoamilase

Enzim ini memiliki peran yang cukup besar di dalam metabolisme energi di berbagai jenis organisme. Oleh karena itu, enzim ini banyak ditemukan pada beragam jenis tanaman dan mikroorganisme. seperti *Sachcharomyces*, *Endomycetes*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* dan *Clostridium*. Secara kimia, enzim yang lengkap (holoenzim) tersusun atas dua bagian, yaitu bagian protein dan bagian yang bukan protein. Bagian protein disebut apoenzim, bersifat labil (mudah berubah), misalnya terpengaruh oleh suhu dan keasaman. Bagian yang bukan protein disebut gugus prostetik (aktif), terdiri atas kofaktor atau koenzim. Kofaktor berasal dari molekul anorganik, yaitu logam, misalnya besi, tembaga, dan seng. Sedangkan koenzim

merupakan gugus prostetik terdiri atas senyawa organik kompleks, misalnya NADH, FADH, koenzim A, dan vitamin B (Lehninger, 1993). Enzim adalah suatu katalisator protein yang mempercepat reaksi kimia dalam makhluk hidup atau dalam sistem biologis. Pada dasarnya adalah untuk menurunkan keperluan energi aktivasi yang digunakan untuk reaksi kimia. Protein enzim disebut dengan Apoenzim, mempunyai struktur 3 dimensi dan bagian yang bukan protein disebut koenzim. Diperkirakan ada 3000 macam enzim dalam sel. Dalam mengkatalisis protein, enzim bersifat sangat spesifik, sehingga meskipun jumlah enzim ribuan di dalam sel dan substrat pun sangat banyak, tidak akan terjadi kekeliruan. Seperti protein pada umumnya, enzim dapat mengalami denaturasi oleh berbagai faktor, seperti perubahan pH yang mencolok, temperatur, pelarut organik, urea dan dapat dihambat oleh racun enzim.

1.5 Klasifikasi Enzim Amilase

1. α -Amilase

Enzim α -amilase adalah kalsium *metalloenzymes*, sama sekali tidak berfungsi tanpa adanya kalsium. Dengan bertindak di lokasi secara acak di sepanjang rantai pati, α -amilase memecah bawah rantai panjang karbohidrat, akhirnya menghasilkan *maltotriose* dan maltosa dari amilosa, atau maltosa, glukosa dan "dekstrin batas" dari amilopektin. Karena bisa bertindak di mana saja, di substrat, α -amilase cenderung lebih cepat aktif dari β -amilase. Pada hewan, enzim tersebut adalah enzim pencernaan dan pH optimumnya adalah 6,7-7,0. Dalam fisiologi manusia, baik amilase pada saliva dan pada pankreas adalah enzim α -Amilase. Juga ditemukan pada tanaman, jamur

(*Ascomycetes* dan *Basidiomycetes*) dan bakteri (*Bacillus*).

2. β -Amilase

Bentuk lain dari amilase adalah β -amilase, juga disintesis oleh bakteri, jamur, dan tanaman. β -amilase mengkatalisis hidrolisis dari 4, α -1 glikosidik obligasi kedua, membentuk unit glukosa. Pada buah, β -amilase memecah pati menjadi maltosa, sehingga rasa manis dari buah yang masak. Kedua enzim tersebut, α -amilase dan β -amilase ada dalam biji buah; β -amilase dalam bentuk yang tidak aktif sebelum perkecambahan, sedangkan α -amilase dan protease muncul ketika perkecambahan telah dimulai. Amilase sereal gandum adalah enzim untuk produksi malt. Banyak mikroba juga memproduksi amilase untuk menurunkan pati ekstraselular. Hewan tidak mempunyai β -amilase, meskipun mungkin ada dalam mikroorganisme terkandung dalam saluran pencernaan.

3. γ -Amilase

Selain membelah pada bagian akhir α -(1-4) glikosidik dari amilosa dan amilopektin untuk menghasilkan glukosa, γ -amilase juga membelah α -(1,6) glikosidik. Berbeda dengan bentuk-bentuk lain amilase, γ -amilase paling efisien dalam lingkungan asam dan memiliki pH optimum 3.

1.6 Enzim Amilase dalam Kehidupan

Di dalam mulut, makanan bercampur dengan air ludah yang mengandung enzim amilase (*ptyalin*). Enzim amilase bekerja memecah karbohidrat rantai panjang seperti amilum dan dekstrin, yang akan diurai menjadi molekul yang lebih sederhana, yaitu maltosa. Sedangkan

air ludah berguna untuk melicinkan makanan agar lebih mudah ditelan. Hanya sebagian kecil amilum yang dapat dicema di dalam mulut, oleh karena makanan sebentar saja berada di dalam rongga mulut. Oleh karena itu sebaiknya makanan dikunyah lebih lama, agar memberi kesempatan lebih banyak pemecahan amilum di rongga mulut. Dengan proses mekanik, makanan ditelan melalui kerongkongan dan selanjutnya akan memasuki lambung.

Enzim Amilase digunakan dalam pembuatan roti untuk memecah gula kompleks seperti pati (ditemukan di tepung) menjadi gula sederhana. Ragi akan merombak gula sederhana tersebut dan mengubahnya menjadi produk-produk samping seperti alkohol dan CO₂. Sementara enzim amilase ditemukan secara alami dalam sel ragi, diperlukan waktu lama bagi ragi untuk menghasilkan enzim yang dapat memecah pati dalam roti dalam jumlah yang signifikan. Inilah alasan mengapa adonan fermentasi cukup lama berbeda dengan adonan asam dalam pembuatan roti. Teknik pembuatan roti modern telah menyertakan enzim amilase ke dalam roti, yang membuat proses pembuatan roti lebih cepat dan lebih praktis.

Bacillary amilase juga digunakan dalam pakaian dan mesin cuci piring deterjen untuk melarutkan pati dari kain dan piring. Amilase juga mempunyai resiko kesehatan. Pekerja di pabrik-pabrik yang menggunakan amilase, mengalami peningkatan risiko asma kerja. Pekerja dengan masalah pernafasan sangat peka dengan amilase. Amilase juga punya resiko pada kulit, dimana 5-9% dari pekerja roti memiliki tes kulit positif.

Serum darah amilase dapat diukur untuk tujuan diagnosa medis. Konsentrasi normal dalam kisaran 21-101 U/L. Amilase yang lebih tinggi dari konsentrasi

normal dapat mencerminkan salah satu dari beberapa kondisi medis, termasuk peradangan akut dari pankreas (bersamaan dengan lebih spesifik lipase), tetapi juga *perforasi ulkus peptikum*, torsi dari suatu kista ovarium, pencekikan ileus, *macroamylasemia* dan gondok. Amilase dapat diukur dalam cairan tubuh lainnya, termasuk air seni dan peritoneal cairan. Dalam biologi molekular, kehadiran amilase dapat berfungsi sebagai metode tambahan pemilihan untuk keberhasilan integrasi membangun selain resistensi antibiotik. Sebagai gen reporter yang diapit oleh daerah homolog gen struktural untuk amilase, integrasi berhasil mengganggu gen amilase dan mencegah degradasi pati, yang mudah dideteksi melalui yodium pewarnaan.

1.7 Sumber Rujukan

- Fitriani A., F. M. T. Supriyanti & T. E. Heryanto. 2013. Penentuan Aktivitas Amilase Kasar Termofil *Bacillus subtilis* Isolat Kawah Gunung Darajat Garut, Jawa Barat. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. **15**(2) : 107-113.
- Jayanti, D., Wuryanti & Taslimah. 2013. *Isolasi, Karakteristik dan Amobilisasi α - Amilase dari Aspergillus oryzae FNCC 6004*. **1**(1) : 76-84.
- Lehninger.1982. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Erlangga, Jakarta.
- Melisha., E. Harpeni & Supono. 2016. Produksi dan Pengujian Aktivitas Amilase *Burkholderia cepacia* Terhadap Substrat yang Berbeda. *E-Jurnal*

Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. **5**(1)
: 559-566.

Supriyatna, A., D. Amalia. A. A. Jauhari & D. Holydaziah.
2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan
Protease dari Larva. **9**(2) : 18-32.

Susilawati, I. K., U. M. Batubara & H. Riany. 2015.
Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal Dari
Bakteri Tanah Di Kawasan Universitas
Jambi.Universitas Tanjungpura Pontianak. 359-
367

Zulfahmi, Muhammad Guruh Arif. 2011. Peranan Enzim
Amilase Dalam Pencernaan, Kesehatan, Industri
dan Keilmuwan. Agroekoteknologi.

2

ENZIM PROTEASE

- 2.1 Pengertian Enzim Protease
- 2.2 Manfaat Enzim Protease
- 2.3 Sumber Enzim Protease
- 2.4 Aplikasi Enzim Protease
- 2.5 Aktivitas Enzim Protease
- 2.6 Isolasi Enzim Protease
- 2.7 Sumber Rujukan

2.1 Pengertian Enzim Protease

Enzim merupakan katalisator protein yang mempercepat reaksi kimia dalam makhluk hidup atau dalam sistem biologik. Sebagai protein, enzim memiliki sifat-sifat umum protein, seperti enzim terdenaturasi pada suhu tinggi atau kondisi ekstrim lainnya. Beberapa oksidator, keadaan polaritas larutan, tekanan osmotik yang abnormal juga dapat menghambat kerja enzim.

Enzim protease mempunyai dua pengertian, yaitu proteinase yang mengkatalisis hidrolisis molekul protein menjadi fragmen-fragmen yang lebih sederhana, dan peptidase yang menghidrolisis fragmen polipeptida menjadi asam amino. Enzim proteolitik yang berasal dari mikroorganisme adalah protease yang mengandung proteinase dan peptidase.

Enzim protease merupakan enzim yang sering dimanfaatkan dalam industri pembuatan makanan dan minuman. Protease adalah enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis ikatan peptida dari senyawa-

senyawa protein dan diurai menjadi senyawa lain yang lebih sederhana (asam amino). Protease yang dipakai secara komersial seperti serine, protease, dan metalloprotease biasanya berasal dari *Bacillus subtilis* yang mempunyai kemampuan produksi dan sekresi enzim yang tinggi.

Enzim protease berfungsi melembekkan, melembutkan atau menurunkan gluten yang membentuk protein. Contoh protease yang dapat dimanfaatkan adalah bromelin dan papain sebagai bahan pengempuk daging.

Enzim protease dapat digunakan sebagai pelembut daging untuk daging yang liat supaya mudah dikunyah, dan membantu menanggalkan kulit ikan dalam industri pengetinan ikan. Oleh karena itu enzim ini sangat dibutuhkan dalam industri pangan khususnya industri yang menggunakan bahan dasar daging dan ikan.

2.2 Manfaat Enzim Protease

Enzim protease memiliki banyak manfaat dalam bidang industri, beberapa protease memiliki fungsi yang membantu proses produksi sebagai berikut :

1. Fisin, berfungsi sebagai enzim pengempuk daging dan pengawet bir. Sumbernya dari getah pohon ficus. Termasuk protease sulfhidril.
2. Papain, berfungsi sebagai pengempuk daging dan pengawet bir . Sumbernya dari Getah pepaya baik dalam buah, batang, maupun daunnya. Termasuk protease sulfhidril. Papain ini berfungsi untuk memecahkan molekul protein.
3. Bromelin, berfungsi sebagai penjernih bir terdapat pada tumbuhan dan buah nenas. Termasuk protease sulfhidril dan merupakan glukoprotein.

4. Renin, merupakan enzim yang berfungsi dalam pembuatan keju dan pudding rennt. Sumbernya dari lambung anak sapi, domba atau kambing. Dibuat dari prorenin, yaitu bentuk inaktif dari rennin.
5. Protease dari kapang, berfungsi dalam industri keju, Industri kecap, sake, miso, tauco, tempe dan oncom. Berasal dari *Penicillium roqueforti*, *P. camemberti* dan *Aspergillus oryzae*. *Rhizopus sp* untuk pembuatan tempe, kecap, oncom, tauco dan miso. *Aspergillus oryzae* untuk pembuatan sake, kecap dan miso.

2.3 Sumber Enzim Protease

Protease dihasilkan dari tiga sumber utama, yaitu tanaman, hewan dan mikroba. Enzim papain, bromelin dan fisin merupakan protease yang dihasilkan dari tanaman. Sedangkan tripsin, kemotripsin, pepsin, dan rennin merupakan protease yang berasal dari hewan. Kelemahan tanaman sebagai sumber protease adalah kesulitan untuk melakukan ekstraksi enzim efisien karena membutuhkan peralatan berat untuk menghancurkan jaringan tanaman yang besar dan keras. Selain itu, pertumbuhan tanaman terlalu lama untuk produksi enzim skala besar. Produksi protease dari hewan pun sangat terbatas, membutuhkan jumlah hewan dan biaya yang besar karena proses ekstraksi enzim dari jaringan hewan sulit dilakukan. Enzim dari hewan paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah kimosin, yaitu pada industri keju. Sedangkan enzim tanaman yang paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah papain dan bromelin. Pada tahun 1950-1960, pemanfaatan enzim dari hewan dan tanaman mulai digantikan oleh enzim mikrobial.

Mikroba merupakan sumber protease terbaik

karena pertumbuhan mikroba relatif cepat dan mudah diatur sehingga mutu enzim yang dihasilkan lebih seragam. Sebagian besar enzim mikroba yang dihasilkan secara komersial adalah enzim ekstraseluler yang diproduksi di dalam sel dan dikeluarkan ke cairan lingkungan sekitar tempat sel tumbuh. Salah satu kelebihan mikroba dibandingkan hewan dan tanaman yang membutuhkan proses penghancuran sel untuk mendapatkan enzim yang diinginkan. Contoh mikroba penghasil enzim 9 yang aman untuk pangan adalah *Aspergillus niger*, *A. orizae*, *A. awamori*, *Mucor miehei*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Enzim protease diproduksi oleh pankreas untuk mencerna protein dari pakan menjadi peptida atau asam amino agar dapat diserap oleh sel-sel enterosit yang terdapat pada dinding sebelah dalam usus. Jumlah enzim protease yang disalurkan ke usus tergantung pada produksi enzim protease dari pankreas. Produksi enzim protease ini sangat dipengaruhi oleh jumlah protein dalam pakan. Secara tidak langsung kandungan protein pakan ini berperan bagi terekspresinya enzim protease pada sel-sel eksokrin pankreas yang akan disalurkan ke usus. Pankreas terdiri atas dua tipe sel yaitu sel endokrin dan eksokrin. Sel endokrin menyintesis hormon-hormon sementara sel eksokrin menyintesis enzim-enzim termasuk protease. Pada kasus tidak adanya enzim pankreas, maka hanya 50% protein yang dapat diserap dari total protein yang dikonsumsi

2.4 Aplikasi Enzim Protease

Enzim protease digunakan dalam berbagai industri mulai dari industri pangan dengan menggunakan jenis enzim protease yang telah dijelaskan

diasas dan juga industri non pangan. Aplikasi enzim protease dibidang industry antarlain:

1. Industri detergen

Enzim yang diaplikasikan dalam pembuatan detergen harus memiliki stabilitas suhu yang baik, tahan terhadap pH basa dan senyawa pengoksidasi yang kuat. dalam industri ini enzim protease digunakan untuk membersihkan kotoran atau noda yang bersifat protein. Dimana protease dapat mengurangi kosentrasi fosfat dan menurunkan suhu air untuk mencuci pakaian sehingga energi yang dgunakan lebih hemat dan pencemaran lingkungan dapat dikurangi. Saat ini protease paling populer untuk digunakan dalam deterjen yang semuanya tergolong protease serin dari *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus lichenformis*, *Bacillus alkali kuat* seperti *Bacillus lenthis*.

2. Industri kulit

Enzim protease digunakan untuk membebaskan bulu-bulu pada kulit dan melunakkan kulit. Penambahan protease juga dapat mengurangi limbah yang mengandung sulfur sehingga biaya untuk pengolahan limbah dapat berkurang. Enzim *exolite* merupakan enzim yang termasuk dalam kelompok enzim protease yang digunakan di industri penyamakan kulit. Enzim *exolite* mampu menggantikan peran klorin yang merupakan bahan beracun dan berbahaya (B3) dalam proses untuk melembutkan kulit. Selain itu dengan penggunaan *exolite* ini mampu mengurangi biaya produksi, hasil kulitnya pun lebih baik, jumlah air yang dibutuhkan dalam produksi lebih sedikit, dan juga limbah yang dihasilkan tidak berbau.

3. Industri kue dan roti

Protease mengubah sifat viskoelastik adonan dengan menghidrolisis ikatan peptide sehingga waktu

pengembangan gluten lebih cepat dan adonan menjadi lebih mudah untuk dicetak. Selain itu enzim protease juga membebaskan asam amino dari gluten sehingga selama pembakaran roti menimbulkan aroma dan warna yang diinginkan.

4. Industri keju

Pada industri keju enzim protease digunakan untuk menggumpalkan susu sebagai pengganti dari enzim rennet. Enzim rennet memiliki harga yang cukup mahal dan jumlahnya terbatas, oleh karena itu digunakanlah enzim protease yang lebih ekonomis.

5. Industri bir

Enzim protease ditambahkan untuk menghilangkan protein yang menyebabkan kekeruhan sehingga mutu produk semakin baik.

6. Industri daging

Penambahan enzim protease bertujuan untuk melunakkan daging yaitu dengan menghidrolisis serabut otot, elastis dan kolagen. Enzim yang biasa digunakan untuk melembutkan daging ini adalah papain.

7. Industri obat-obatan

Dalam industri obat-obatan juga ditambahkan enzim protease, salah satunya adalah papain. Papain digunakan sebagai bahan aktif dalam preparat farmasi seperti obat gangguan pencernaan, dispesia, dan obat cacing. Dalam proses pembedahan, papain bisa digunakan sebagai obat pengendali oedema dan inflamasi yang banyak digunakan saat ini adalah bahan aktif untuk krim, pembersih kulit muka. Karena kemampuan papain melarutkan sel-sel mati yang melekat pada kulit dan sukar terlepas secara fisik. Noda dan flek di wajah bisa dikikis oleh papain hingga menjadi mulus dan bersih.

8. Kepentingan Terapeutik

Keberagaman dan spesifisitas dari mikroba penghasil enzim protease dapat digunakan untuk kepentingan terapeutik. Bakteri dan jamur penghasil protease dapat digunakan untuk mengembangkan agen terapeutik yang efektif seperti anti kanker, anti mikroba, anti flamsi, dan lain-lain. Pengobatan menggunakan protease untuk peradangan kronis tidak menimbulkan efek samping. *Serratia* peptidase, protease yang dihasilkan oleh spesies *Serratia* adalah protease paling efektif untuk mengobati inflamasi. Enzim ini juga digunakan untuk mengurangi nyeri yang diinduksi oleh peptide seperti bradikinin untuk mengurangi rasa sakit. Protease yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae* digunakan untuk mengobati kelainan pada pencernaan seperti kekurangan enzim litik.

2.6 Aktivitas Enzim Protease

Aktivitas enzim protease tersebut dapat meningkatkan kelarutan protein yang terkandung pada hasil samping udang. Selama proses fermentasi, enzim protease yang ada pada mikroorganisme akan mengeluarkan matriks kitin yang terkandung dalam hasil samping udang sehingga meningkatkan kandungan proteinnya.

Aktivitas enzim regulatori dipengaruhi oleh adanya modulator (pengatur) atau efektor, yang biasanya berupa substrat atau produk metabolisme. Dengan meningkatnya kadar protein di usus sampai pada batas tertentu akan meningkatkan ekspresi enzim regulatori dalam menyintesis enzim protease dan sebaliknya sintesis akan menurun di saat substrat berkurang. Dalam hal ini keberadaan protein pakan nampaknya

berperan dalam mengaktifkan ekspresi enzim-enzim yang berperan dalam sintesis enzim protease.

2.5 Isolasi Enzim Protease

Metode isolasi yang digunakan pada protease adalah isolasi pada agar cawan. prinsip pada metode isolasi pada agar cawan adalah mengencerkan mikroorganisme sehingga diperoleh individu spesies yang dapat dipisahkan dari organisme lainnya. Setiap koloni yang terpisah yang tampak pada cawan tersebut setelah inkubasi berasal dari satu sel tunggal. Sedangkan untuk isolasi bakteri penghasil selulose menggunakan metode isolasi pada medium cair. Metode isolasi pada medium cair dilakukan bila mikroorganisme tidak dapat tumbuh pada agar cawan (medium padat), tetapi hanya dapat tumbuh pada kultur cair. Metode ini juga perlu dilakukan pengenceran dengan beberapa serial pengenceran. Semakin tinggi pengenceran peluang untuk mendapatkan satu sel semakin besar

2.7 Sumber Rujukan

Mahendra, Y.A., H. A. Rasyid, & Subekti. 2016. Pengaruh Jenis Mikroorganisme dan Lama Fermentasi Terhadap Protein Residu Produk Fermentasi Hasil Samping Undang. *Jurnal Kelitbangan*. **4**(2) : 195- 207.

Soeka Y.S. & Sulistiani. 2014. Karakterisasi Protease *Bacillus subtilis* A, InaCC B398 Yang Diisolasi Dari Terasi Samarinda. *Jurnal Berita Biologi*. **13**(2):203-212.

Suhartono, M.T., 1989, Enzim dan Bioteknologi, Bogor : IPB Press.

Supriyatna, A., D. Amalia., A.A. Jauhari, & D. Holydaziah. 2015. Aktifitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva. *9*(2) : 18- 32.

Winarni, D. 1997. Diktat Teknik Fermentasi. Program Studi D3 Teknik Kimia FTI- ITS, Surabaya.

Yamin, M & N. N. Palinggi. 2017. Aktifitas Enzim Protease dan Kondisi Pencernaan Di Usus Ikan Kerapu Macam (*Epinephelus Fuscoguttatus*) Setelah Pemberian Pakan. *Jurnal Ris. Akua*. *2*(2): 281-288.

3

ENZIM LIPASE

- 3.1 Pengertian Enzim Lipase
- 3.2 Sifat Enzim Lipase
- 3.3 Sumber Enzim Lipase
- 3.4 Aktivitas Enzim Lipase
- 3.5 Isolasi Enzim Lipase
- 3.6 Aplikasi Enzim Lipase
- 3.7 Sumber Rujukan

3.1 Pengertian Enzim Lipase

Enzim lipase adalah enzim yang bekerja untuk menghidrolisis lemak dan minyak. Berdasarkan fungsi fisiologisnya enzim lipase mempunyai peranan penting menghidrolisis lemak dan minyak menjadi asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Enzim lipase ini dapat memecah ikatan ester pada lemak sehingga menjadi asam lemak dan gliserol (Supriyatna *et al.*, 2015).

Lipase adalah enzim yang dapat larut dalam air dan bekerja dengan mengkatalisis hidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak larut air seperti trigliserida berantai panjang. Dengan demikian, lipase tergolong dalam enzim esterase. Enzim ini juga mampu mengkatalisasi pembentukan ikatan ester (esterifikasi) dan pertukaran ikatan ester (transeterifikasi) pada media bukan air. Lipase diproduksi pada karbon berlipid, seperti minyak, asam lemak, dan gliserol. Lipase yang berasal dari bakteri pada umumnya adalah protein yang memiliki sifat asam dan mempunyai berat

molekul dari 20.000 sampai 60.000. Memiliki aktivitas spesifik protein murni yang berubah-ubah dari 500 sampai unit lipase per mg protein. Lipase dari fungi dan bakteri memainkan peranan yang penting dalam kehidupan manusia seperti pembuatan yoghurt dan keju.

Enzim lipase atau lengkapnya triasilgliserol lipase adalah enzim yang menghidrolisis ester karboksilat. Enzim ini mempunyai substrat alami berupa trigliserida dari asam lemak yang mana reaksinya memerlukan air, dan lipase ekstraseluler berhasil diisolasi dari *Pseudomonas aeruginosa* pada tahun 1986. Enzim lipase memiliki sub unit berupa glikoprotein dan lipoprotein. Sub unit tersebut dapat sebagai monomer, dimer, oligomer atau polimer. Enzim lipase stabil pada suhu optimumnya yaitu 30° C, walaupun masih aktif pada 51° C.

Wijen digunakan sebagai katalis enzim lipase dan dapat bekerja dengan baik dan bertahan hidup pada pH 7-7,5. Lipase juga digunakan sebagai katalis yang murah dan serbaguna untuk mendegradasi lipid dalam aplikasi modern seperti penggunaan enzim lipase untuk pembuatan deterjen dan biokatalis, serta juga dapat digunakan sebagai energi alternatif untuk mengubah minyak tumbuhan menjadi bahan bakar.

Lipase dan selulase merupakan bagian dari enzim yang secara luas telah banyak digunakan. Lipase juga dapat mendegradasi ikatan ester pada lemak, sehingga keduanya berpotensi untuk digunakan dalam berbagai bidang industri dan rumah tangga. Lipase (triasilgliserol asilhidrolase, EC3.1.1.3) adalah hidrolase serin yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas pada fase minyak-air (Kamini & Iefuji 2001; Gupta *et al.* 2004; Feng *et al.* 2013).

3.2 Sifat Enzim Lipase

Sifat biokatalitik lipase ini memungkinkan penggunaannya untuk berbagai keperluan seperti formulasi detergen, biosensor, industri pangan, sintesis ester, dan pengolahan limbah. Hasil penelitian Asih *et al.*, 2011 ditemukan bahwa lipase yang berasal dari bakteri memiliki pH optimum 7,0 dengan minyak zaitun sebagai substratnya. Sementara itu, pada penelitian Rodibillah *et al.*, 2011 aktivitas optimum lipase dari *Rhizopus oryzae* dengan fermentasi padat menggunakan substrat CPO (Crude Palm Oil) adalah 6,0. Hal yang sama sebelumnya dilakukan penelitian oleh Busamara *et al.*, 2008 pada fermentasi khamir dengan substrat paranitrofenol palmitat kondisi optimumnya adalah 7,0. Ini merupakan indikasi bahwa sumber mikrob penghasil lipase serta jenis substrat akan mempengaruhi pH optimum aktivitas lipase (Sumarlin *et al.*, 2013).

3.3 Sumber Enzim Lipase

Enzim lipase dapat diperoleh dari beberapa sumber seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme (Rapp, 1992). Enzim lipase bersumber dari hewan oleh Svenden (1994) dikelompokkan berdasarkan sumbernya yaitu : lipase pada sistem pencernaan, lipase yang terdapat pada jaringan seperti hati, paru-paru dan ginjal serta lipase dalam air susu. Lipase dari tanaman oleh Mukherjee & Hills (1994) dikelompokkan menjadi lipase triasilgliserol, asilhidrolase, fosfolipase dan lisofosfolipase. Enzim lipase dapat bersumber dari daun pepaya muda (Nurhaeni *et al.*, 2017) dan kecambah biji karet yang telah berumur 6 hari (Amalia *et al.*, 2013). Enzim lipase dari mikroorganisme dapat diperoleh dari

bakteri, kapang dan khamir Svenden (1994) dan ditemukan sebagai enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler merupakan enzim yang dihasilkan sel kemudian dikeluarkan melalui dinding sel ke dalam medium sekitarnya dan bereaksi memecah bahan organik tanpa tergantung pada sel yang melepaskannya. Enzim intraseluler dihasilkan di dalam sel yaitu pada bagian membran sitoplasma. Enzim tersebut melakukan metabolisme di dalam sel.

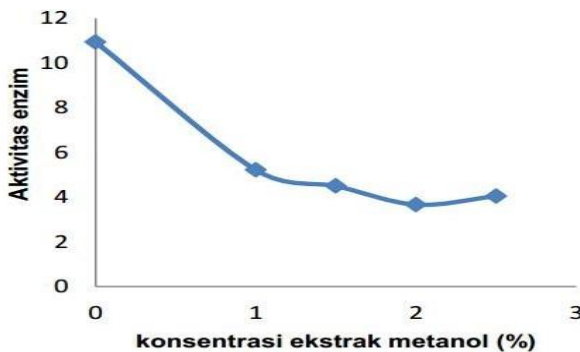
3.4 Aktivitas Enzim Lipase

Lipase merupakan kelompok enzim yang secara umum berfungsi dalam hidrolisis triasilgliserol (trigliserida) untuk menghasilkan asam lemak rantai panjang dan gliserol. Penentuan aktivitas lipase dilakukan dengan menggunakan metode Kwon dan Rhee, yaitu substrat yang digunakan dalam metode ini adalah minyak zaitun. Aktivitas lipase diukur pada suhu inkubasi yang bervariasi yaitu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C dengan menggunakan inkubator, dan masing-masing variasi diperlakukan sama seperti penentuan aktivitas yang sebelumnya (Supriyatna *et al.*, 2015).

Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Setelah itu kenaikan suhu lebih lanjut akan menyebabkan aktivitas enzim menurun. Aktivitas enzim ini dapat diukur dengan dua metode. Pada metode perubahan pH tidak memberikan akurasi yang baik, hal ini bisa dilihat dari nilai regresi dan juga nilai pH yang tidak mengalami penurunan secara bertahap (Supriyatna *et al.*, 2015).

-ENZIM LIPASE-

Hal ini bisa jadi dikarenakan oleh kondisi elektroda, kondisi larutan dan juga perlakuan yang tidak ideal dari sampel yang akan dianalisis. Metode ini mengukur langsung jumlah asam lemak yang dihasilkan kedalam larutan lewat perubahan pH. jika lipase masih memproduksi asam lemak maka larutan akan segera bertambah asam. Ketika pH larutan menunjukkan nilai konstan pada pH yang makin asam maka aktivitas lipase dalam memproduksi asam lemak telah berhenti. Perubahan pH yang tidak signifikan inilah yang membuat galat pengukuran menjadi besar (Supriyatna *et al.*, 2015).



Gambar 3.1 konsentrasi ekstrak methanol vs aktivitas enzim

Ekstrak metanol daun pepaya digunakan dalam menghambat aktivitas enzim lipase. ekstrak metanol daun dewa juga dapat menghambat kerja enzim lipase. Ekstrak kasar dari akar *Albertisia papuana* Becc mampu menghambat pertumbuhan skizon *P. Fulciparum*. Pengaruh konsentrasi ekstrak metanol daun pepaya dilakukan dengan variasi konsentrasi 0%, 1%, 1,5%, 2% dan 2,5 %. Gambar 3.1 menunjukkan aktivitas enzim lipase mengalami penghambatan pada

konsentrasi 1%-2,5% ekstrak metanol. Gambar 5 menunjukkan hubungan antara aktivitas enzim lipase terhadap ekstrak metanol daun pepaya (Nurhaeni *et al.*, 2017).

Berdasarkan grafik di atas pada konsentrasi ekstrak metanol 1%-2,5% perlahan aktivitas enzim menurun. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun pepaya mampu menghambat aktivitas enzim lipase pada berbagai konsentrasi. Konsentrasi terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 2%. Penghambatan kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak pepaya. Selain itu kemungkinan adanya pemakaian pelarut metanol pada ekstrak pepaya telah merusak enzim sehingga aktivitasnya menurun. Enzim akan hilang kestabilannya pada lingkungan pelarut organik seperti metanol (Nurhaeni *et al.*, 2017).

3.5 Isolasi Enzim Lipase

Enzim lipase cara pengisolasian sangat penting bagi isolasi suatu jenis bakteri sehingga dapat dipastikan sifat atau karakteristik bakteri tersebut, memang berasal dari satu jenis bakteri, bukan merupakan sifat campuran dari beberapa jenis bakteri. Koloni tunggal ini sangat penting untuk karakteristik bakteri penghasil enzim lipase. Satu koloni bakteri dikembangkan dalam media cair, agar dapat menghasilkan enzim lipase ekstraseluler yang lebih banyak dan dapat dikarakterisasi lebih lanjut (Cica *et al.*, 2013).

Hasil isolasi dari lumpur aktif instalasi pengolahan air limbah industri tekstil tergolong bakteri *Erwinia chrysantemi* dan merupakan bakteri penghasil enzim lipase. Enzim lipase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri tersebut memiliki aktivitas 4,75 U/mL pH

optimum 9 pada pH 11 enzim masih mempunyai aktivitas sebesar 80% temperatur optimum 40°C dan dengan peningkatan temperatur hingga 70°C enzim masih mempunyai aktivitas sebesar 55%. Penambahan ion Ca^{2+} tidak memberikan pengaruh berarti terhadap aktivitas enzim lipase ekstraseluler (Cica *et al.*, 2013).

3.6 Aplikasi Enzim Lipase

Enzim lipase bekerja untuk menghidrolisis lemak dan minyak, berfungsi fisiologisnya enzim lipase mempunyai peranan penting menghidrolisis lemak dan minyak menjadi asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Enzim lipase berfungsi untuk menghancurkan dan mencegah makanan lemak dan lipid untuk menjaga dan melindungi kantung empedu agar tetap dalam keadaan normal (Ateng *et al.*, 2015). Aplikasi enzim dalam industri makanan sangat banyak dan beragam, umumnya untuk semua aplikasi makanan bermanfaat di kehidupan sehari-hari biasanya pembuatan yoghurt dan keju (Abdi *et al.*, 2013).

3.7 Sumber Rujukan

Abdi, S., Kemala, I., Ramlan, S. Studi Persepsi Masyarakat Terhadap Peran Enzim Dalam Pembuatan Susu Terfermentasi. *ARTICEL*. **12**(02).31-33.

Amalia, R. N., R. Bulan & F. Sebayang. 2013. Penentuan pH dan Suhu Optimum Untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Karet (*Hevea brasiliensis*) Terhadap Hidrolisis PKO (*Palm Kernel Oil*). *Jurnal Saintia Kimia*. **1**(2) : 1-7.

- Ateng, S., Dea, A, Ayu, A J., Dyna, H. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protase dari Larva. *ISSN. 10(02)*18-23.
- Cica, K., Sinta, R., Ihsanawati., Zelly, N. 2013 . Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler Dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal ilmiah Arena Tekstil. 28(01)*: 1-46.
- Mukherjee K. D., Hills M. J. 1994. Lipases from Plant. In *Lipase: Their Structure, Biochemistry and Application*. Woolley P, Peterson S.B. ed. Cambridge University Press. P. 49-75.
- Nurhaeni, A. Ridhay & Magfira. 2017. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase. *Jurnal Kovalen. 3(3)* : 211-222.
- Rapp P. dan Backhaus. 1992. Formation of Extraselluler Lipases by Filamentous Fungi, Yeast and Bacteris. *Enzyme Microb. Technol. 14*: 938-943.
- Svenden A. 1994. Sequence Comparison Within The Lipase Family. In Woolley P, Peterson S.B., (eds). *Lipases, Their Structure, Biochemistry and Application*. Cambridge University.
- Sumarlin, L O., Mulyadi, D., Suryatna., Asmara, Y. 2013. Identifikasi Potensi Enzim Lipase dan Selulase pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). 18(03)*:159-166.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A, A., Holydaziah, D. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protase dari Larva. *Edisi Juli. 09(02)*: 18-32.

4

ENZIM FOSFATASE

- 4.1 Pengertian Enzim Fosfatase
- 4.2 Suhu Optimal Enzim Fosfatase
- 4.3 Fungsi Enzim Fosfatase
- 4.4 Aktivitas Enzim Fosfatase
- 4.5 Isolasi Enzim Fosfatase
- 4.6 pH Optimum Enzim Fosfatase
- 4.7 Sifat Enzim Fosfatase
- 4.8 Aplikasi Enzim Fosfatase
- 4.9 Sumber Enzim Fosfatase
- 4.10 Sumber Rujukan

4.1 Pengertian Enzim Fosfatase

Enzim adalah biokatalis yang diproduksi oleh jaringan hidup untuk meningkatkan laju reaksi yang terjadi dalam jaringan. Enzim mengkatalisis hampir Semua reaksi-reaksi biologis penting. Dewasa ini penggunaan enzim sebagai biosensor untuk uji klinik dalam mendeteksi berbagai penyakit semakin banyak digunakan, selain di bidang industri (Sriyanti, 2017)

Alkalin fosfatase atau *Ortofosforik monoester fosfohidrolase* adalah enzim yang mengkatalisis perubahan fosfat organik menjadi fosfat anorganik (Sriyanti, 2017). Fosfat merupakan unsur esensial kedua setelah nitrogen yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pada dasarnya, jumlah fosfat dalam tanah lebih banyak dibandingkan dengan nitrogen. Jumlahnya dalam tanah

sekitar 95% hingga 99%, namun terdapat dalam bentuk yang tidak larut sehingga tidak dapat digunakan oleh tanaman (Dewanti *et al.*, 2016).

Satu unit aktivitas enzim fosfatase didefinisikan sebagai banyaknya fosfat tak terlarut (Ca_3PO_4) yang terhidrolisis menjadi fosfat terlarut selama masa inkubasi 30 menit. Fosfat merupakan unsur esensial kedua setelah nitrogen yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pada dasarnya, jumlah fosfat dalam tanah lebih banyak dibandingkan dengan nitrogen. Jumlahnya dalam tanah sekitar 95% hingga 99%, namun terdapat dalam bentuk yang tidak larut sehingga tidak dapat digunakan oleh tanaman. Upaya yang dilakukan untuk memenuhi kebutuhan fosfat tanaman adalah dengan pemupukan fosfat, anorganik maupun organik. Akan tetapi Isgitani (2005) menyatakan bahwa hanya sekitar 15-20% unsur fosfat dari pemberian pupuk fosfat yang dapat diserap oleh tanaman, sedangkan 80-85% unsur fosfat terjerap oleh koloid tanah. Pada tanah dengan pH tinggi, fosfat akan terikat oleh kalsium dan magnesium membentuk ikatan Ca-P dan Mg-P, sedangkan pada tanah dengan pH rendah, fosfat diikat oleh aluminium dan besi membentuk ikatan Al-P dan Fe-P (Dewanti *et al.*, 2016). Saat ini efisiensi pemupukan fosfat dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroba pelarut fosfat sebagai pupuk hayati, salah satunya adalah bakteri pelarut fosfat (BPF). Menurut Santosa (2007), sebagian aktivitas mikroba tanah dapat melarutkan fosfat dari ikatan fosfat tak larut melalui sekresi asam-asam organik atau mineralisasi fosfat dari bentuk ikatan fosfat-organik menjadi fosfatanorganik. Elfiati (2005) mengemukakan keunggulan penggunaan mikroba pelarut fosfat sebagai pupuk hayati: hemat energi, tidak mencemari

lingkungan, mampu membantu meningkatkan kelarutan P yang terjerap, menghalangi terjerapnya P pupuk oleh unsur-unsur penjerap, dan mengurangi toksisitas Al^{3+} , Fe^{3+} , dan Mn^{2+} terhadap tanaman pada tanah masam (Dewanti *et al.*, 2016).

4.2 Suhu Optimal Enzim Fosfatase

Setiap enzim memiliki suhu optimal, yaitu saat laju reaksinya paling cepat. Peningkatan suhu optimal dalam penelitian ini yaitu $65^{\circ}C$, saat suhu tersebut aktivitas enzim juga naik karena memungkinkan terjadinya tumbukan molekul yang paling banyak dan perubahan reaktan menjadi produk yang paling cepat. Banyak enzim yang sensitif terhadap perubahan pH dan setiap enzim memiliki pH optimum untuk aktivitasnya (Norkhotimah, 2017).

pH optimal pada penelitian ini adalah 7. Perubahan pH (asam atau basa) dapat menyebabkan berhentinya aktivitas enzim akibat proses denaturasi pada struktur tiga dimensi enzim. Sebagian besar enzim dapat bekerja paling efektif pada kisaran pH lingkungan yang agak sempit. Di luar pH optimum tersebut kenaikan pH (basa) atau penurunan pH (asam) menyebabkan penurunan aktivitas enzim dengan cepat dan bahkan bisa kehilangan aktivitas katalitiknya. Hal ini terjadi karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah, sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim akibatnya proses katalis tidak dapat berlangsung secara sempurna (Norkhotimah, 2017).

Enzim fosfatase optimal pada suhu $65^{\circ}C$ dan pada pH 7, aktivitas enzim menurun ketika suhu diturunkan sampai suhu $45^{\circ}C$, begitu juga ketika pH

diturunkan menjadi 5 dan dinaikkan menjadi 9 maka aktivitas enzim juga menurun. Profil aktivitas pH enzim menggambarkan pH pada saat gugus pemberi atau penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan, pH optimum enzim tidak perlu sama dengan pH lingkungan normalnya, dengan pH yang mungkin sedikit berada di atas atau di bawah pH optimum. Aktivitas katalitik enzim di dalam sel bakteri sebagian diatur oleh perubahan pada pH lingkungan (Norkhotimah, 2017). Berdasarkan penelitian pada sungai Gendol pasca erupsi merapi pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim fosfatase bakteri termofilik, jika suhu dinaikkan sampai 65°C maka aktivitas enzim menjadi naik, ketika suhu diturunkan sampai suhu 45°C aktivitas enzim juga turun, aktivitas enzim akan turun pada pH 5 dan pH 9, ketika pH 7 aktivitas enzim menjadi naik. Suhu dan pH yang optimal untuk aktivitas enzim fosfatase yaitu pada suhu 65°C dan pH 7 (Norkhotimah, 2017).

4.3 Fungsi Enzim Fosfatase

Mikroba tanah dan akar tumbuhan menghasilkan enzim fosfatase. Fungsi enzim tersebut untuk memineralisasi fosfor (P) atau P-organik menjadi P-inorganik yang kemudian dapat diserap dan dimetabolisme oleh sel-sel akar tumbuhan maupun mikroba. Enzim fosfatase di tanah didapatkan sebagai enzim ekstraseluler. Fosfatase yang dihasilkan mikroba adalah yang aktif pada kondisi asam dan basa, dan arena itu maka untuk penamaannya disebut sebagai fosfatase asam dan fosfatase basa. Fosfatase berperan untuk menguraikan suatu ester hingga terlepas asam fosfornya (Rahmansyah, 2009).

4.4 **Aktivitas Enzim Fosfatase**

Aktivitas fosfatase yang sensitif terhadap perubahan lingkungan menjadikannya representatif untuk indikator kesuburan tanah. Dalam pengamatan aktivitas fosfatase, Tabatai menyarankan bahwa karena sebagian besar P-organik tanah adalah ikatan ester maka aktivitas *fosfomonoesterase* dan *fosfodiesterase* cukup mewakili sebagai parameter untuk mengamati aktivitas enzim fosfatase di tanah. Fosfatase asam berkorelasi negatif terhadap keasaman tanah, namun dibalik keseluruhan fenomena itu dapat diasumsikan bahwa aktivitas enzim fosfatase sensitif terhadap perubahan lingkungannya (Rahmansyah, 2009).

Aktivitas fosfatase dan urease mempunyai keterkaitan kuat dengan pola aktivitas biologi tanah pada proses degradasi bahan organik kompos dan residu pestisida. Pengukuran aktivitas enzim fosfatase dari tanah dilakukan dengan menggunakan p-nitrofenol fosfat sebagai substrat. Hasil pengamatan aktivitas fosfatase dari masing-masing lokasi lingkungan hutan alami dan non alami menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata pada kedua lokasi pengamatan (Rahmansyah, 2009).

Aktivitas enzim fosfatase asam lebih besar dari fosfatase basa, yang seperti umumnya terjadi pada aktivitas fosfatase mikroba tanah di lingkungan hutan. Memperhatikan hasil pengukuran aktivitas enzim mengasumsikan bahwa suasana asam pada tanah hutan menjadikan terinduksinya enzim fosfatase ekstraseluler yang menghasilkan aktivitas fosfatase asam yang lebih tinggi dibandingkan aktivitas fosfatase basa yang terukur rendah. Aktivitas fosfatase asam pada sampel tanah yang diambil dari lingkungan tanah hutan alami

dan non alami mendapatkan hasil aktivitas yang tinggi, sekitar 4 sampai 5 kali lebih besar dari aktivitas representatif untuk diperbandingkan (Rahmansyah, 2009).

4.5 Isolasi Enzim Fosfatase

Isolat terpilih sebanyak 5 mL (10% dari medium) ditumbuhkan di waterbath shaker pada medium. Pikovskaya, sampai masa eksponensial pada suhu 55°C. Kemudian disentrifugasi kultur bakteri penghasil enzim fosfatase dengan kecepatan 1000 rpm selama 20 menit. Lalu supernatan yang dihasilkan dituang ke dalam tabung (Norkhotimah, 2017).

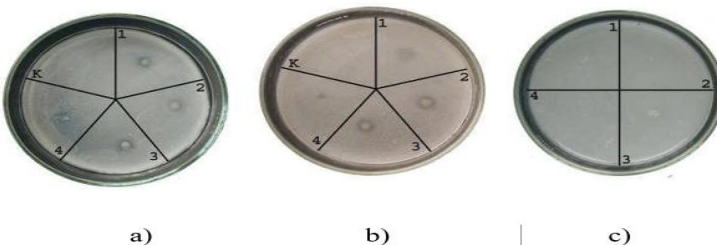
4.6 pH Optimum Enzim Fosfatase

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap fosfomonoesterase yang meliputi fosfatase asam dan fosfatase alkalin, sesuai dengan metode Tabatabai dan Bremner (1969). Pengelompokan ini didasarkan pada pH optimum enzim, sebagian bekerja optimum pada pH asam dan sebagian pada pH alkalin. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keseluruhan isolat memiliki kandungan enzim fosfatase asam yang paling tinggi pada suhu 37°C dan semakin berkurang hingga suhu 58°C. Akan tetapi, ketika hasil inkubasi pada suhu 58°C dikembalikan pada suhu ruang, kandungan enzim fosfatase asam naik. Jika keempat isolat dibandingkan, isolat EPS5 memiliki kandungan enzim fosfatase asam yang paling tinggi diantara isolat BPF yang lain untuk tiap suhu inkubasi. Sedangkan isolate KT6D memiliki kandungan enzim fosfatase asam yang paling rendah dibanding ketiga isolate yang lainnya. Mulai pada suhu rendah, aktivitas enzim bertambah dengan naiknya

suhu sampai aktivitas optimumnya dicapai. Menurut Pelczar (2010), suhu akan mempengaruhi aktivitas enzim (Dewanti *et al.*, 2016).

4.7 Sifat Enzim Fosfatase

Pengujian sifat enzim dilakukan untuk mengetahui apakah enzim bersifat dapat kembali (reversible) atau tidak dapat kembali (*irreversible*). Pengujian dilakukan dengan menginkubasi isolat bakteri yang sebelumnya telah diinkubasi pada suhu maksimum di media *Pikovskaya* padat (58°C) ke suhu ruang melalui dua cara, yaitu tetap menggunakan media lama lalu menginkubasinya pada suhu ruang dan memindahkan bakteri dari media lama ke media baru lalu menginkubasinya pada suhu ruang. Isolat pada media lama dengan masa inkubasi 72 jam pada suhu ruang tampak adanya pertumbuhan koloni dan diameter zona bening yang bertambah besar dan jelas jika dibandingkan dengan isolat pada media lama yang diinkubasi pada suhu 58°C . Isolat yang dipindah pada media baru dengan masa inkubasi 1 minggu pada suhu ruang tampak adanya pertumbuhan koloni BPF.



Gambar 4.1 Hasil pengujian sifat enzim, a) bakteri yang diinkubasi selama 72 jam pada suhu 58°C , b) bakteri yang diinkubasi tanpa pemindahan media selama 72 jam pada suhu ruang, c) bakteri yang diinkubasi dengan pemindahan media selama 7 hari pada suhu ruang (1) isolat JBNO6 (2) isolate KT6D (3) isolat KT7D (4) isolat EPS5 (K) kontrol negatif.

Akan tetapi, tidak terdapat adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Perbedaan tersebut bisa terjadi karena pada media lama isolat bakteri tidak perlu melakukan adaptasi dengan media hidupnya, sedangkan pada media baru isolat bakteri perlu beradaptasi kembali dengan lingkungan yang baru. Penelitian yang dilakukan oleh Saragih (2013) memberikan informasi bahwa dari lima isolat BPF (isolat pvk-5a, pvk-5b, pvk-6b, pvk-7a dan pvk-8a) yang sebelumnya ditumbuhkan pada media Pikovskaya, tidak ada satupun dari isolat tersebut yang tumbuh setelah dipindah ke media vinasse murni (Dewanti *et al.*, 2016)

4.8 Aplikasi Enzim Fosfatase

Protein fosfatase dan protein kinase merupakan dua kelompok protein yang berperan penting dalam pengendalian berbagai proses seluler pada eukariot. Kedua protein tersebut masing-masing mengontrol fosforilasi dan defosforilasi protein/enzim pada jalur signal transduksi. Dengan demikian masing-masing protein kinase dan protein fosfatase bekerja dengan mengaktifkan dan menginaktifkan protein/ enzim. Akibat dari pengontrolan ini, protein/enzim yang terfosforilasi atau terdefosforilasi dapat mengalami peningkatan atau penurunan aktivitas, sehingga kerusakan protein kinase atau protein fosfatase akan menyebabkan abnormalitas fosforilasi protein/enzim yang dapat menyebabkan banyak penyakit. Kerusakan gen penyandi protein kinase dan protein fosfatase menyebabkan ketidakseimbangan reaksi fosforilasi. Fungsi fisiologi protein fosfatase pada sistem eukaryot terus dieksplor untuk mengetahui fungsinya dalam sel (Hermansyah & Susilawati, 2016).

4.9 Sumber Enzim Fosfatase

Mikroba tanah dan akar tumbuhan menghasilkan enzim fosfatase. Enzim fosfatase di tanah didapatkan sebagai enzim ekstraseluler. Fosfatase yang dihasilkan mikroba adalah yang aktif pada kondisi asam dan basa, dan karena itu maka untuk penamaannya disebut sebagai fosfatase asam dan fosfatase basa. Jenis- jenis fungi tertentu diketahui mampu mengeksploitasi sumber fosfat organik alami secara efektif sehingga mineral fosfat menjadi tersedia dan dimanfaatkan secara efisien oleh tumbuhan. Enzim fitase jauh lebih aktif dari enzim fosfatase asam dan basa yang dihasilkan secara ekstraseluler oleh fungi yang aktivitas enzimnya terdeteksi berurutan mulai dari yang paling potensial yaitu *Aspergillus sp.*, *Emmericella sp.*, dan *Penicillium sp.* Fosfatase dan fitase yang dihasilkan *Chaetomium globosum* menstimulasi tumbuhan muda dalam mengakumulasi biomassa tumbuhan atas (shoot) dan penetrasi perakaran yang maksimal bila dibandingkan dengan tumbuhan yang tidak diberi inokulan (Tarafdar dan Gharu, 2006). Pengamatan aktifitas fosfatase pada pengamatan ini hanya diukur terhadap aktivitas fosfatase pada bakteri saja, yaitu BPF (Rahmansyah, 2009).

4.10 Sumber rujukan

Sriyanti. 2017. Pengaruh Pemerangkapan Enzim Alkalin Fosfatase Ke dalam Silika Dari Abu Sekam Terhadap Aktivitas Enzimatiknya. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. **01**: 42-47.

- Suliasih & M. Rahmansyah. 2009. Aktivitas Fosfatase Tanah Di Lingkungan Bentang Hutan Alami. *Jurnal Berita Biologi* **06**: 783-792.
- Nurkhotimah. 2017. Pengaruh Suhu Dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi* **06**: 465-471.
- Dewanti, A.W., E. Pratiwi & Y. Nuraini. 2016. Viabilitas Dan Aktivitas Enzim Fosfatase Serta Produksi Asam Organik Bakteri Pelarut Fosfat Pada Beberapa Suhu Simpan. *Jurnal Tanah Dan Sumber Daya Lahan* **03**: 311- 318.
- Hermansyah & Susilawati. 2016. Konstruksi Triple Disruptan Genkode Protein Fosfatase Dan Proten Kinase *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal kmia riset* **01**: 48-51.

5

ENZIM PEROKSIDASE

- 5.1 Pengertian Enzim Peroksidase
- 5.2 Enzim Peroksidase sebagai Biokatalisator
- 5.3 Sumber Enzim Peroksidase
- 5.4 Aktivitas Enzim Peroksidase
- 5.5 Isolasi Enzim Peroksidase
- 5.6 Pemurnian Enzim Peroksidase
- 5.7 Aplikasi Enzim Peroksidase
- 5.8 Sumber Rujukan

5.1 Pengertian Enzim Peroksidase

Enzim peroksidase merupakan enzim yang ada pada tanaman dan berhubungan dengan proses ketahanan. Menurut Gunaeni & Purwati (2013) ketahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen dibagi menjadi dua, yaitu ketahanan pasif dan aktif. Salah satu bentuk ketahanan tanaman terhadap penyakit yaitu ketahanan mekanis yang merupakan ketahanan aktif. Sifat ketahanan aktif terjadi setelah tanaman terinfeksi. Ketahanan pasif disebabkan adanya struktur tanaman yang menjadi penghalang patogen untuk melakukan penetrasi karena tanaman mempunyai epidermis yang berkutikula tebal, lapisan lilin, dan jumlah stomata sedikit. Ketahanan metabolik juga merupakan ketahanan pasif yang disebabkan adanya senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan tanaman, baik sebelum maupun sesudah infeksi. Interaksi antara patogen dengan tanaman dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia

disekitar jaringan yang terinfeksi, yang meliputi peningkatan aktivitas enzim dan sintesis senyawa-senyawa fenol untuk membentuk pertahanan.

Secara biokimia ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat dilihat dari aktivitas enzim tertentu. Enzim peroksidase merupakan salah satu enzim yang banyak diteliti. Peningkatan enzim peroksidase bersamaan dengan terjadinya perubahan beberapa enzim oksidatif dan hidrolis lainnya akan mempunyai hubungan dengan ketahanan terhadap penyakit (Alnopri *et al.*, 2009).

Enzim peroksidase merupakan enzim yang unik karena memiliki banyak varian dan terdapat pada banyak sumber, mulai dari tanaman, hewan, maupun dalam tubuh manusia. Selain itu, enzim ini dapat mengaktifkan pembentukan produk baru yang berperan sangat penting dalam sistem pertahanan terhadap bakteri dan jamur pada metabolisme hidup. Peroksidase merupakan senyawa protein yang dapat mengkatalisis reaksi kimia dalam sistem biologis makhluk hidup secara aman tanpa merusak sel atau merusak metabolisme yang ada. Oleh karena fungsinya, maka peroksidase dapat dimanfaatkan sebagai pengawet dalam bidang pangan. Enzim peroksidase merupakan salah satu enzim yang termasuk kedalam kelas enzim oksidoreduktase yaitu enzim yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan. Peroksidase juga merupakan protein yang mengandung "heme" yang dapat mengkatalisis reaksi oksidasi dari berbagai senyawa organik ataupun senyawa anorganik dengan adanya H_2O_2 sebagai aseptor elektron dan juga memiliki sifat spesifik yaitu kemampuan suatu enzim untuk membedakan substratnya berdasarkan perbedaan afinitas substrat-substratnya untuk dapat mengaktifkan

enzim (Al-Baarri, 2016). Peroksidase merupakan suatu protein enzim yang mempunyai variasi kelarutan yang dipengaruhi konsentrasi garam. Karakter ini melibatkan interaksi spesifik antara muatan rantai samping dan ion dalam larutan (Ardiansah *et al.*, 2017)

5.2 Enzim Peroksidase sebagai Biokatalisator

Enzim peroksidase disebut sebagai biokatalisator dikarenakan enzim ini mempunyai peranan sebagai katalis dalam tubuh makhluk hidup. Hal ini dikarenakan enzim mempunyai kemampuan untuk mempercepat reaksi tanpa ikut bereaksi dan tidak terjadi perubahan pada struktur kimia reaksi tersebut. Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kendali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Seperti katalis lainnya, enzim juga menurunkan atau memperkecil energi aktivasi suatu reaksi kimia. Dalam reaksi tersebut enzim mengubah senyawa yang selanjutnya disebut substrat menjadi suatu senyawa yang baru yaitu produk, namun enzim tidak ikut berubah dalam reaksi tersebut (Supriyatna *et al.*, 2015).

Enzim peroksidase memiliki sifat spesifik (spesivitas enzim) yaitu kemampuan suatu enzim untuk membedakan substratnya berdasarkan perbedaan afinitas (K_m) substrat-substratnya untuk dapat mengaktifkan enzim. Substrat dari enzim peroksidase adalah hidrogen peroksida (H_2O_2). Peroksidase mengkatalis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O^- . Peroksidase jika dikombinasikan dengan H_2O_2

dan SCN^- akan menghasilkan senyawa *hypothiocianite* (OSCN^-). Senyawa ini dapat digunakan sebagai antimikroba alami yang dapat digunakan sebagai pengawet bahan pangan (Al-Baarri, 2016). Enzim peroksidase dapat bekerja pada satu jenis substrat tertentu (Gardjito *et al.*, 2013)

5.3 Sumber Enzim Peroksidase

Enzim peroksidase dapat ditemukan pada bahan alam, seperti :

1. Batang brokoli
2. Bonggol jagung
3. Daun mangkogan
4. Lobak putih
5. *Water spinach*
6. Tomat
7. Pisang
8. Susu dalam bentuk sistem laktoperoksidase
(Utami *et al.*, 2017)

5.4 Aktivitas Enzim Peroksidase

Peroksidase merupakan suatu protein enzim yang mempunyai variasi kelarutan yang dipengaruhi oleh konsentrasi garam. Menurut Parida *et al* (2016) enzim peroksidase merupakan enzim yang mereduksi hidrogen peroksida yang merupakan kelompok senyawa peroksida menjadi air (H_2O) yang tidak lagi beracun bagi tanaman. Umumnya enzim peroksida berada dalam membrane tilakoid yang berfungsi antioksidan pada sel tanaman. Berdasarkan penelitian yang mereka lakukan dimana untuk mengetahui aktivitas dari enzim peroksidase pada perlakuan bakteri endofit, dapat diketahui bahwa secara umum aktivitas enzim peroksida

tidak terlalu berbeda nyata dengan kontrol kecuali pada beberapa perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ketahanan tanaman akibat perlakuan bakteri endofit tidak selalu berasosiasi dengan peningkatan aktivitas enzim peroksidase.

Aktivitas enzim peroksidase punya korelasi positif yang terbatas pada tanaman dewasa, sedangkan pada tanaman muda korelasi tersebut kurang pasti atau tidak ada. Aktivitas peroksidase dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan. Tanaman yang tahan terjadi peningkatan aktivitas peroksidase, sedangkan pada tanaman yang peka tidak ada perubahan atau bahkan turun dibandingkan dengan keadaan sehat. Tanaman memiliki ketahanan aktif berupa senyawa yang dihasilkan yaitu enzim peroksidase yang dapat digunakan sebagai penanda seleksi ketahanan terhadap penyakit dan substansi-substansi yang menghambat seperti minyak ester, senyawa fenol, dan zat lain yang membentuk pertahanan terhadap toksin yang dihasilkan oleh patogen. Dengan demikian tanaman tidak memperlihatkan intensitas gejala yang berarti. Genotip rentan memiliki aktivitas enzim peroksidase yang lebih tinggi. Peningkatan aktivitas enzim peroksidase merupakan respon sekunder (Gunaeni & Purwati, 2013).

Peroksidase adalah enzim yang berperan dalam proses ketahanan tanaman termasuk reaksi hipersensitif, proses lignifikasi, sintesis fenol, glycoprotein, penggabusan dan produksi fitoaleksin. Aktivitas enzim peroksidase ditentukan oleh kepekaan tanaman terhadap suatu penyakit. Ketika tanaman terinfeksi patogen akan terjadi perubahan fisiologi pada tanaman, dan enzim pertahanan tanaman umumnya akan aktif bereaksi. Enzim peroksidase merupakan salah satu enzim yang berhubungan dengan proses

pertahanan tanaman ini. Ketahanan konstitutif tanaman secara struktur termasuk adanya penghambat (*barrier*) seperti dinding sel, juga senyawa penghambat seperti senyawa fenol. Aktivitas peroksidase berkaitan dengan mekanisme peligninan pada dinding sel tanaman dan produksi senyawa fenol. Dinding sel yang kuat akan menghalangi proses infeksi patogen karena terjadinya peligninan yang menghambat patogen masuk. Enzim peroksidase merupakan suatu kelompok PR-protein (*Phatogenesis-Related* protein) dari golongan PR-9 yang terkumpul pada saat tanaman sakit. Selain itu, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dipengaruhi oleh adanya serangan patogen. Aktivitas peroksidase sebagai penanda terjadinya pengimbasan yang bersifat lokal maupun sistemik pada tanaman (Resti *et al.*, 2016).

Aktivitas enzim diukur dengan 4-aminoantipirin dengan fenol sebagai substrat dan hidrogen peroksida sebagai penerima elektron. Pada tahap inisiasi, enzim peroksidase dalam bentuk tereduksi akan memberikan elektron kepada hidrogen peroksida. Hal ini mengakibatkan penguraian hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Di sisi lain, peroksidase berubah menjadi enzim peroksidase dalam bentuk yang teroksidasi. Enzim peroksidase dalam bentuk teroksidasi akan mengoksidasi fenol dan 4-aminoantipirin (substrat) sehingga menghasilkan bentuk radikalnya, sedangkan peroksidase menjadi bentuk teroksidase lainnya (Ardiansah *et al.*, 2017).

5.5 Isolasi Enzim Peroksidase

Proses isolasi enzim peroksidase dilakukan pada suhu rendah dan pada pH 7 yang tujuannya untuk mencegah degradasi proteolitik terjadi yang disebabkan

oleh enzim protease penyaringan dan sentrifugasi dilakukan sebagai proses pemisahan sel debris. Supernatan hasil sentrifugasi disebut EK atau ekstrak kasar. Peroksidase mempunyai variasi kelarutan yang dipengaruhi oleh konsentrasi garam hal tersebut melibatkan interaksi spesifik antara muatan rantai samping dan ion dalam larutan. Penambahan amonium sulfat terhadap ekstrak kasar menyebabkan adanya proses *salting out*. *salting out* yaitu proses berkurangnya kelarutan suatu protein karena penambahan suatu zat (garam). Protein enzim yang mengalami proses *salting out* akan mengendap tapi strukturnya tidak terdenaturasi. Hal tersebutlah menjadi dasar pemurnian peroksidase menggunakan metode penambahan amonium sulfat dengan berbagai tingkat konsentrasi larutan garam (Ardiansah *et al.*, 2017).

5.6 Pemurnian Enzim Peroksidase

Pemurnian enzim peroksidase dilakukan secara parsial menggunakan amonium sulfat. Fraksinasi juga digunakan untuk memisahkan enzim peroksidasi dari ekstrak kasar dengan cara pengendapan berdasarkan bobot molekulnya. Protein dengan bobot molekul yang lebih besar akan lebih dulu mengendap, diikuti protein dengan bobot molekul yang lebih ringan. Proses fraksinasi dilakukan pada suhu 4°C selama 2 jam dengan penambahan garam amonium sulfat sesuai persentase kejenuhan sedikit demi sedikit. Endapan yang diperoleh dari hasil fraksinasi atau pemurnian dengan amonium sulfat 50% sampai 70%. Kemudian, disuspensikan kembali dalam larutan bufer K-Fosfat pH 7 sampai larut. Ekstrak enzim peroksidase fraksi ini disebut peroksidase ekstrak kasar (Ardiansah *et al.*, 2017).

5.7 Aplikasi Enzim Peroksidase

Ada banyak penyelidikan tentang penggunaan peroksidase dalam banyak proses pembuatan seperti perekat, chip komputer, bagian mobil, dan lapisan drum dan kaleng. Studi lain menunjukkan bahwa peroksidase dapat digunakan dengan sukses untuk mempolimerisasi anilin dan fenol dalam matriks pelarut organik. Menurut Utami *et al* (2017) enzim peroksidase telah banyak digunakan untuk berbagai bidang baik industri, kesehatan, maupun pangan. Telah banyak dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan enzim terutama yang berkaitan dengan bidang industri, kesehatan, dan pangan. Aplikasi dibidang industri telah berhasil memanfaatkan enzim peroksidase untuk mereduksi air limbah dari senyawa fenolik, mensintesis senyawa aromatik dan mengurangi peroksida dari limbah industri. Sementara itu enzim peroksidase pada bidang kesehatan telah berhasil digunakan untuk analisis kuantitatif asam urat, glukosa dan kolesterol. Pemanfaatan enzim ini dalam bidang pangan dinilai telah berhasil untuk menghasilkan sebuah senyawa antimikroba yang dapat dimanfaatkan sebagai pengawet makanan. selain itu, peroksidase juga mampu meningkatkan aktivitas antioksidan pada teh.

5.8 Sumber Rujukan

Alnopri, Prasetyo, & D.W. Ganefianti. 2009. Penampilan Morfologi dan Isoenzym Peroksidase Kopi Arabika Dataran Rendah. *Jurnal Akta Agrosia*. **12** (1) : 15-20.

- Al-Baari, A.N. 2016. *Peroksidase Daun Tomat dan Aplikasinya untuk Antibakteri*. Indonesia Food Technologists, Semarang.
- Ardiansah, B., A. H. Cahyana, W. P. Suwarso, R. Maryana & S. Merly. 2017. Kopling Oksidatif Eugenol Menggunakan Ekstrak Enzim Peroksidase Akar Tanaman Sawi Hijau dan Uji Bioaktivitasnya. *Journal of Chemistry*. **5** (3) : 78-84.
- Gardjito, M., Djuwardi, & Harmayanti. 2013. *Pangan Nusantara, Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan*. Kencana, Jakarta.
- Gunaeni, N & E. Purwati. 2013. Uji Ketahanan terhadap *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* pada Beberapa Galur Tomat (*Resistance Test of Tomato Lines to Tomato Yellow Leaf Curl Virus*). *J. Hort.* **23** (1) : 65-75.
- Parida, I., T. A. Damayanti & Giyanto. 2016. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Endofit sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Padi terhadap Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. **12** (6) : 199-208.
- Resti, Z., T. Habazar, D. P. Putra & Nasrun. 2016. Aktivitas Enzim Peroksidase Bawang Merah yang Diintroduksi dengan Bakteri Endofit dan Tahan terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas Axonopodis PV.Allii*). *J. HPT Tropika*. **16** (2) : 131-137.

- Safaria, S., N. Idiawati & T. A. Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*. **2** (1) : 46-51.
- Supriyatna, A., D. Amelia, A.A. Jauhari, & D. Holydaziah. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. **17** (5) : 18-32.
- Utami, T., A. N. Al-baarri & A. M. Legowo. 2017. Pengambilan Enzim Peroksidase dari Daun Tomat dengan Menggunakan Teknik Pertukaran Ion. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. **6** (2) : 85-88.

6

ENZIM PEKTINASE

- 6.1 Pengertian Enzim Pektinase
- 6.2 Aktivitas Enzim Pektinase
- 6.3 Manfaat Enzim Pektinase
- 6.4 Sumber Enzim Pektinase
- 6.5 Aplikasi Enzim Pektinase
- 6.6 Sumber Rujukan

6.1 Pengertian Enzim Pektinase

Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang paling banyak digunakan daripada hewan dan tumbuhan, karena mikroorganisme memiliki pertumbuhan yang cepat dan tumbuh pada berbagai jenis substrat. Pektinase dapat diisolasi dari *Aspergillus niger*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus subtilis* dan *Penicillium chrysogenum*. Pektinase atau enzim pektinolitik merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan dalam sektor komersial, terutama digunakan sebagai biokatalis pada proses penghancuran buah dan penjernihan sari buah. Pektinase merupakan enzim yang memecah pektin, suatu substrat polisakarida yang diperoleh dari dinding sel tumbuhan. Pektin merupakan polimer dari asam D-galakturonat yang dihubungkan oleh ikatan 1-4 glikosidik (Mufarrikha *et al* ., 2014).

Pektinase adalah nama umum dari kelompok enzim yang mengatalisis hidrolisis ikatan glikosidik pada polimer pektat atau enzim yang berperan dalam

degradasi substansi pectin. Pektinase merupakan enzim komersial yang dapat merusak pektin (substrat polisakarida) dengan cara memecah asam poligalakturonat menjadi asam monogalakturonat melalui pelepasan ikatan glikosidik. Selain mengatalisis degradasi zat pektat (pektin) melalui depolimerisasi (hidrolase dan liase), pektinase juga dapat merombak zat pektat (pektin) tersebut melalui reaksi diesterifikasi (esterase).

Pektinase merupakan enzim yang dapat mendegradasi rantai panjang polimer karbohidrat yang disebut pektin. Enzim pektinase disebut juga enzim hidrolase. Pemecahan pektin terjadi pada ikatan α -1,4-glikosida. Produk yang dihasilkan berupa asam galakturonat. Salah satu aplikasi pektinase dalam industri sebagai penjernihan sari buah. Buah-buahan biasanya mengandung meneral. Sumber penghasil pektinase adalah mikroba, seperti *Aspergillus niger* dan *Bacillus Sp.* Pektin dapat ditemukan pada jaringan tanaman, terutama sayuran dan buah- buahan. Pektin terletak pada lamella tengah dinding sel, pada mulanya berupa proto pektin yang tidak larut dalam air. Apabila sudah dewasa berubah menjadi pektin yang dapat larut dalam air. Sifat pektin seperti gel yang dapat mengokohkan tanaman. Komponen utama penyusun pektin adalah ramnogalakturonat (RG) dan homogalakturonat (HG) (Satriana *et al.* , 2014). Pektinase adalah kelompok enzim yangmendegradasi substansi yang mengandung pektin menjadi fraksi yang lebih kecil sehingga mengakibatkan pengurangan viskositas, mengurangi pembentukan geldan meningkatkan konsentrasi (Widowati *et al.* , 2014).

6.2 Aktivitas Enzim Pektinase

Aktivitas enzim bergantung pada konsentrasi enzim dan keadaan reaksi seperti pH dan suhu. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim selain konsentrasi enzim, adalah suhu, pH substrat, inhibitor, dan aktivator. Hal ini dikarenakan setiap enzim memiliki pH dan suhu optimum. Jika suhu di bawah suhu optimum, maka aktivitas enzim akan rendah. Demikian juga dengan pH, jika dilakukan proses dibawah pH optimum maka aktivitas enzim rendah. Hal ini terjadi karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah, sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim akibatnya proses katalis tidak dapat berlangsung secara sempurna. Masing-masing mikroorganisme memiliki sifat-sifat khusus dan kondisi lingkungan optimal berbeda yang mempengaruhi aktivitas enzim fosfatase (Nurkhotimah, 2017).

Aktivitas pektinase menunjukkan waktu fermentasi optimum pada waktu 96 jam, dikarenakan pada kondisi tersebut merupakan awal fase stasioner dan akhir dari fase eksponensial sehingga mikroba dapat menggunakan nutrisi dan sangat aktif mensintesis enzim pektinase. Sedangkan pada fermentasi waktu 120 jam, mulai mengalami penurunan karena sel memasuki fasa stasioner. Aktivitas enzim akan semakin menurun karena pada waktu tertentu saat jumlah mikroba yang mengonsumsi nutrisi tersebut melebihi daya dukung nutrisi, maka akan terjadi kekurangan nutrisi. Kemudian nutrisi akan benar-benar tidak dapat lagi mencukupi kebutuhan mikroorganisme, sehingga produk yang dihasilkan akan semakin menurun (Mufarrikha *et al.* , 2014).

6.3 Manfaat Enzim Pektinase

Pemanfaatan enzim pektinase saat ini telah banyak dilakukan, misalnya pada pengolahan limbah cair, dan industri makanan seperti pada industri penjernihan sari buah. Secara umum enzim pektinase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis*. Enzim ini digunakan sebagai biokatalis untuk merombak senyawa pektat atau pektin dalam industri sari buah maupun dalam industri teh. Enzim pektinase dapat dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme, sel tumbuhan maupun sel hewan (Adi, 2011).

Pektinase berguna terhadap pemecahan substansi pektin. Pemecahan substansi pektin oleh pektinase akan menurunkan viskositas sari buah yang kaya akan pektin kasar, memperpendek waktu penekanan (press-time), dan meningkatkan laju alir sari buah (juice flow), selain itu pektinase dapat juga digunakan untuk melunakkan dinding sel dan mampu meningkatkan rendemen ekstrak jus dari buah sehingga enzim pektinase menjadi salah satu enzim yang penting pada industri pangan.

6.4 Sumber Enzim Pektinase

Sumber pektinase dapat dihasilkan dari limbah organik seperti kulit jeruk, kulit apel, kulit kakao dan kulit pisang. Salah satu upaya untuk memanfaatkan limbah ini adalah menggunakannya sebagai media untuk fermentasi enzim. Kandungan senyawa pektinase dari limbah kulit pisang halnya aktivitas enzim maksimum yang diperoleh dari substrat kulit pisang sebesar 64,27 mg grup pereduksi/menit/Mg protein enzim. Analisa aktivitas enzim diukur berdasarkan jumlah grup pereduksi yang dibebaskan dari larutan pektin citrus I % pada kondisi pH 4,6 dan temperatur

450 C. Senyawa pektat dalam kulit pisang tersebut dapat digunakan untuk mensintesis enzim-enzim pektinase oleh mikroorganisme.

Pemanfaatan enzim pektinase Limbah hasil pertanian memiliki potensi besar dalam pemanfaatannya seperti digunakan sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme untuk memproduksi enzim. Limbah hasil pertanian yang digunakan adalah tanaman kakao yang tergolong tanaman multi guna. Kandungan nutrisi yang banyak terdapat dalam kulit kakao ini dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme untuk menghasilkan enzim. Penelitian terdahulu telah dilakukan dengan memanfaatkan kulit kakao sebagai media untuk memproduksi enzim pektinase. Limbah kulit buah kakao dapat digunakan sebagai pakan ternak, Selain itu pulpnya dapat dimanfaatkan menjadi bahan pangan yaitu nata de cacao. Kulit kakao yang digunakan sebagai sumber karbon dan urea sebagai sumber nitrogen dalam fermentasi media padat untuk menghasilkan enzim pektinase dengan bantuan *Aspergillus niger*. Enzim pektinase tersebut digunakan dalam proses penjernihan sari buah yang melibatkan degradasi bahan untuk mempercepat ekstraksi jus dari buah-buahan, selain itu dapat digunakan untuk perendaman biji kakao untuk pelepasan pulp biji kakao, pulp kakao tersebut akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan nata de cacao, sedangkan kulit kakao yang telah mengalami proses fermentasi dengan bantuan *Aspergillus niger* akan digunakan sebagai pakan ternak karena mempunyai tingkat pencernaan dan kandungan protein yang tinggi, menurunkan kandungan tanin dari kulit kakao tersebut.

6.5 Aplikasi Enzim Pektinase

Aplikasi Enzim Pektinase dalam Industri Pangan Pektin telah banyak digunakan, baik pada industri pangan, maupun non-pangan. Penggunaan pektin pada industri pangan di antaranya sebagai bahan pembentuk gel dan penstabil pada sari buah, jelly, jam, dan marmalade, selain itu pektin juga berperan sebagai penstabil pada minuman susu asam dan yoghurt, membantu proses fermentasi teh dan kopi

Metode pengambilan sari buah dari buah asalnya biasa menggunakan metode ekstraksi. Buah yang diekstrak akan menghasilkan sari buah. Sari buah yang diperoleh biasanya masih mengandung partikel padat, sehingga perlu dihilangkan dengan penyaringan agar mendapatkan sari buah yang jernih. Pemisahan dengan didiamkan beberapa waktu akan terjadi pengendapan padat karena adanya gaya gravitasi partikel padat, kemudian dapat diambil bagian jernihnya. Proses penjernihan yang lebih efisien dapat menggunakan bantuan enzim pektinase (Adi, 2011).

6.7 Sumber Rujukan

Adi. P. D. 2011. Penggunaan enzim dalam industri pangan. Universitas Diponegoro. Semarang.

Ikawati, Z. 2016. *Farmakologi Molekuler Target Aksi Obat dan Mekanisme Molekulnya*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Mufarrikha, I. A. Roosdiana & S. Prasetyawan. 2014. Optimasi Kondisi Produksi Pektinase dari *Aspergillus niger*. *Kimia Student Journal*. **2**(1) : 393-399.

- Nurkhotimah. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi*. **6** (8) : 465-471.
- Satriana. A. Roosdiana & S. Prasetyawan. 2014. Pengaruh Ion Kalsium (Ca²⁺) Terhadap Aktivitas Pektinase Hasil Isolasi dari *Bacillus firmus*. *Kimia Student Journal*. **2**(1) : 345-350.
- Widowati, E. R. Utami. E. Nurhartadi. M. A. M. Andriani & A. W. Wigati. 2014. Produksi dan Karakterisasi Enzim Pektinase oleh Bakteri Pektinolitik dalam Klarifikasi Jus Jeruk Manis (*citrus cinensis*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. **3**(1) : 16-20.

7

ENZIM LAKTASE

- 7.1 Pengertian Enzim Laktase
- 7.2 Reaksi Kimia Enzim Laktase
- 7.3 Situs Aktif dari Enzim Laktase
- 7.4 Aktivitas Enzim Laktase
- 7.5 Isolasi Enzim Laktase
- 7.6 Manfaat Enzim Laktase
- 7.7 Sifat Enzim Laktase
- 7.8 Sumber Enzim Laktase
- 7.9 Fungsi Enzim Laktase
- 7.10 Identifikasi Enzim Laktase
- 7.11 Mekanisme Enzimatis Enzim Laktase
- 7.12 Tempat Kerja dari Enzim Laktase
- 7.13 Sumber Rujukan

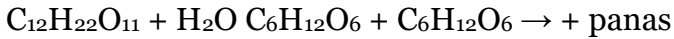
7.1 Pengertian Enzim Laktase

Enzim laktase yaitu suatu enzim yang dihasilkan mukosa usus halus. Bila ada kerusakan mukosa usus pada serangan gastroenteritis, yang paling banyak ditemukan adalah gangguan pada enzim laktase berupa defisiensi laktase. Defisiensi enzim laktase dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu defisiensi laktase primer dan defisiensi laktase sekunder. Terdapat 3 bentuk defisiensi laktase primer, yaitu : *Developmental lactase deficiency* pada bayi prematur dengan usia kehamilan 26-32 minggu. Kelainan ini terjadi karena aktivitas laktase belum optimal. *Congenital lactase deficiency*, kelainan dasarnya adalah

tidak terdapat enzim laktase di brush border epitel usus halus. Kelainan ini jarang ditemukan dan menetap seumur hidup. Genetical lactase deficiency timbul perlahan-lahan sejak usia 2-5 tahun hingga dewasa. Kelainan ini umumnya terjadi pada ras yang tidak mengonsumsi susu secara rutin dan diturunkan secara autosomal resesif.⁵ Kelainan genetik terjadi pada kromosom 2 pada posisi 21 yang berisi 12 exon dan ditranskripsi ke dalam 6 kb transkrip. Kelainan gen *Lactase-phlorizin hydrolase* (LCT) tersebut terjadi pada MCM6 yang merupakan 13,910 bp dari inisiasi kodon LCT.¹⁰ Defisiensi laktase sekunder akibat cedera usus kecil seperti pada gastroenteritis akut, diare persisten, kemoterapi kanker, atau penyebab lain cedera mukosa usus halus, dapat terjadi pada setiap usia, lebih sering pada bayi (Febyan *et al.*, 2016).

7.2 Reaksi Kimia Enzim Laktase

Laktase adalah enzim likosida hidrolase yang berfungsi untuk memecah laktosa menjadi gula penyusunnya yaitu glukosa dan galaktosa. Tanpa suplai atau produksi enzim laktase yang cukup dalam usus halus, akan menyebabkan terjadinya lactose intolerant yang mengakibatkan rasa tidak nyaman diperut seperti kram, banyak buang gas, atau diare) dalam saluran cerna selama proses pencernaan produk-produk susu. Laktase dapat menghidrolisis berbagai substrat. Sementara itu terutama anggota kelas enzimatik β -galaktosidase, laktase juga memiliki glukosidase dan kegiatan *glycosylceramidase*. Dalam metabolisme, ikatan β -glikosidik di D-laktosa dihidrolisis untuk membentuk D-galaktosa dan D-glukosa, yang dapat diserap melalui dinding usus dan ke dalam aliran darah. Reaksi keseluruhan yang mengkatalisis laktase adalah:



Laktase juga mengkatalisis konversi phlorizin untuk phloretin dan glukosa.

7.3 Situs Aktif dari Enzim Laktase

Enzim ini memiliki dua situs aktif, yaitu laktosa hydrolysing dan phlorizin (sebuah α glukosida-aril) dan berbagai glycolipids. Aktivitas dari situs phlorizin berguna pada manusia dalam hal memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa seperti yang telah dijelaskan di atas. Laktosa perlu dipecah karena tubuh tidak dapat mencernanya, laktosa perlu di pecah menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu menjadi senyawa monosakarida sehingga dapat diserap oleh usus ke dalam aliran darah. Glukosa yang diserap nantinya digunakan sebagai sumber energi sedangkan galaktosa digunakan sebagai komponen glikolipid dan glikoprotein.

7.4 Aktifitas Enzim Laktase

Kerja enzim lactase ini biasanya terjadi dalam usus yang memiliki konsentrasi bakteri 10^{1-4} mL⁻¹, dengan kondisi ini laktosa yang di hidolisis oleh enzim lactase sedikit di fermentasi. Enzim Laktase biasanya di ekskresi pada permukaan apical enterosit pada usus kecil dan di tengah-tengah usus besar. Enzim ini diproduksi di usus karena enzim laktase ini hanya bekerja spesifik memecah lakosa ketika berada dalam usus. Enzim laktase sudah mulai diproduksi oleh janin pada umur 8 minggu, hal ini dapat diketahui dari tes laktase pada permukaan usus manusia, lalu produksi enzim semakin meningkat sampai pada minggu ke 36 dan pada waktu melahirkan. Pada saat bayi baru lahir ini

enzim laktase berada dalam puncaknya dalam artian enzim laktase ini lebih banyak di produksi dari pada masa lainnya. Setelah itu, pada bulan pertama setelah kelahiran bayi produksi enzim laktosa menurun.

7.5 Isolasi Enzim Laktase

Isolasi atau pemurnian dari enzim lactase ini didapat dari koloni *Lactobacillus acidophilus* dalam fermentasi ragi. Dari fermentasi ragi ini didapatkan larutan berisi koloni *Lactobacillus acidophilus*. Lalu dilakukan ultrafiltrasi untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi tinggi untuk menyaring substrat lain selain enzim yang dimaksud seperti garam-garam mineral, sel bakteri *Lactobacillus acidophilus*, lemak, protein-protein dan masih banyak yang lainnya. Setelah dilakukan ultrafiltrasi baru dilakukan pemurnian dengan kromatografi. Kromatografi yang dilakukan yaitu kromatografi cair dengan teknik elusi gradient, matriknya menggunakan resin. Setelah keluar dari kromatografi, sampel/enzim di spektrofotometri. Didapatkan hasil pemurnian berat molekul enzim laktase 400-500 kD. Berat ini bias berubah apabila masih didapatkan jenis protein lain dalam sampel murni tersebut. Pemurnian dicukupkan sampai pada tahap ini karena kebutuhannya hanya untuk analisis. Enzim lactase atau D-galaktose ini disintesis dari D-laktose. D-laktose ini ditambahkan glukosa menjadi α -Galaktosyl intermediet, lalu struktur glukosa tersebut terlepas kembali sehingga memecah D-laktosa menjadi D-galaktosa.

7.6 Manfaat Enzim Laktase

Manfaat enzim lactase adalah untuk membantu tubuh dapat menyerap laktosa. Enzim laktase ini dapat

dijadikan sebagai enzim assay untuk menguji ada tidaknya laktosa. Untuk orang yang kekurangan laktase dapat juga dilakukan terapi enzim laktase supaya tubuh dapat memproduksi enzim laktase. Bisa juga dalam produk susu yang dijual di pasaran sudah disertakan enzim laktase supaya untuk orang yang defisiensi laktosa dapat meminum susu tersebut. Apabila kekurangan enzim lactose tubuh tidak dapat mencerna laktosa atau menguraikan laktosa sehingga laktosa dikeluarkan melalui feces. Akibat yang timbul pada proses tersebut adalah diare dan gangguan pencernaan lainnya.

7.7 Sifat Enzim Laktase

Sifat yang penting dari enzim laktase di antaranya adalah daya katalisisnya dan sifat katalisisnya yang spesifik terhadap reaksi tertentu. Enzim hanya dapat bekerja pada suatu substrat tertentu atau pada sejumlah kecil senyawa yang sejenis. Hal ini berbeda dengan katalisator inorganik seperti H^+ , OH^- ataupun ion-logam. Sebagai contoh misalnya enzim laktase hanya bisa bekerja pada laktosa.

Sifat Enzim Laktase ialah spesifik pada satu substrat saja, yaitu laktosa (Gaman & Sherrington, 1994). Kerja enzim ini memutuskan ikatan glikosida pada laktosa. PH optimum untuk Enzim ini dapat bekerja dengan maksimal adalah 6,5. Apabila PH kurang atau lebih dari 6,5 Aktivitas dari enzim lactase bias berkurang bahkan tidak menimbulkan aktivitas. Untuk suhu optimu dari enzim ini dapat bekerja adalah $50^{\circ} C$. Enzim ini hanya diproduksi saat janin berkembang dan masih bayi, lalu dengan bertambahnya usia enzim ini semakin sedikit di produksi dalam tubuh bahkan sampai tidak diproduksi lagi. Tujuan enzim ini diproduksi adalah untuk memecah laktosa yang biasanya terdapat dalam susu

menjadi senyawa yang lebih sederhana supaya bias diserap oleh tubuh, biasanya mamalia minum susu dari induk pada saat masih kecil, bila sudah dewasa tidak minum susu lagi, oleh karena itu enzim ini tidak diproduksi lagi. Enzim ini rusak oleh adanya asam lambung atau perubahan PH yang mendekati asam. Enzim ini juga menjadi tidak aktif jika flora usus normal berubah atau terinfeksi parasit tertentu.

7.8 Sumber Enzim Laktase

Sumber akar laktase pada manusia ialah gen laktase yang menyediakan instruksi untuk sel-sel untuk memproduksi enzim. Sel-sel yang benar-benar melakukan pekerjaan seperti sel epitel usus pada dinding usus kecil. Sel-sel menyerap nutrisi dari usus yang melalui juluran kecil yang disebut dengan “*brush border*”. Fungsi laktase di perbatasan sikat, memecah laktosa menjadi gula yang mudah untuk diserap. Enzim yang terletak di *brush border* juga berkurang drastis. Laktase, enzim yang bertanggung jawab untuk memecah gula susu (laktosa) sehingga dapat diserap, adalah contoh dari salah satu enzim *brush border* (Goi.M, 2017).

7.9 Fungsi Enzim Laktase

Fungsi utama laktase adalah untuk memecah jenis gula yang disebut laktosa. Laktosa adalah gula yang ditemukan dalam susu dan produk susu lainnya. Sebagai senyawa gula besar, laktosa tidak dapat diserap secara alami oleh tubuh. Dalam rangka untuk metabolisme bentuk gula, tubuh kita membutuhkan laktase untuk memecah laktosa menjadi dua partikel yang lebih kecil yang disebut glukosa dan galaktosa. Molekul-molekul

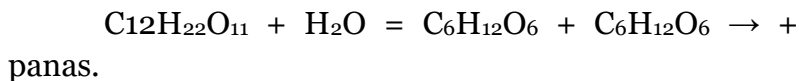
gula yang lebih kecil lebih mudah diserap oleh sel-sel di usus. Tanpa laktase, laktosa tetap dalam saluran pencernaan dan tidak dapat digunakan oleh tubuh.

7.9 Identifikasi Enzim Laktase

Golongan	: Hydrolase
Nama	: laktase
Reaksi	: laktosa + H ₂ O = D-galaktosa + D-glukosa
Istilah	: laktosa = β-D-galactopyranosyl-(1 → 4)- α-D glukopiranos
Nama lain	: laktase-phlorizin hydrolase
Nama sistematis	: galactohydrolase laktosa

7.10 Mekanisme enzimatis Enzim Laktase

Adapun mekanismenya yaitu Laktase dapat menghidrolisis berbagai substrat. Sementara itu terutama anggota kelas enzimatik β-galaktosidase, laktase juga memiliki glukosidase dan kegiatan glycosylceramidase Dalam metabolisme, ikatan β-glikosidik di D-laktosa dihidrolisis untuk membentuk D-galaktosa dan D- glukosa, yang dapat diserap melalui dinding usus dan ke dalam aliran darah. Reaksi keseluruhan yang mengkatalisis laktase adalah sbb:



Laktase juga mengkatalisis konversi phlorizin untuk phloretin dan glukosa.

Mekanisme katalitik hidrolisis D-laktosa mempertahankan konfigurasi substrat anomerik dalam produk. Sementara rincian mekanisme tidak pasti,.

retensi stereokimia dicapai melalui reaksi perpindahan ganda. Studi laktase *E. coli* telah mengusulkan bahwa hidrolisis dimulai ketika sebuah nukleofil glutamat pada serangan enzim dari sisi aksial karbon galactosyl dalam ikatan β -glikosidik. Penghapusan glukosa-D meninggalkan grup mungkin, difasilitasi oleh katalisis asam Mg-dependen. Enzim dibebaskan dari gugus α -galactosyl atas serangan nukleofilik khatulistiwa oleh air, yang menghasilkan D-galaktosa.

Substrat modifikasi penelitian telah menunjukkan bahwa 3'-OH dan gugus 2'-OH pada cincin *galactopyranose* sangat penting untuk pengenalan dan hidrolisis enzimatis. Kelompok 3'-hidroksi ini, terlibat dalam mengikat awal untuk substrat sedangkan 2' - kelompok tidak diperlukan untuk pengenalan tapi diperlukan dalam langkah selanjutnya. Hal ini ditunjukkan oleh fakta bahwa analog 2-deoksi merupakan penghambat kompetitif yang efektif ($K_i = 10 \text{ mm}$). Penghapusan kelompok hidroksil spesifik pada bagian *glukopiranososa* tidak sepenuhnya menghilangkan katalisis.

7.11 Tempat Kerja dari Enzim Laktase

Laktase, merupakan salah satu dari kelompok enzim yang ditemukan di usus kecil, hati, dan ginjal mamalia yang mengkatalisis pemecahan laktosa (gula susu

) ke dalam gula sederhana glukosa dan galaktosa. Pada manusia, laktase dikodekan oleh gen LCT. Laktase sangat penting untuk hidrolisis pencernaan laktosa dalam susu. Suhu optimum untuk laktase adalah sekitar 77° F (25° C) untuk aktivitasnya dan mempunyai pH optimum 6. Laktase sebagian besar diproduksi di sel-sel (enterosit disebut) dari vili, yang garis bagian dalam usus

kecil. Ketika lapisan usus kecil rusak (seperti yang terjadi pada penyakit celiac tidak diobati), produksi laktase diturunkan dan intoleransi laktosa dapat terjadi.

7.12 Sumber Rujukan

Atikah. P & Erna. 2011. *Ilmu Untuk Keperawatan dan Obat Gizi Kesehatan*. Nuha Medika, Yogyakarta.

Fatmawati. A, & N. V. Yanty. 2013. Pengaruh Pemberian Susu Bebas Laktosa Terhadap Karakteristik buang Air Besar Pasien Anak 1-24 Bulan Dengan Diare Akut Di Ruang Perawatan Anak RSUD Anutapura Palu 2013. *Jurnal Keperawatan Anak*. **22**:120-132

Febyan. F, S. H. Wijaya, S. Ho, & J. Hudyono. 2016. Berbagai Pemeriksaan Penunjang terkini untuk Diagnosis Intoleransi Laktosa. *Jurnal Kedokteran Meditek*. **22**: 48-58.

Goi. M. 2017. Penanganan Gizi Pada Celiac Disease. *Health and Nutritions Journal*. **3(2)**: 100-109

Khusniati. T, N. Mariyati, H. N. Lioe, D. N. Faridah, A. Choliq, & Sulistiani. 2015. Purifikasi Parsial Dan Karakterisasi β -galaktosidase *Lactobacillus plantarum* B123 Indigenos Dan Hidrolisis Laktosa Untuk Produksi Susu Ultra High Temperature Rendah Laktosa. *JKTI*. **17**:147-162.

8

ENZIM KITINASE

- 8.1 Pengertian Enzim Kitinase
- 8.2 Isolasi Enzim Kitinase
- 8.3 Aplikasi Enzim Kitinase
- 8.4 Sifat Enzim Kitinase
- 8.5 Sumber Enzim Kitinase
- 8.6 Aktivitas Enzim Kitinase
- 8.7 Sumber Rujukan

8.1 Pengertian Enzim Kitinase

Kitin merupakan biopolimer yang banyak terdapat di alam yang tersusun atas β -1,4-N-asetil-D-glukosamin (GlcNac). Kitin menempati urutan terbesar kedua setelah selulosa dan banyak ditemukan pada berbagai organisme seperti bakteri, serangga, cendawan, tanaman dan hewan. Kitin terdapat sebagai komponen penyusun tubuh udang, kepiting, serangga, kerang, cumi-cumi, hewan artropoda lainnya, dan merupakan komponen dinding sel dari banyak fungi dan alga. Ukuran molekul kitin relatif besar dan kelarutan kitin rendah serta sulit diserap tubuh manusia, sehingga aplikasi kitin terbatas dan menyebabkan kitin menjadi sumber utama pencemaran senyawa organik (Pratiwi *et al.*, 2015).

Kitinase adalah enzim yang akan mengkatalisis pemecahan senyawa polimer kitin pada ikatan glikosidik β -1,4. Kitinase terdapat di berbagai organisme dan diklasifikasikan dalam famili 18, 19 dan 20 glikosida hidrolase. Enzim kitinase dihasilkan oleh bakteri, fungi,

tanaman, dan hewan. Enzim kitinase saat ini banyak digunakan sebagai agen bio kontrol karena dapat mendegradasi kitin menjadi produk yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam bidang kesehatan, pangan, industri dan lain-lain (Pratiwi *et al.*, 2015).

Enzim kitinase mampu menghidrolisa senyawa polimer kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer N-asetil glukosamin dengan menghidrolisis kitin secara acak pada ikatan glikosidik. Ada 3 jenis enzim kitinase yang dibedakan berdasarkan cara kerjanya dalam mendegradasi kitin, yaitu eksokitinase, endokitinase dan N-asetil-glukosaminidase. Eksokitinase memotong polimer kitin hanya dari ujung non reduksi. Endokitinase memotong polimer kitin secara acak dan menghasilkan dimer, trimer, tetramer, dan oligomer gula. N-asetil- glukosaminidase yang memutuskan diasetilkitobiosa dan menghasilkan N-asetil-glukosamin (Pratiwi *et al.*, 2015). Kitinase dikelompokkan menjadi 3 keluarga (*family*) glikosil hidrolase yaitu keluarga (*family*) 18, 19 dan 20. Kitinase yang dihasilkan organisme prokariotik dan eukariotik termasuk dalam golongan famili 18 sedangkan pada famili 19, enzim kitinase ditemukan pada bakteri Gram positif, *Streptomyces*, dan tanaman tingkat tinggi. Pada umumnya mekanisme hidrolisis enzim kitinase adalah *double- displacement retaining mechanism* dan *single-displacement inverting mechanism* (Pratiwi *et al.*, 2015).

Kitinase merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis kitin pada ikatan β -1,4-glikosidiknya dengan menghasilkan derivat-derivat kitin seperti oligomer kitin. Kitinase mempunyai banyak manfaat antara lain sebagai anti hama karena sifatnya yang dapat

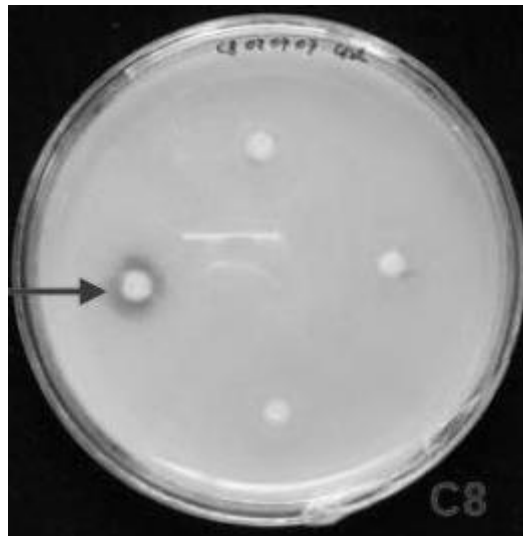
mematikan serangga (*entomopatogenisitas*), kitinase dari bakteri dilaporkan pula oleh Regev *et al.* (1996) bersinergi dengan endotoksin dari *B. thuringiensis* dalam menekan larva *Spodoptera littoralis* pada tebu. Hasil hidrolisis kitin oleh kitinase juga menghasilkan N-asetilglukosamin yang digunakan untuk pengawet, substrat untuk perbaikan jaringan dan reaksi antiinflamasi, meningkatkan kelembaban dan keelastisan kulit, penyembuhan luka, terapi pengobatan osteoarthritis (nyeri sendi) dan sebagai makanan suplemen. N-asetilglukosamin juga dapat dikonversi menjadi hexa-N-kitobiosa yaitu suatu oligosakarida yang memiliki aktivitas antitumor. Banyaknya manfaat enzim kitinase dan senyawa turunan kitin mengakibatkan meningkatnya kebutuhan enzim kitinase sehingga perlu dilakukan pengembangan produksi enzim kitinase dari sumber lokal yang melimpah di alam (Purkan *et al.*, 2016).

8.2 Isolasi Enzim Kitinase

Isolasi bakteri dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri tunggal. Bakteri penghasil kitinase dapat diperoleh dari sumbernya dengan ditumbuhkan dalam media yang mengandung kitin. Mikroba penghasil kitinase diisolasi dengan menggunakan metode pengenceran seri bertingkat (dari 10^{-2} hingga 10^{-7}). Sampel dari pengenceran seri di transfer ke media agar kitin dengan metode pour plate dan diinkubasi dengan suhu dan waktu tertentu. Skrining bakteri kitinolitik dilakukan untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas kitinase tinggi dengan cara ditumbuhkan pada media agar kitin, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu tertentu. Mikroorganisme kitinolitik ditandai dengan adanya zona bening yang muncul di sekitar

bakteri yang berarti bakteri tersebut telah berhasil mendegradasi media agar koloidal kitin. Koloidal kitin merupakan kitin yang dilarutkan dengan asam klorida pekat dan merupakan substrat yang sangat efektif untuk menentukan aktivitas kitinase bila dibandingkan dengan serbuk kitin (Pratiwi *et al.*, 2015).

Isolat bakteri yang telah diisolasi dan memiliki aktivitas kitinolitik selanjutnya diukur diameter zona bening untuk menentukan indeks kitinolitik. Ukuran diameter zona bening yang dihasilkan menunjukkan jumlah monomer N-asetil glukosamin yang terbentuk dari hasil pemecahan kitin oleh enzim kitinase. Jika semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin banyak enzim kitinase yang dihasilkan sehingga aktivitas kitinolitik dari isolat bakteri akan semakin tinggi. Isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik tinggi kemudian dipilih untuk memproduksi enzim. Penampakan zona bening seperti pada Gambar 8.1.



Gambar 8.1. Zona bening yang terbentuk setelah inkubasi 96 jam (Pratiwi *et al.*, 2015)

8.3 Aplikasi Enzim Kitinase

Secara umum, enzim kitinase dimanfaatkan sebagai agen biokontrol hama tanaman dan untuk pengolahan limbah industri yang mengandung kitin, seperti industri pembekuan udang, kerang, dan kepiting. Pabrik pembekuan udang menghasilkan limbah cangkang yang jika tidak didegradasi dapat menyebabkan pencemaran lingkungan karena meningkatkan BOD dan COD. Dengan adanya kitinase, proses penguraian kitin dapat berlangsung (Pratiwi et al., 2015).

Di bidang pertanian, kitinase berfungsi sebagai agen bio kontrol terhadap hama serangga dan fungi patogen yang memiliki komponen kitin pada dindingsel. Sebagai agen bio kontrol, enzim kitinase dan protease berperan dalam proses pembunuhan larva *Haemonchus contortus* dengan cara mendegradasi dan melisis dinding kulit larva cacing. Setelah larva tersebut mati, mikroba kitinolitik akan berkembang biak dan mengambil nutrisinya [40]. Kitinase yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* efektif menghidrolisis eksoskeleton *Bemisia tabaci* (*whitefly*) yang merupakan hama tanaman. Penggunaan enzim kitinase dilakukan dengan cara penyemprotan langsung pada daun dan buah-buahan. Terbukti pada tanaman strawberry yang menunjukkan tidak ada serangga atau jamur patogen. Enzim kitinase hasil isolasi dari bakteri tanah rizosfer yang telah diidentifikasi sebagai *Bacillus sp.* terbukti dapat berperan sebagai agen biokontrol jamur *Rhizoctonia solani* (Pratiwi et al., 2015)

Senyawa-senyawa hasil degradasi kitinase pada kitin membentuk senyawa turunan kitin seperti karboksimetil kitin, hidroksietil kitin dan etil kitin yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Dalam

bidang kedokteran senyawa turunan kitin dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan benang operasi yang mempunyai keunggulan dapat diserap dalam jaringan tubuh, tidak toksik dan dapat disimpan dalam waktu yang lama. Kitoheksosa dan kitoheptosa memperlihatkan aktivitas anti tumor. Monomer dari kitin yaitu N-Asetil-Dglukosamin dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, diantaranya dapat digunakan sebagai obat untuk mengontrol kadar gula dalam darah, sebagai suplemen, anti *inflamantory* dan dalam dunia kosmetik senyawa gula ini dapat membantu mengurangi hilangnya hiperpigmentasi karena N-asetil-D-glukosamin dapat membantu mengurangi aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam produksi melanin (Pratiwi *et al.*, 2015)

8.4 Sifat Enzim Kitinase

Kitinase mempunyai banyak manfaat antara lain sebagai antihama karena sifatnya yang dapat mematikan serangga (entomopatogenisitas). Banyaknya manfaat enzim kitinase dan senyawa turunan kitin mengakibatkan meningkatnya kebutuhan enzim kitinase sehingga perlu dilakukan pengembangan produksi enzim kitinase dari sumber lokal yang melimpah di alam serta harganya yang relatif murah (Purkan *et al.*, 2016).

Enzim kitinase mampu menghidrolisa senyawa polimer kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer N-asetil glukosamin dengan menghidrolisis kitin secara acak pada ikatan glikosidik. Ada 3 jenis enzim kitinase yang dibedakan berdasarkan cara kerjanya dalam mendegradasi kitin, yaitu eksokitinase, endokitinase dan N-asetil-glukosaminidase. Kitinase dikelompokkan menjadi 3 keluarga (*family*) glikosil hidrolase yaitu

keluarga (*family*) 18, 19 dan 20. Kitinase yang dihasilkan organisme prokariotik dan eukariotik termasuk dalam golongan famili 18 sedangkan pada famili 19, enzim kitinase ditemukan pada bakteri Gram positif, *Streptomyces*, dan tanaman tingkat tinggi. Kondisi pH dan suhu produksi enzim kitinase bervariasi. Pada pH 7 dan suhu 30°C, isolat *Serratia marcescens* memiliki aktivitas maksimal. Lingkungan suhu mikroba berpengaruh terhadap stabilitas enzim yang dihasilkan. Pada lingkungan biosfer yang mengandung banyak kitin, kemungkinan akan terdapat mikroorganisme penghasil kitinase (Pratiwi *et al.*, 2015).

8.5 Sumber Enzim Kitinase

Keberadaan atau sumber kitin di alam sangat melimpah dan dengan cepat terdegradasi karena adanya beberapa mikroba yang mempunyai enzim kitinase yang mampu mendegradasi kitin (Soeka, 2015). Hasil hidrolisis kitin oleh kitinase juga menghasilkan N-asetilglukosamin yang digunakan untuk pengawet, substrat untuk perbaikan jaringan dan reaksi anti inflamasi, meningkatkan kelembaban dan keelastisan kulit, penyembuhan luka, terapi pengobatan osteoarthritis (nyeri sendi) dan sebagai makanan suplemen (Purkan *et al.*, 2016).

Kitinase untuk asimilasi kitin sebagai sumber karbon dan nitrogennya. Keberadaan bakteri kitinolitik di lingkungan tanah, air, dan lingkungan di sekitar limbah dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim kitinase dengan cara isolasi dan skrining. Kelimpahan kitin di alam menempati urutan terbesar kedua setelah selulosa dan terdistribusi luas di lingkungan biosfer. Berbagai organisme kitinolitik dapat menghasilkan beragam jenis kitinase dengan karakteristik dan

spesifitas terhadap substrat yang bervariasi (Pratiwi *et al.*, 2015).

8.6 Aktivitas Enzim Kitinase

Aktivitas kitinase diuji dengan mengukur kadar gula amino sebagai produk hidrolisis kitin oleh kitinase. Konsentrasi N asetil gula amino diukur menggunakan metode kolorimetrik yang dimodifikasi. Senyawa *N*-asetil glukosamin (GlcNAc) digunakan sebagai standar untuk penghitungan aktivitas kitinase. Satu unit kitinase adalah banyaknya enzim yang dapat menghasilkan 1 μ mol *N*-asetil glukosamin dari substrat koloidal kitin per menit. Sebanyak 0,5 mL larutan enzim direaksikan dengan 0,5 mL substrat 1% koloidal kitin dengan pH 7 dan diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Reaksi enzimatik dihentikan dengan memasukkan campuran ke dalam air mendidih selama 5 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.160g selama 5 menit dan filtrat dipisahkan dari endapan. Sebanyak 250 μ L filtrat ditambah 50 μ L potasium tetraborat, dididihkan selama 3 menit dan didinginkan dengan segera. Ditambahkan 1,25 mL reagen 4- (dimetil amino) benzaldehida (DMAB), diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit dan OD dibaca dengan spektrofotometer pada λ 584 nm. Isolat dapat mendegradasi kitin, ada 6 isolat yaitu isolat dengan nomor KRC 1.16 D; KRC 1.23 D; KRC 4.5 D; KRC 4.15 D dan KRC 21D yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Isolat KRC 21D memiliki zona bening di sekitar koloni yang terbesar. Isolat KRC 21 D ini yang selanjutnya dipakai untuk penelitian. Zona bening di sekitar isolat KRC 21 D. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim Kitinase, Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim kitinase. Kitinase dari isolat

KRC 21.D diaktifkan oleh kation divalen CaCl_2 , ZnCl_2 , MnCl_2 , dan kation monovalen CoCl_2 , NaCl , sedangkan kation divalen HgCl_2 merupakan penghambat aktivitas enzim masing- masing pada konsentrasi 1 mM.

Zona bening terbentuk akibat dari aktivitas enzim kitinase yang terbentuk keluar sel memecah makromolekul kitin menjadi molekul yang lebih kecil. Aktivitas kitinase secara kualitatif ditentukan adanya zona bening di sekitar koloni isolat yang tumbuh pada medium agar kitin. Mikroba yang mampu memproduksi kitinase secara kualitatif setelah waktu inkubasi tertentu ditandai dengan adanya zona bening. Perubahan konsentrasi substrat, pH lingkungan, suhu dan waktu inkubasi yang berbeda akan mengakibatkan aktivitas enzim kitinase mengalami perubahan. Setiap enzim yang mempunyai pH dan suhu tertentu menyebabkan aktivitasnya mencapai keadaan optimum. Kondisi pH dan suhu yang optimum akan mendukung enzim kitinase dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. pH dan suhu yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim, menyebabkan fungsi dan aktivitas dari enzim tersebut berkurang. Aktivitas kitinase optimal didapat pada suhu 50°C dan pH 8,0 Faktor suhu minimum, maksimum dan optimum merupakan faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan semua mikroorganisme (Soeka, 2015).

Aktivitas kitinase ditentukan secara kolorimetri dengan alat spektrofotometer. Hasil pemecahan kitin yang berupa N-asetil glukosamin (GlcNAc) digunakan sebagai standar untuk gula reduksi. Aktivitas kitinase ditentukan berdasarkan kurva standar N-asetil glukosamin yang dibuat dengan mengukur absorbansi

dari campuran antara larutan N-asetil glukosamin (berkisar antara 0 hingga 500 μ l) dengan akuades (berkisar antara 500 hingga 0 μ l) dan 500 μ l reagen schale. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μ mol N-asetil-D-glukosamin per menit. Karakterisasi enzim kitinase telah banyak dilakukan. Karakterisasi enzim kitinase yang umum dilakukan antara lain spesifisitas substrat, penentuan suhu dan pH optimum, kestabilan enzim terhadap pH dan suhu. Setiap enzim memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi substrat dan spesifik terhadap substrat yang berbeda-beda. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh adanya pH dan suhu. pH mempengaruhi sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino yang menyebabkan perubahan daerah katalitik dan konformasi enzim (Pratiwi *et al.*, 2015).

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Kenaikan suhu akan meningkatkan energi kinetik sehingga tumbukan antar molekul akan semakin cepat. Semakin sering tumbukan terjadi, maka akan semakin mudah pembentukan kompleks enzim-substrat. Aktivitas kitinase juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti suplemen nutrisi yang ditambahkan, konsentrasi koloidal kitin, penambahan sumber karbon, penambahan sumber nitrogen, dan penggunaan detergen ekstraksi enzim dilakukan dengan cara sentrifugasi. Purifikasi atau pemurnian merupakan tahap yang penting untuk mendapatkan enzim kitinase yang berkualitas. Keberhasilan purifikasi dilihat dari tingkat kemurnian, rendemen, dan aktivitas spesifik. Semakin tinggi tingkat kemurnian enzim maka semakin tinggi pula aktivitas spesifik enzim (Pratiwi *et al.*, 2015).

Pemurnian dengan pengendapan menggunakan garam ammonium sulfat telah umum dilakukan. Penggunaan garam ammonium sulfat lebih banyak digunakan karena garam ini mempunyai kelarutan yang tinggi, pH moderat, harga relatif lebih murah, tidak bersifat toksik, dan tidak mempengaruhi enzim. Akan tetapi metode pemurnian dengan garam ammonium sulfat kurang spesifik bekerja terhadap enzim yang diinginkan, karena garam tersebut berfungsi mengendapkan protein (Pratiwi *et al.*, 2015).

8.7 Sumber Rujukan

- Pratiwi, R. S., T. E. Susanto, Y. A. K. Wardani & A. Sutrisno. 2015. Enzim Kitinase Dan Aplikasi Di Bidang Industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3(3)**: 878-887.
- Purkan, P., A. Baktir & A. R. Sayyidah. 2016. Produksi Enzim Kitinase Dari *Aspergillus niger* Menggunakan Limbah Cangkang Rajungan Sebagai Induser. *Jurnal Kimia Riset*. **1(1)**: 34-41.
- Soeka, Y. S. 2015. Karakterisasi Enzim Kitinase Dan Identifikasi Isolat Aktinomisetes KRC 21.D Berasal dari Kebun Raya Cibodas. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. **1(5)**: 1156-1161.

9

ENZIM MANANASE

- 9.1 Pengertian Enzim Mananase
- 9.2 Sumber Enzim Mananase
- 9.3 Aktivitas Enzim Mananase
- 9.4 Isolasi Enzim Mananase
- 9.5 Aplikasi Enzim Mananase
- 9.6 Sumber Rujukan

9.1 Pengertian Enzim Mananase

Manan merupakan salah satu bentuk polisakarida yang banyak ditemukan di alam dalam bentuk glukomanan dan galaktomanan.. Manan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang dapat diklasifikasikan menjadi 4 subfamili : manan, glukomanan, galaktomanan, galaktoglukomanan. Manan dapat dihidrolisis menjadi manosa. Enzim mananase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis substrat manan menjadi manooligosakarida dan sedikit manosa, glukosa dan galaktosa. Mananase adalah enzim yang mampu memecah substrat manan. Mananase termasuk kelompok enzim hidrolase yang berperan dalam mengkatalisis hidrolisis polimer. (Sigres & Sutrisno, 2015).

Mananase menghidrolisis ikatan β -1.4 (molekul polisakarida) antara manosa dan manosa. Pemecahan mengubah heteromanan yang melimpah menjadi manooligosakarida dan sedikit manosa, glukosa dan

galaktosa. Enzim mananase menghidrolisis β -1,4-D-manopirosil dalam rangka utama polimer manan sehingga dihasilkan rantai yang lebih pendek berupa manooligosakarida. Senyawa tersebut kemudian dihidrolisis oleh enzim β -manosidase dan α -galaktosidase menghasilkan manosa dan galaktosa (Sigres & Sutrisno, 2015). Enzim mananase meliputi endo- 1,4- β -manosidase atau 1,4- β -D mananase (EC3.2.1.78) merupakan enzim penting yang mendegradasi manan secara acak dengan memutus rantai sehingga menghasilkan β -1,4-manooligomer dan menghasilkan rantai akhir baru.

Mananase merupakan enzim yang berperan dalam menguraikan heteromanan menjadi manosa, glukosa, dan galaktosa. β -mananase (β -1,4-D manan manohidrolase, EC 3.2.1.78) menghidrolisis β -1,4-D manopirosil dalam rangka utama polimer manan yang kemudian menghasilkan rantai pendek manooligosakarida. Selanjutnya senyawa tersebut dihidrolisis oleh β -manosidase (β -manosidase, EC 3.2.1.25) dan α -galaktosidase (EC 3.2.1.22) menghasilkan manosa dan galaktosa. Manosa termasuk kedalam oligosakarida dari karbohidrat yang berperan sebagai probiotik (Seftiono, 2017).

9.2 Sumber Enzim Mananase

Enzim mananase dapat dihasilkan oleh sejumlah tanaman, bakteri, jamur dan moluska. Mikroorganisme tersebut dapat ditemui di tanah (tanah merupakan media penyimpanan terbaik sekaligus sumber yang tidak terbatas bagi mikroorganisme baik jamur maupun mikroba), pupuk kompos, dan perut hewan. Senyawa manan merupakan komponen utama dari endosperma kelapa sawit, kelapa, *locust bean gum* (*Ceratonia*

siliqua) biji kopi, akar *konjak* (*Amorphopallus konjak*) (Sigres & Sutrisno, 2015). *Trichoderma reesei* merupakan salah satu kapang yang mendegradasi polisakarida mannan dengan menghasilkan beberapa enzim, salah satunya adalah mannanase yang diperoleh pada substrat kopi (Ramalani, 2018).

Manan linear ditemukan pada *ivory nut* dan palm kernet oil (minyak inti kelapa sawit). Galaktomanan termasuk fraksi hemiselulosa utama pada kayu lunak. Galaktomanan dihasilkan oleh locust bean gum, tara gum, guar gum dan fenu greek gum dengan rasio galakto dan manosa yang bervariasi. Pemanfaatan enzim mananase asal mikroorganisme memiliki beberapa keuntungan diantaranya proses produksi enzim yang cepat, biaya produksi yang lebih murah dan ramah terhadap lingkungan. Mikroorganisme menghasilkan enzim mananase yang dapat menghidrolisis hemiselulosa berupa manan menjadi manooligosakarida. Manooligosakarida termasuk pangan fungsional karena berperan sebagai prebiotik bagi mikroflora usus (Seftiono, 2017). Mannanase alkali banyak dilaporkan diproduksi dari *Bacillus* dan *Streptomyces* (Tasia *et al.*, 2016).

Manan, galaktomanan, glukomanan (kelompok NSPs) merupakan komponen karbohidrat utama dalam BIS yang merupakan kendala pemanfaatan BIS untuk bahan pakan unggas. Selain difermentasi, cara lain untuk menurunkan komponen tersebut adalah dengan cara menambahkan enzim dalam ransum yang mengandung BIS. Enzim yang dapat ditambahkan ke dalam BIS adalah mananase, selulase, hemiselulase, xilanase). Enzim pendegradasi manan dapat bersumber dari kapang *Eupenicillium javanicum* (Pasaribu, 2018).

9.3 Aktivitas Enzim Mananase

Aktivitas enzim mannanase berbeda-beda tergantung dari sumbernya. Enzim ini dihasilkan dari berbagai sumber diantaranya tumbuhan, hewan, serta mikroorganisme (bakteri, kapang dan khamir). Umumnya mannanase diperoleh dari mikroba karena dapat dihasilkan dalam jumlah banyak bisa berupa enzim intraseluler serta lebih mudah dalam melakukan proses isolasi. Penentuan waktu produksi enzim optimum dilihat dari nilai aktivitas manannase tertinggi (Seftiono, 2017). Aktivitas mananase bervariasi antara 0.04 U/mg sampai 252.3 U/mg, dan berat molekul β -mannanase antara 39 kDa sampai 116 kDa. Setiap enzim memerlukan ion logam untuk aktivitasnya. Ion logam yang diperlukan oleh setiap enzim berbeda-beda. Ion logam dapat menjadi kofaktor ataupun inhibitor dari enzim. Aktivitas enzim mananase dari isolat *Bacillus stearothermophilus* meningkat dengan penambahan CoCl_2 serta dihambat dengan penambahan MgCl_2 , CaCl_2 , ZnCl_2 , FeSO_4 , dan CuSO_4 . Aktivitas enzim mananase dari isolat *Aspergillus niger* BL5 meningkat dengan penambahan EDTA, MgCl_2 , dan CaCl_2 serta dihambat dengan penambahan CuCl_2 dan SDS. Aktivitas enzim mananase dari isolat *Bacillus subtilis* WY34 meningkat dengan penambahan Fe dan Co serta dihambat dengan penambahan Mg, Ag, Zn, Na (Sigres & Sutrisno, 2015).

Ketika membandingkan kedua jenis mikroorganisme dalam memproduksi mananase, bahwa *A. niger* lebih baik dibandingkan dengan *S. rolfisii* dalam menghasilkan mananase. Aktivitas mananase dari enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme yang berbeda sangat bervariasi. Enzim BS4 dari *E.javanicum* memiliki aktivitas mananase yang tinggi (460,92 U/ml)

sedangkan enzim yang diproduksi oleh *Streptomyces cyaeus* dan *Streptomyces violascens* BF3.10 memiliki aktivitas mananase masing-masing 1.706 dan 16,38 (Pasaribu, 2018).

9.4 Isolasi Enzim Mananase

Aktivitas mananase dari 20 isolat yang ada di Indonesia menunjukkan bahwa Isolat SM-1.4 (*Bacillus* sp) memiliki aktivitas tertinggi yaitu 119,44 U/mL dan aktivitas spesifik 19.55 U/mg dengan waktu inkubasi 48 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kedepan isolat ini potensial sebagai penghasil mananase. Terlihat dari nilai aktivitas spesifik isolat ini dari 1 milligram enzim (protein) menghasilkan aktivitas 19.55 unit paling tinggi dibanding dengan isolate yang lain. Aktivitas spesifik akan sebanding dengan tingkat kemurnian enzim (Seftiono, 2017). Produksi enzim mananase dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media selektif yang mengandung manan kemudian diinkubasi pada pH, suhu dan waktu tertentu. Isolasi enzim dilakukan dengan cara sentrifugasi pada suhu 40C untuk menghindari denaturasi enzim. Supernatan yang didapatkan merupakan enzim mananase kasar. Faktor waktu, pH, suhu perlu dikontrol untuk memaksimalkan produksi enzim mananase. Perlakuan lain seperti agitasi, aerasi, dan jenis substrat juga mempengaruhi dalam produksi enzim mananase (Sigres & Sutrisno, 2015).

Isolasi mikroorganisme dilakukan untuk mendapatkan isolat tunggal mananolitik. Isolat mananolitik diperoleh dari sumber isolasi dengan menumbuhkan sampel dalam media selektif yang mengandung substrat manan. Sampel dengan media selektif kemudian diinkubasikan selama 2-3 hari pada

suhu tertentu. Isolat tunggal mananolitik diperoleh dengan menggunakan metode spread dan streak plate. Isolat mananolitik ditentukan dengan pengamatan zona bening. Adanya zona bening disekitar koloni mikroba menandakan bahwa terjadi proses hidrolisis substrat manan oleh enzim mananase yang dihasilkan koloni tersebut (Sigres & Sutrisno, 2015).

9.5 Aplikasi Enzim Mananase

Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Setiap enzim memiliki aktivitas optimal dan kestabilan pada suhu tertentu. Pada umumnya mikroba yang bersifat mesofil akan menghasilkan enzim yang bersifat mesofil juga [38]. Aktivitas enzim meningkat selaras dengan kenaikan suhu sampai tercapai suhu optimalnya (Sigres & Sutrisno, 2015). Enzim xilanase dan mananase banyak diaplikasikan dalam kegiatan industri, seperti untuk kebutuhan pakan, pangan, energi, hingga pembuatan kertas. Enzim tersebut berpotensi untuk memproduksi pangan fungsional, manooligosakarida. Potensi mananase alkali sangat luas, seperti dimanfaatkan oleh industri deterjen dan kertas karena sebagian besar proses di industry tersebut dilakukan di pH tinggi. Enzim mananase komersial, *Pyrolase 160* dan *Pyrolase 200*, merupakan mananase yang stabil di suhu tinggi hingga 93 °C dan dapat dimanfaatkan oleh industri minyak dan gas (Tasia *et al.*, 2016).

Enzim mananase dapat diaplikasikan pada industri pakan, pangan maupun non-pangan. Enzim mananase dengan aktivitas optimal pada suhu mesofil dapat diaplikasikan pada industri pkan dan pangan. Enzim mananase yang mempunyai kestabilan pada suhu tinggi (termofil) dapat diaplikasikan pada industri non-

pangan. Hidrolisis substrat manan dengan enzim mananase dapat menghasilkan produk yang bermanfaat. Monosakarida berupa manosa dapat digunakan untuk produksi gula manitol. Oligosakarida berupa manooligosakarida yang berpotensi sebagai prebiotik. Enzim mananase juga dapat diaplikasikan pada sektor farmasi. Penelitian terbaru menemukan bahwa hidrolisis produk glukomanan dengan enzim mananase yang memiliki berat molekul berbeda mempunyai fungsi biologis lain. Fungsinya seperti anti tumor, immunoregulasi, dan *cytothesis* (Sigres & Sutrisno, 2015).

Pada industri pangan, enzim mananase dapat digunakan untuk produksi prebiotik. Prebiotik adalah bahan makanan yang tidak dapat dicerna (oligosakarida) dan mempunyai dampak menguntungkan bagi tumbuh dan aktifnya mikroba probiotik dalam usus. Enzim mananase dapat dimanfaatkan sebagai campuran dalam pakan ternak (unggas dan sapi) sehingga meningkatkan nilai gizi dan konversi bahan pakan kaya manan seperti bungkil kelapa. Enzim mananase alkali dan termofilik dari *Bacillus* sp strain JAMB-750 dan *Bacillus subtilis* WY34 dapat diaplikasikan pada industri deterjen dan sebagai *biobleaching agent* pada industri *pulp* dan kertas (Sigres & Sutrisno, 2015).

Mananase memiliki berbagai fungsi serta aplikasi industri termasuk di bidang teknologi pangan. Penerapannya antara lain dalam biokonversi biomassa menjadi manooligosakarida, peningkatan daya cerna pakan pada ternak, proses pengolahan biji kopi. Enzim ini dapat menghasilkan produk berupa manooligosakarida yang termasuk oligosakarida. Oligosakarida berperan sebagai pangan fungsional karena merangsang pertumbuhan mikroflora pada saluran pencernaan

seperti *bifidobacterium* (bakteri bifidus) dan *lactobacillus* sehingga menjaga keseimbangan mikloflora dalam inang. Selain itu oligosakarida berperan dalam mengatur regulasi kadar gula darah dan kolesterol serta meningkatkan penyerapan mineral (Seftiono, 2017).

Industri pangan yang telah mengaplikasikan enzim mananase adalah perusahaan Ajinomoto General foods dengan mengembangkan paten bagi produk kopi yang mengandung manooligosakarida. Manooligosakarida ini diperoleh dari penguraian manan yang ada pada ampas kopi. Manooligosakarida yang berasal dari biji kopi efektif dalam menurunkan berat badan. Manooligosakarida dari biji kopi yang masuk kedalam saluran pencernaan akan menuju usus besar tanpa dicerna terlebih dahulu. Manooligosakarida tersebut pada usus besar akan dicerna menjadi sakarida rantai pendek yang bermanfaat bagi pertumbuhan bakteri positif. Selain itu adanya manooligosakarida diduga berperan meningkatkan sistem kekebalan tubuh serta menurunkan peluang terikatnya bakteri pathogen seperti *Salmonella enteriditis* dan *E.coli* pada sel hal ini karena strukturnya mirip dengan sakarida yang ada dipermukaan sel makhluk hidup. Potensi manooligosakarida kedepannya sebagai pangan fungsional dalam industri pangan. Aplikasinya pada berbagai produk seperti cookies, coklat, permen, minuman ringan dan sebagainya (Seftiono, 2017).

9.6 Sumber Rujukan

Aryulina, D., C. Muslim, S. Manaf,& E.W. Winarni. 2006. *Biologi SMA dan MA untuk kelas XII*. Erlangga, Jakarta.

- Pasaribu, T. 2018. Upaya Meningkatkan Kualitas Bungkil Inti Sawit melalui Teknologi Fermentasi dan Penambahan Enzim untuk Unggas. *Jurnal Wartzooa*. **28** : 119-128.
- Ramalani, A. 2018. Fermentasi Limbah Kulit Kopi Menggunakan *Trichoderma Ressei* Terhadap Kualitas Nutrisi Pakan Ternak. *Jurnal Ilmiah Peternakan*.**6**: 77-83
- Seftiono, H. 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Mananase Dari Berbagai Mikroorganisme Di Indonesia Dan Peranannya Dalam Bidang Pangan: Kajian Pustaka. *Agrointek* .**11** : 14-20.
- Sigres, D.P. & A.Sutrisno. 2015. Enzim Mananase Dan Aplikasi Di Bidang Industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3** : 899-908.
- Tasia, W., R. Zuraida,& Yopi. 2016. Isolasi Bakteri Pendegradasi Xilan Dan Manan Dari Perairan Indonesia. *JPB Kelautan dan Perikanan*. **11**: 101-114.

10

ENZIM INULINASE

- 10.1 Pengertian Enzim Inulin
- 10.2 Pengertian Enzim Inulinase
- 10.3 Peran Enzim Inulinase pada Makhluk Hidup
- 10.4 Hidrolisis dari Enzim Inulinase
- 10.5 Hasil Penelitian dari Enzim Inulinase
- 10.6 Sumber Enzim Inulinase
- 10.7 Sumber Rujukan

10.1 Pengertian Inulin

Kebanyakan enzim yang akhir-akhir ini digunakan dalam industri makanan dan farmasi adalah enzim mikrobial dan pemanfaatan mikroorganisme untuk memproduksi enzim semakin lebih intensif. Produksi fruktosa dari inulin menggunakan inulinase memerlukan satu tahapan reaksi saja dengan rendemen 95%, sedangkan produksi fruktosa dari pati memerlukan tiga tahap reaksi enzimatik dengan rendemen 45%. Hidrolisis inulin secara kimiawi memerlukan biaya tinggi dan menghasilkan senyawa difruktosa anhidrat yang rasanya pahit.

Tanaman yang mengandung inulin, seperti tanaman bengkoang dan family *Compositae* yang lain. Namun dalam memproduksi enzim inulinase, para peneliti lebih banyak memanfaatkan mikroorganisme penghasil inulinase karena pertumbuhan mikroorganisme relatif cepat sehingga enzim yang dihasilkan lebih banyak. Mikroorganisme hanya

menggunakan satu tahap reaksi hidrolisis enzimatis inulin yang menghasilkan 95% fruktosa murni (Kaur *et al.*, 2002). Salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan inulinase yaitu khamir *Pichia manshurica* DUCC-Y015. *Pichia manshurica* DUCC-Y015 merupakan khamir indigenous yang berhasil diisolasi dari umbi dahlia dan mampu menghasilkan enzim inulinase sebesar 0,683 IU.

Inulin merupakan polifruktan yaitu polimer fruktosa rantai linier dengan ikatan β -2,1-fruktofuktanosidik dengan satu unit terminal glukosa di ujung dengan panjang rantai polisakarida ini kurang lebih 25-35 unit fruktosa. Inulin terdiri dari atas molekul fruktosa yang terpolimerisasi dan terdapat sebagai cadangan makanan pada sejumlah tumbuhan seperti Compositae (misal umbi dahlia). Inulin tidak dapat larut dalam air dingin tetapi suhu 50°C dapat melarutkan 50% inulin. Enzim sebagai produk sel hanya dapat disintesis jika sel mempunyai gen untuk enzim tersebut. Suatu organisme harus mempunyai gen struktural untuk menentukan sintesis struktur enzim dalam hal urutan asam-asam aminonya, yang diperlukan untuk kehidupannya. Inulin merupakan polisakarida yang dibangun oleh unit-unit monomer fruktosa melalui ikatan β -2-1-fruktofuranosida yang diawali oleh satu molekul glukosa. Karbohidrat ini dihasilkan oleh tanaman jenis compositae seperti *Chicory*, *Jerusalem artichoke* dan dahlia. Polifruktosa dengan derajat polimerisasi 30 keatas disebut dengan inulin.

10.2 Pengertian Enzim Inulinase

Enzim adalah biokatalis yang dalam jumlah sedikit mempunyai kemampuan untuk mempercepat berlangsungnya reaksi kimiawi dan enzim tersebut tak

mengalami perubahan bentuk. Katalis ini bersifat spesifik, artinya suatu katalis tertentu akan berfungsi pada suatu jenis reaksi tertentu saja. Enzim sebagai produk sel hanya dapat disintesis jika sel mempunyai gen untuk enzim tersebut. Suatu organisme harus mempunyai gen struktural untuk menentukan sintesis struktur enzim dalam hal urutan asam-asam aminonya, yang diperlukan untuk kehidupannya (Wijanarka *et al.*, 2014).

Inulinase (E.C.3.2.1.7.) merupakan enzim hidrolase yang digolongkan sebagai 2,1- β -fructan-fructanohidrolase yang mampu menghidrolisis molekul inulin menjadi sejumlah besar fruktosa dan sedikit glukosa dengan memotong unit fruktosa dari molekul inulin pada posisi terminal β -2,1 (Wijanarka *et al.*, 2014). Inulinase adalah enzim yang menghidrolisis inulin menjadi fruktosa atau frukto-oligosakarida. Enzim ini dapat dihasilkan oleh beberapa jenis tumbuhan maupun mikroorganisme. Untuk mengisolasi inulinase dalam jumlah yang cukup dari tumbuhan, cukup sulit. Oleh sebab itu, kajian mengenai inulinase mikrobial sangat menarik dan menjadi perhatian banyak peneliti (Saryono *et al.*, 2016).

Enzim inulinase (R-fruktosidase) bekerja dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal α -2,1 dan digolongkan sebagai 2,1- α -D-frukto-fruktanohidrolase. Kemampuan ini berperan dalam menghidrolisis inulin dari umbi dahlia untuk memperoleh fruktosa atau fruktooligosakarida (FOS) sebagai serat inulin baik SDF (Soluble Dietary Fiber/serat larut air) maupun sebagai IDF (Insoluble Dietary Fiber/serat tak larut air) untuk anti kolesterol. Enzim inulinase yang diperoleh dari tanaman (*Chycory*, *Jerusalem*, *Artichoke* dan Dahlia) kurang potensial

dibandingkan dengan enzim inulinase yang dihasilkan dari mikrobia (kapang, khamir dan bakteri).

10.3 Peran Enzim Inulinase pada Makhluk Hidup

Dapat mengetahui aktivitas inulinase *Pichia manshurica* dan *Fusan F4* pada fermentasi batch dengan umbi dahlia sebagai substrat, *Fusan F4* mampu meningkatkan aktivitas inulinase dibandingkan dengan *Pichia manshurica* serta untuk mengetahui kinetika kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) dan waktu generasi (g) *Pichia manshurica* dan *Fusan F4*.

10.4 Hidrolisis dari Enzim Inulinase

Hidrolisis inulin menjadi fruktosa dapat dilakukan pada kondisi asam pada pH 1-2 dengan suhu 80°C - 100°C, namun hasil yang diperoleh berkualitas rendah karena akan terbentuk fraksi yang berwarna gelap dan hasil samping yang tak diinginkan seperti difruktosa anhidrat. Hidrolisis menggunakan enzim inulinase dapat menghindari adanya kerugian tersebut. Produksi fruktosa dari bahan berpati lainnya memerlukan 3 macam enzim yaitu amylase, amilogluksidase, dan glukosa isomerase (Wijanarka *et al.*, 2014). Enzim inulinase (R-fruktosidase) bekerja dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal 0-2,1 dan digolongkan sebagai 2,1-8-D-frukto-fruktanohidrolase (EC 3.2.1.7)). Kemampuan ini berperan dalam menghidrolisis inulin dari tanaman untuk memperoleh fruktosa atau fruktooligosakarida (FOS) sebagai serat inulin baik SDF (Soluble Dietary Fiber/serat larut air) maupun sebagai IDF (Insoluble Dietary Fiber/serat tak larut air) untuk anti kolesterol

(Susilowati, 2013).

Hidrolisis inulin menggunakan enzim sejumlah suspensi inulin (A) dilakukan pengaturan pH (5) selanjutnya dibubuhkan enzim inulinase kasar *Acremonium sp-CBS3* (24% v/b inulin) dan selanjutnya dipanaskan dalam shacker disertai agitasi pada kecepatan putar 160 rpm selama 120 jam suhu 30°C sehingga diperoleh hidrolisat inulin (B). Pemisahan dan Analisis SDF dan IDF Hidrolisat inulin diisikan dalam sistem sel MF berpengaduk menggunakan membran MF 0,15 µm berkapasitas 180 mL, sistem dioperasikan dengan kecepatan putar pengaduk 300 rpm dan tekanan 40 psia selama 30 menit dengan mengalirkan gas nitrogen. Permeat/ekstrak yang lolos ditampung sebagai SDF, sedangkan retentat/pekatan sebagai IDF untuk analisis dilakukan dari retentat/pekatan dan permeat/ekstrak sebagian di presipitasi dengan etanol melalui cara melarutkan dalam 4 volume etanol 95 %, disaring, dicuci dengan etanol 70 % sebanyak 3 kali, etanol 95 % sebanyak 2 kali dan aseton sebanyak 2 kali. Komponen tercuci selanjutnya dikeringkan pada 105 °C selama 2 – 3 jam guna memperoleh SDF dan IDF murni. Perlakuan yang sama dilakukan dengan bahan suspensi inulin hasil ekstraksi secara kimia. Permeat/ekstrak yang lain digunakan sebagai contoh untuk identifikasi oligomer hidrolisat melalui LCMS (Susilowati *et al.*, 2015).

10.5 Hasil Penelitian dari Enzim Inulinase

Adanya inulin dalam medium produksi cair dapat menginduksi proses pembentukan enzim inulinase oleh fusan F1. Sehingga dengan demikian proses pembentukan enzim inulinase dapat digolongkan sebagai enzim induktif. Hal ini sesuai dengan bahwa

inulin merupakan induser dalam sintesis inulinase dan , bersifat adaptif. Inulinase disintesis selama terjadi pertumbuhan khamir dan mencapai maksimum pada fase stasioner Inulinase yang terdapat pada kultur cair disebut sebagai inulinase supernatan dan bersifat termotoleran Inulinase merupakan hasil dari metabolit primer dan bersifat *growth asosiated*. Pada tahap ini dilakukan pengukuran kecepatan pertumbuhan specific (μ) dan waktu generasi. Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa fusan F1 mampu menghasilkan produksi inulinase lebih tinggi dari pada kedua parentalnya yaitu *P. manshurica* dan *Rh. paludigenum*. Hal ini diduga karena adanya proses akumulatif dari kedua (Wijanarka *et al.*, 2014).Tampak bahwa jenis media dan kultur kapang cenderung berpengaruh terhadap aktifitas inulinase. Aktifitas inulinase terbaik pada media A dicapai oleh kultur kapang *Scopulariopsis* sp-CBS1 (0,0872 U/mL), diikuti dengan *Acremonium* sp- CBS3 (0,0132U/mL), *Aspergillus* sp-CBS3 (0,0127 U/mL) dan kelas *Deuteromycetes*-CBS4(0,0095 U/mL). Penggunaan media A yang didominasi oleh komponen $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ (0,5%) pada pH 6, selain dari $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (0,05%) dan FeSO_4 (0,015%), dengan sumber carbon inulin komersial 1% merupakan media dengan unsur N dominan sebagai sebagai sumber protein, dengan kata lain diketahui bahwa *Scopulariopsis* sp-CBS1 lebih memerlukan sumber protein untuk metabolisme pertumbuhannya sehingga dihasilkan aktifitas inulinase terbaik (Susilowati, 2013).

Berdasarkan intensitas dan berat molekul. Suspensi inulin A hasil ekstraksi inulin secara kimia menghasilkan 1 peak yang mengandung 17 oligomer yang didominasi oleh oligomer dengan berat molekul 181,27 Da dengan intensitas 100%, sedangkan hidrolisat

inulin B yang dihasilkan melalui proses hidrolisis suspensi inulin A menggunakan enzim inulinase kasar *Acremonium sp-CBS³* menghasilkan oligomer yang lebih beragam. Dihasilkan 5 peak sebagai T 1,9, T 2,4, T 2,6, T 3,1 dan T 3,4 dengan intensitas berturut-turut sebesar 30, 100, 90, 95 dan 78%, masing-masing didominasi oleh oligomer dengan berat molekul berturut-turut 185,99 Da (30%), 202,04 Da (100%), 174,11 Da (90%), 174,11 Da (95%) dan 174,07 Da (78%). Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisat inulin B menghasilkan oligomer dominan dengan berat molekul 174,11 Da (3 peak sebagai T2,6, T 3,1 dan T 3,4), lebih banyak dibandingkan dengan oligomer berberat molekul 185,99 Da (1 peak) dan 202,04 Da (1 peak). Secara keseluruhan dapat diketahui bahwa proses hidrolisis enzimatik meningkatkan sifat fungsional serat inulin sebagai FOS oleh karena menghasilkan oligomer yang bervariasi dengan berat molekul yang lebih rendah dibandingkan tanpa proses hidrolisis (Susilowati *et al.*, 2015).

10.6 Sumber Enzim Inulinase

Enzim inulinase banyak ditemukan di mikroorganisme karna pertumbuhan mikroorganisme relative cepat sehingga enzim yang dihasilkan lebih banyak. Mikroorganismenya hanya menggunakan satu tahap reaksi hidrolisis enzimatik inulin yang menghasilkan 95% fruktosa murni salah satunya yaitu, khamir *Pichia manshurica* DUCC-YO15 atau ditanaman yang mengandung insulin (Rofiqoh *et al.*, 2017).

10.7 Sumber Rujukan

- Arbianto, P. 1993. *Biokimia Konsep-Konsep Dasar*. DEPDIKBUD, DIKTI, Proyek Pendidikan Tenaga Akademika. Jakarta.
- Rofiqoh, A., Wijanarka., & S. Purwantisari. 2017. Produksi Enzim Inulinase *Pichia Manshurica* DUCC-Y015 Dengan Penambahan Substrat Tepung Bengkoang. *Jurnal Biologi*. **6** (4) : 62-70.
- Saryono, Fitriani., & R.U.M.S, Soedjanaatmadja. 2016. Beberapa Mikroorganisme Yang Menghasilkan Enzim Inulinase, Isolasi Dan Karakterisasi Enzim Dari *Aspergillus Flavus* Gmn 11.2 Galur Lokal. *Chimica Et Natura Acta*. **4** (3) : 165-174.
- Susilowati, A. 2013. Alternatif Enzim Inulinase Dari Kapang Endofit Hasil Isolasi Kulit Umbi Dahlia Merah (*Dahlia spp*) Lokal Dan Aplikasinya Sebagai Sumber Enzim Enulinase Untuk Serat Inulin. *Prosiding SNST Ke-4*. ISBN 978-602-99334-2-0 : 34-42.
- Wijanarka., E. S. Soetarto., K. Dewi., & A. Indrianto. 2013. Aktivitas Inulin Oleh *Pichia Manshurica* Dan Fusan F4 Pada Fermentasi Batch Dengan Umbi Dahlia (*Dahlia sp*) Sebagai Substrat. *Reaktor*. **14** (3) : 187-192.
- Wijanarka., E. S. Soetarto., K. Dewi., & A. Indrianto. 2014. Kemampuan Fusan F1 Dalam Memproduksi Inulinase. *Bioma*. **16** (2) : 114-118.

11

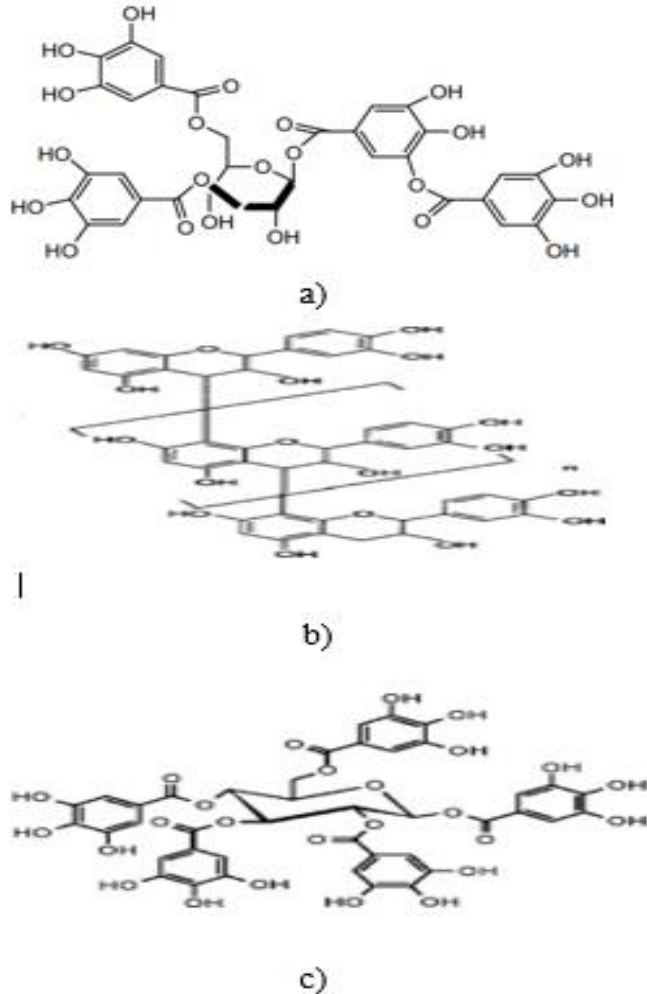
ENZIM TANASE

- 11.1 Pengertian Tannin dan Enzim Tanase
- 11.2 Sifat Enzim Tanase
- 11.3 Sumber Enzim Tanase
- 11.4 Aktivitas Enzim Tanase
- 11.5 Isolasi, Pemurnian, dan Karakterisasi Enzim Tanase
- 11.6 Aplikasi Enzim Tanase
- 11.7 Sumber Rujukan

11.1 Pengertian Tannin dan Enzim Tanase

Enzim adalah suatu kelompok protein yang menjalankan dan mengatur perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologi. Kemampuan suatu enzim untuk mengkatalisis suatu reaksi merupakan hal yang spesifik. Sebagian besar enzim hanya dapat mempengaruhi substrat tunggal. Enzim tanase merupakan enzim tanin hasil hidrolase yang dapat mengkatalis reaksi pemutusan ikatan ester pada tanin terhidrolisis membentuk asam galat dan glukosa. Tanin merupakan senyawa polifenol yang rentan terhadap panas. Tanin biasanya lebih banyak terdapat dalam tanaman. Tanin merupakan metabolit sekunder yang memiliki berat molekul 500- 3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat. Tanin juga merupakan anti nutrisi karena dapat berikatan dengan protein membentuk senyawa

kompleks yang tidak larut. Hal ini dapat mengurangi daya cerna protein dan apabila berikatan dengan enzim yang dihasilkan oleh sistem pencernaan, maka aktivitas enzim juga akan menurun. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi seperti pada Gambar 11.



Gambar 11. Senyawa tannin, a) Tannin, b) tannin terhidrolisis, c) tannin terkondensasi

Tanin terhidrolisis merupakan polimer *gallic* dan *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa *catechin* dan *gallocatechin*. Tanin dapat berinteraksi dengan protein membentuk tiga ikatan yaitu ikatan hidrogen, ikatan ion, dan ikatan kovalen. Enzim ini dapat diproduksi oleh beberapa mikroorganisme misalnya pada genus *Aspergillus* dan *Penicillium* (Hidayah, 2016).

11.2 Sifat Enzim Tanase

Enzim merupakan katalis penting yang dijumpai pada semua benda hidup. Penggunaannya telah banyak dimanfaatkan dalam bidang industri baik itu industri pangan maupun obat-obatan. Tanase merupakan glikoprotein dengan bobot molekul berkisar antara 165-310 kDa. Sifat-sifat enzim tanase antara lain.

1. Kerja enzim bersifat spesifik, enzim tanase dapat mengkatalis reaksi pemutusan ikatan ester pada tanin terhidrolisis membentuk asam galat dan glukosa.
2. Aktif pada pH 5,0-6,0 dengan suhu 30-40⁰C. Pada suhu 60⁰C dan pH 3,5-8 tanase masih tetap stabil.
3. Dapat diisolasi dari jamur, bakteri maupun yeast.
4. Tanase memiliki kemampuan mengkatalis reaksi hidrolisis tanin terkondensasi untuk menghasilkan senyawa flavonoid.
5. Tidak dapat mengkatalis reaksi pemutusan heksahidroksifenil.
6. Mampu memutuskan ikatan galoil pada tanin terhidrolisis untuk menghasilkan asam galat dan

glukosa sehingga mampu menurunkan kandungan tanin.

7. Enzim tanase tidak memerlukan pH dan temperatur yang tinggi. Missal hasil analisis vitamin C, protein dan pH tidak mengalami perubahan pada sirup buah yang diberi perlakuan dengan enzim tanase.
8. Aktivitas enzim tanase dapat dihasilkan setelah melalui fraksinasi amonium sulfat.

11.3 Sumber Enzim Tanase

Secara umum enzim dihasilkan dari tiga sumber yaitu tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Sejumlah mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan khamir diketahui dapat memproduksi tanase. enzim yang berasal dari mikroba lebih murah dan terdapat dalam jumlah yang banyak serta mudah dikembangkan dibandingkan enzim yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Enzim mikroba juga bersifat lebih stabil dan prosedur untuk menghasilkan enzim tersebut lebih aman dan mudah. Selain itu, jaringan hewan dan tumbuhan mengandung beberapa materi yang berbahaya seperti senyawa fenol yang dapat bertindak sebagai inhibitor enzim. Tabel 11.1 menunjukkan beberapa bakteri, jamur dan yeast yang dapat menghasilkan tanase.

Tabel 11.1 Bakteri, jamur, dan yeast penghasil enzim tanase.

Bakteri	Jamur	Yeast
<i>Achromobacter sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida sp.</i>
<i>Bacilluspumilis</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Pichia spp.</i>
<i>Bacilluspolymyxa</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Corynebacterium sp .</i>	<i>Aspergillus japonicus</i>	
<i>Klebsiellaplanticola</i>	<i>Aspergillus foetid us</i>	
<i>Pseudomonassolanacearum</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	
<i>Selenomonasruminatium</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
<i>Bacilluslicheniformis</i>	<i>Aspergillus aureus</i>	
<i>Lactobacillusplancarum</i>	<i>Aspergillus awamori</i>	
<i>Lactobacilluspentosus</i>	<i>Aspergillus fischeri</i>	
<i>Lactobacillusparaplantarum</i>	<i>Aspergillus rugulosus</i>	
	<i>Aspergillus terreus</i>	
	<i>Penicillium glabrum</i>	
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	
	<i>Penicillium digitatum</i>	
	<i>Penicillium arellanum</i>	
	<i>Penicillium charlesii</i>	
	<i>Penicillium citrinium</i>	
	<i>Cryphonectria parasitica</i>	
	<i>Fusarium solani</i>	
	<i>Fusarium oxysporium</i>	
	<i>Trichoderma aviride</i>	
	<i>Trichoderma hamatum</i>	
	<i>Trichoderma aharzianum</i>	
	<i>Helicostylum sp .</i>	

(Anwar, 2013).

11.4 Aktivitas Enzim Tanase

Tanase memiliki dua aktivitas yang terpisah yaitu aktivitas esterase dan dehidrolase. Aktivitas esterase adalah kemampuan tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis galoil ester yang terikat pada molekul glukosa atau alkil. Sedangkan aktivitas dehidrolase adalah aktivitas tanase untuk mengkatalis reaksi hidrolisis

ikatan antara dua residu galoil. Tanase secara khusus memutuskan ikatan galoil pada tanin terhidrolisis untuk menghasilkan asam galat dan glukosa, tetapi tidak dapat mengkatalis reaksi pemutusan *heksahidroksifenil* (Anwar, 2013). Aktivitas tanase dapat dihambat oleh adanya ion-ion logam seperti Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Mg^{2+} tetapi aktivitas dapat meningkat dengan kehadiran ion kalium (K^+). Senyawa-senyawa seperti O-fenantrain, EDTA, 2-merkaptotanol, sodium tioglikolat, magnesium sulfat, kalsium klorida dan magnesium klorida dapat menginaktifkan tanase.

11.5 **Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Tanase**

Isolasi adalah mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam dan menemukannya dalam suatu media buata. Prinsip dari isolasi adalah memisahkan satu jenis spesies mikroorganisme dengan yang lainnya yang berasal dari campuran bermacam-macam spesies. Hal tersebut dilakukan dengan menumbuhkannya pada suatu medium hingga membentuk suatu koloni sel yang disebut dengan biakan campuran, kemudian dimurnikan hingga didapat mikroorganisme yang ingin diisolasi atau biakan murni.

Produksi enzim oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh komposisi dan kondisi fermentasinya. Terdapat dua jenis fermentasi untuk produksi enzim yaitu fermentasi media padat dan fermentasi media cair. Fermentasi media padat ditandai dengan tidak adanya air bebas dalam sistem tersebut sedangkan pada fermentasi media cair digunakan media cair yang substratnya terlarut atau terdispersi dalam cairan. Nutrisi utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan beberapa mineral.

Sumber karbon yang biasanya digunakan pada produksi tanase adalah glukosa dan pati dengan tanin atau asam galat sebagai induser. Komposisi media untuk produksi tanase juga bervariasi tergantung jenis fermentasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media padat untuk produksi tanase lebih baik dibandingkan media cair. Penggunaan fermentasi media padat dapat memberikan pemasukan oksigen sebesar 75%. Pemasukan oksigen yang besar sebanding dengan pembentukan aerial miselium yang banyak. Aerial miselium yang banyak meningkatkan produksi enzim hidrolitik dan stabilitas produk yang tinggi sehingga mempengaruhi represi katabolik yang lebih rendah akan menyebabkan produksi enzim tanase menjadi tinggi.

Prosedur untuk produksi tanase berdasarkan penelitian sebelumnya dilakukan menggunakan kapang *Aspergillus niger* yang diisolasi dari kulit buah kakao dengan medium padat dan medium cair. Komposisi media padat menggunakan sumber karbon utama yaitu tepung gandum dan medium Czapeck (agar) sebagai larutan garamnya. Sedangkan untuk media cair, sumber karbon yang digunakan ialah glukosa dan media Czapeck (agar) sebagai larutan garamnya. Adapun secara umum tahapan isolasi enzim tanase sebagai berikut :

Pembuatan media tumbuh enzim, tahapan ini menggunakan tepung gandum yang dicampurkan dengan medium Czapeck yang mengandung NaNO_3 , KCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ pada pH 5,5. Media selanjutnya disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu sebesar 121°C selama 15 menit. Setelah itu, ke dalam media padat tersebut diinokulasikan 1 mL spora jamur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Isolasi enzim kasar dilakukan

dengan cara mengekstrak media fermentasi dengan menambahkan aquades steril yang mengandung 0,01% Tween 80. Campuran tersebut dilarutkan dengan menggunakan magnetik *stirrer*. Enzim kasar (*crude enzyme*) selanjutnya dipisahkan dari media melalui sentrifugasi. Supernatan yang diperoleh disaring dengan kertas *Whatman* no. 1. Enzim kasar difraksinasi dengan amonium sulfat pada tingkat kejenuhan 70% pada kondisi suhu 4 °C selama 3 jam. Pemisahan dilakukan dengan sentrifugasi pada suhu 4°C, kemudian endapan yang terbentuk disuspensikan dalam buffer sitrat pH 5,0 dan enzim dipekatkan.

Produksi enzim oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh komposisi dan kondisi fermentasinya. Terdapat dua jenis fermentasi untuk produksi enzim yaitu fermentasi media padat dan fermentasi media cair. Fermentasi media padat ditandai dengan tidak adanya air bebas dalam sistem tersebut sedangkan pada fermentasi media cair digunakan media cair yang substratnya terlarut atau terdispersi dalam cairan. Nutrisi utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan beberapa mineral. Sumber karbon yang biasanya digunakan pada produksi tanase adalah glukosa dan pati dengan tanin atau asam galat sebagai inducer. Komposisi media untuk produksi tanase juga bervariasi tergantung jenis fermentasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media padat untuk produksi tanase lebih baik dibandingkan media cair. Penggunaan fermentasi media padat dapat memberikan pemasukan oksigen sebesar 75%. Pemasukan oksigen yang besar sebanding dengan pembentukan aerial miselium yang banyak. Aerial miselium yang banyak meningkatkan produksi enzim

hidrolitik dan stabilitas produk yang tinggi sehingga mempengaruhi represi katabolik yang lebih rendah akan menyebabkan produksi enzim tanase menjadi tinggi. Karakterisasi enzim tanase dapat dilakukan dengan penentuan suhu optimum, penentuan pH optimum, enzim tanase dicobakan pada substrat yang berbeda untuk mengetahui pengaruh berbagai jenis substrat terhadap aktivitas tanase, pengujian aktivitas enzim sehingga diperoleh pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas tanase, dan pengujian dengan berbagai jenis logam seperti Mg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} dan Mn^{2+} dengan konsentrasi tertentu.

11.6 Aplikasi Enzim Tanase

Kajian mengenai teknologi produksi enzim diharapkan mampu mengembangkan industri enzim maupun industri lainnya di Indonesia. Salah satunya yaitu enzim tanase yang dapat dimanfaatkan baik di industri makanan maupun obat-obatan. Tanin diketahui dapat mengikat besi organik dan vitamin B sehingga mengurangi besi dan vitamin B yang dapat diserap oleh tubuh dari bahan pangan. Adanya tanin dapat menimbulkan rasa sepat di lidah sehingga beberapa buah dengan kandungan tanin yang tinggi, hasil olahannya kurang disukai. Industri makanan menggunakan enzim tanase dalam pembuatan jus, anggur dan untuk mengurangi efek antinutrisi pada makanan ternak. Tanase juga digunakan dalam pembuatan teh instan, dimana penambahan enzim ini dapat melarutkan *cream* teh dalam air dingin yang ditambahkan ke dalam teh instan. *Cream* teh tidak larut dalam air dingin dan cenderung membentuk endapan

jika ditambahkan pada teh. Tanin hasil hidrolase (tanase) pada bidang kefarmasian diaplikasikan untuk menghasilkan asam galat. Asam galat digunakan untuk mensintesis antibakteri trimetoprim dan propil galat yang berperan sebagai antioksidan pada lemak, minyak dan minuman. Enzim tanase juga dapat digunakan sebagai pemutih gigi.

Aktivitas enzim tanase dapat dihasilkan setelah melalui fraksinasi amonium sulfat. Penelitian sebelumnya menunjukkan melalui fraksinasi amonium sulfat sebesar 18,33 μ /ml enzim tanase dapat diamati aktivitasnya. Penelitian tentang sifat kimia sirup buah jambu mete menunjukkan beberapa perubahan sebelum dan sesudah diberikan enzim tanase.

- a. Kadar glukosa cenderung mengalami kenaikan untuk semua perlakuan dengan enzim tanase.
- b. Penambahan enzim tanase pada sirup menunjukkan penurunan kadar tanin.
- c. Penambahan enzim tanase pada sirup buah jambu mete tidak mempengaruhi kandungan vitamin C, protein dan pH.
- d. Pemanfaatan enzim dalam industri makanan dapat mengurangi biaya produksi karena penggunaannya yang relatif sedikit, misalnya pada enzim tanase dapat digunakan untuk menjernihkan beer dan sari buah.

11.7 Sumber Rujukan

Anwar, Y. A. S. 2006. *Produksi dan Karakterisasi Enzim Tanin Asil Hidrolase dari Aspergillus niger*. Tesis Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Anwar, Y. A. S. 2013. Prospek Enzim Tanase dalam Pengembangan Industri di Indonesia. *Jurnal Pijar MIPA*. **8**(1) : 32-36.
- Anwar, Y. A. S. 2015. Pengaruh Penambahan Enzim Tanase Terhadap Sifat Kimia Sirup Buah Semu Jambu Mete (*Anacardium occidentale* Linn). *Jurnal Penelitian Kimia*.**11**(1): 29-37.
- Hidayah, N. 2016. Pemanfatn Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sains Perternakan Indonesia*. **11**(2) : 89.
- Noer, S., R. D. Pratiwi & E. Gresinta. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid sebagai Kuersetin) pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*.
- Setriarto, R. H. B. & N. Widhyastuti. 2016. Penurunan Kadar Tanin Dan Asam Fitat pada Tepung Sorgum melalui Fermentasi *Rhizopus oligosporus*, *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Berita Biologi*. **15**(2) : 149-157.
- Widarta, I. W. R., I. D. G. M. Permana & A. G. I. S. Wladnyani. 2018. Kajian Waktu dan Suhu Pelayuan Daun Alpukat dalam Upaya Pemanfaatannya sebagai Teh Herbal. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* . **7**(2) : 55-61.

12

ENZIM XILANASE

- 12.1 Pengertian Enzim Xilanase
- 12.2 Sumber Enzim Xilanase
- 12.3 Peranan Enzim Xilanase
- 12.4 Aktivitas Enzim Xilanase
- 12.5 Sumber Rujukan

12.1 Pengertian Enzim Xilanase

Enzim adalah protein dengan fungsi katalik khusus yang bekerja dengan efisien, dan diproduksi oleh semua organisme hidup. Enzim bertanggung jawab terhadap banyak reaksi biokimia dalam mikroorganisme, tanaman, hewan dan manusia. Suatu enzim bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu atau memiliki sifat yang spesifik. Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak penemuan dan pemborosan energi karena reaksinya karena reaksinya tidak memerlukan energi tinggi, bersifat spesifik dan tidak toksik. Salah satu jenis enzim yang mempunyai peran penting dalam bidang industri adalah enzim xilanase, karakteristik xilanase memiliki suhu optimum kurang dari 50°C.

Enzim xilanase adalah enzim kompleks karena enzim tersebut diperlukan untuk menghidrolisis senyawa xilan yang mempunyai monomer sangat bervariasi. Senyawa xilan merupakan komponen utama hemiselulose yang tersedia dalam sangat banyak dan bersifat *renewable*. Kadar xilan pada hemiselulose sekitar 30%. Kebanyakan xilan yang terdapat dalam

dalam bentuk heteropolisakarida yang tersusun atas beberapa senyawa substitusi yang meliputi asetil, arabinosil, glukuronosil. Sementara itu, mopolisakarida xilan hanya terdiri atas monomir xilosa.

12.2 Sumber Enzim Xilanase

Xilanase dapat dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme yaitu bakteri, ragi dan jamur. Salah satu jamur yang menghasilkan xilanase adalah *Trichoderma viride*. Enzim xilanase bersifat induktif. Berdasarkan sifatnya, enzim bebas mudah terdenaturasi sehingga menjadi tidak ekonomis karena enzim aktif hilang begitu saja. Enzim merupakan biomolekul sama seperti protein, hanya memiliki perbedaan fungsi. Enzim merupakan biokatalisator yang belakangan ini banyak diaplikasikan pada bidang industri.

Enzim xilanase dihasilkan oleh berbagai jenis organisme seperti bakteri, khamir, kapang, protozoa, dan siput. Bakteri adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan. Produksi enzim dari bakteri memiliki keunggulan karena pertumbuhannya cepat, mudah ditumbuhkan, mudah diatur produksinya, dan mudah direkayasa secara genetika. Penelitian produksi dan purifikasi xilanase dari bakteri darat maupun laut telah dilakukan oleh beberapa peneliti, seperti dari *Fomitopsis pinicola*, *Bacillus pumilus* strain, GESF-1, *Cellulosimicrobium* sp. MTCC 10645, *Aspergillus awamori* dan *Aspergillus phoenicis* (Mohamed dan Rashad, 2012), *Bacillus brevis*, *Paenibacillus* sp. NF1.

12.3 Peranan Enzim Xilanase

Xilanase merupakan enzim yang berperan dalam hidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilooligosakarida dan xilosa. Selain berperan dalam

menghasilkan xilooligosakarida, xilanase juga banyak dibutuhkan di berbagai bidang industri, misalnya industri kertas, farmasi, etanol, pakan ternak, makanan, dan minuman. Secara alami xilooligosakarida terdapat dalam buah-buahan, sayur-mayur, susu nabati, madu dan dapat diproduksi pada skala industri dari bahan hemiselulosa yang kaya xilan, dapat pula diperoleh dengan mengolah bahan limbah hasil hutan, pertanian atau limbah industri yang tinggi kandungan lignoselulosanya. Di Indonesia, bahan-bahan limbah tersebut mudah didapat dan tersedia dalam jumlah yang banyak sehingga pemanfaatan limbah tersebut dengan bantuan enzim xilanase untuk produksi xilooligosakarida akan sangat menguntungkan baik secara ekologis maupun ekonomi. Xilooligosakarida mempunyai nilai penting untuk digunakan sebagai bahan prebiotik.

Enzim xilanase banyak dilakukan sebagai pakan tambahan terutama untuk ransum monogastrik. Karena ternak monogastrik tidak menyintesis enzim xilanase. Sementara itu yang mampu memproduksi enzim xilanase adalah bakteri, algae, kapang, *protozoa*, *gastropoda*, dan arthropoda. Enzim xilanase sangat diperlukan, misalnya melalui isolasi, seleksi mikroba unggul, atau melalui pemasukkan gen untuk menghasilkan mikrobia mutan dengan produktivitas enzim xilanase tinggi. Xilanase digunakan untuk meningkatkan ekstraksi lignin dan melepaskan kromofor. Beberapa jenis jamur diketahui mampu menghasilkan xilanase ekstraseluler yang dapat menghidrolisis hemiselulosa menjadi xilosa.

Salah satu jenis enzim yang mempunyai peran penting dalam bidang industri adalah enzim xilanase. Salah satu prospek pemanfaatan xilanase adalah

penggunaannya dalam industri pulp (bubur kertas) dan kertas, yaitu pada tahap pemutihan (bleaching) pulp. Dalam proses ini, xilanase yang digunakan mempunyai karakteristik khusus yaitu optimum pada pH tinggi (alkali) dan bebas dari aktivitas selulase. Hal ini dikarenakan pengolahan kayu menjadi pulp dalam industri pulp dan kertas umumnya menggunakan larutan alkali sehingga pH pulp yang dihasilkan masih tinggi. Kelompok endo- β -1,4-xylanase merupakan enzim yang banyak digunakan dalam proses pemutihan pulp

12.4 Aktifitas Enzim Xilanase

Aktifitas enzim xilanase dihitung dalam satuan International Unit (IU), satu unit merupakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk memecah 1 μ mol xilan menjadi xilosa yang dibebaskan per menit pada kondisi pengujian. Metode yang digunakan adalah metode DNS. Reaksi antara gula reduksi dengan DNS merupakan reaksi redoks pada gugus aldehyd gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Sementara itu, DNS sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino dan 5-nitrosalisilat. Reaksi ini berlangsung dalam suasana basa dan suhu tinggi sekitar 90-100 °C. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu β -xilosidase, eksoxilase, dan endoxilanase. 1. β -xilosidase, yaitu xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai xilooligosakarida. Xilosa selain merupakan hasil

hidrolisis juga merupakan inhibitor bagi enzim β -xilosidase. Sebagian besar enzim β -xilosidase yang berhasil dimurnikan masih menunjukkan adanya aktivitas transferase yang menyebabkan enzim ini kurang dapat digunakan industri penghasil xilosa. 2. Eksoxilanase mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan) pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan sejumlah oligosakarida rantai pendek. Enzim ini dapat mengandung sedikit aktivitas transferase sehingga potensial dalam industri penghasil xilosa. 3. Endoxilanase mampu memutus ikatan β 1-4 pada bagian dalam rantai xilan secara teratur. Ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, ada atau tidaknya gugus substitusi, dan pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut.

12.5 Sumber Rujukan

- Fitria F., Sri Pujiyanto., Budi Raharjo., Nanik Rahmani & Y. Yopi. 2017. Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Xilanase dari Bakteri Laut *Bacillus safencis* strain LBF P20 Asal Pulau Pari Jakarta. *AGRITECH*, **37**(1).
- Larasati Luckyta R., Sutrisno, Roosdiana A. 2015. Pengaruh Waktu Pengocokan Dan Konsentrasi Xilanase Dari *Trichoderma viride* Terhadap Xilanase Teradsorpsi Dan Aktivitas Xilanase. *Kimia Student Journal*. **1** (1).

Malau D., Sianturi M. 2017. Analisa Jembatan Garam Untuk Meningkatkan Kestabilan Termal Enzim *Xilanase Aspergillus niger*. *Jurnal EduMatSains*. **1**(2).

Bachruddin Zaenal. 2014. *Teknologi Fermentasi Pada Industri Peternakan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Hidayat Nur., Wignyanto., Putri A.I. 2016. *Mikrologi Industri*. UB Press, Malang.

13

ENZIM GELATINASE

- 13.1 Pengertian Enzim Gelatinase
- 13.2 Sifat Enzim Gelatinase
- 13.3 Sumber Enzim Gelatinase
- 13.4 Aktivitas Enzim Gelatinase
- 13.5 Isolasi Enzim Gelatinase
- 13.6 Aplikasi Enzim Gelatinase
- 13.7 Sumber Rujukan

13.1 Pengertian Enzim Gelatinase

Gelatinase adalah kelompok protease yang termasuk dalam metaloprotein ekstraseluler dan metalloproteinase yang mampu menghidrolisis gelatin senyawa lainnya misalnya feromon, kolagen, kasein dan fibrinogen. Gelatinase merupakan enzim sebagai tipe IV berdasarkan pada aktivitasnya yang berlawanan dengan kolagen tipe IV pada membran. Enzim gelatinase yang berasal dari mikroorganisme mampu menghidrolisis gelatin menjadi komponen-komponen seperti polipeptida, peptida dan asam amino (Nursyam & Pihanto, 2018).

13.2 Sifat Enzim Gelatinase

Bersifat astringensi, Gelatin akan terurai oleh mikrobia yang mensintesis enzim proteolisis. Larutan gelatin bersifat cair pada suhu ruang atau suhu kamar dan padat apabila berada di dalam refrigerator, apabila

gelatin sudah dihidrolisis oleh mikroba maka akan tetap bersifat cair (Prihanto *et al.*, 2018).

13.3 Sumber Enzim Gelatinase

Enzim gelatinase berasal dari hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Enzim gelatinase termasuk enzim protease dan fungsi dari enzim gelatinase sendiri adalah sebagai pengurai gelatin (Prihanto *et al.*, 2018).

13.4 Aktivitas Enzim Gelatinase

Sehubungan dengan kemampuan enzim gelatinase atau MMP-9 dalam mendegradasi komponen matrik pada proses inflamasi, sel-sel radang yang teraktivasi akan meningkatkan produksi proenzim, diantaranya MMP atau *Matrix Metalloprotease*. Protease ini akan diubah menjadi enzim yang aktif yang menyebabkan lisisnya MMP-1 atau kolagen . Apabila proses ini terjadi pada plak aterosklerosis maka serabut pada plak akan mengalami lisis sehingga menjadi tipis dan akhirnya akan luntur. Gelatinase atau yang dikenal dengan MMP-9 memiliki berat molekul 92 kDa dan diidentifikasi sebagai suatu *gelatin-binding protein* yang disintesis oleh sel-sel leukosit. Aktivitas MMP-9 atau gelatinase dapat di induksi oleh pemicu yang kuat yaitu seperti monosit, neutrofit, sel dendrit, limfosit, sel endotel, sel epitel, dan osteoblas yang dapat memproduksi enzim gelatinase B (Peristiowati *et al.*, 2017)

13.5 Isolasi Enzim Gelatinase

Bakteri endofit merupakan bakteri yang mampu hidup dan menetap pada jaringan tertentu pada tanaman selama waktu tertentu dalam siklus hidupnya.

Uji gelatin menggunakan kultur bakteri yang berumur 48 jam diinokulasikan pada media gelatin kemudian diinkubasi selama 72 jam. Tabung selanjutnya dimasukkan ke dalam lemari es selama 25 menit. Pengamatan meliputi terjadi atau tidaknya pencairan gelatin dibandingkan dengan kontrol. Pencairan gelatin yang terjadi menunjukkan bahwa bakteri mampu menghasilkan eksoenzim gelatinase. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh isolate A1, B1, *Pseudomonas flourescens* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan respon positif pada uji gelatin yang ditandai dengan adanya pencairan gelatin. Masing-masing isolate yang telah diinokulasi pada media gelatin, kemudian diinkubasi selama 72 jam, dihasilkan adanya pencairan gelatin yang kemudian dimasukkan ke dalam kulkas selama 30 menit untuk melihat adanya pembekuan atau tidak. Hasil yang ditunjukkan adalah tidak adanya pembekuan, yang menunjukkan bahwa gelatin terhidrolisis seluruhnya (Putri *et al.*, 2017).

13.6 Aplikasi Enzim Gelatinase

MMP-9 atau gelatinase merupakan famili MMPs (*matrix metalloproteinases*) enzim gelatinase diaplikasikan dengan MMP-1 atau kolagenase dan MMP-3 atau *stromelysin* untuk mencegah anti aging atau proses penuaan pada kulit di karenakan dapat mendegradasi elastin yang terdapat pada jaringan kulit (Irianto, 2015).

Enzim gelatinase pada akhir-akhir ini mendapat banyak perhatian sebagai target pengembangan obat karena potensinya sebagai penghantar obat-obatan dan bioaktif (Foux dan Zilberman 2015). Gelatin juga dapat digunakan sebagai bahan pembuatan hidrolisat gelatin yang mempunyai berbagai bioaktivitas, salah satu cara

untuk membuat hidrolisat gelatin adalah dengan menggunakan enzim gelatinase. Potensi gelatinase untuk menghasilkan produk hidrolisat gelatin, meningkatkan permintaan enzim ini. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan strain bakteri baru yang menghasilkan enzim dengan sifat baru. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi bakteri endofit yang menghasilkan enzim gelatinase yang dapat dimanfaatkan untuk keperluan industri. Mikroorganisme endofit mangrove dilaporkan dapat memproduksi metabolit unik dan berguna untuk keperluan industri sehingga berpotensi untuk diisolasi sebagai penghasil gelatinase. Mikroorganisme endofit merupakan organisme hidup berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup dalam jaringan tanaman (xylem dan phloem) daun, akar, buah, dan batang. Bakteri endofitik adalah bakteri yang berada di dalam jaringan tanaman tanpa merugikannya secara substansial. Bakteri endofit ditemukan pada hampir semua jenis tanaman. Penelitian pada keragaman bakteri endofit mangrove menunjukkan bahwa tumbuhan mangrove merupakan sumber yang kaya bakteri endofit. Bakteribakteri yang telah berhasil diisolasi adalah *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus* dan *Azospirillum* (Nursyam & Prihanto, 2018).

13.7 Sumber Rujukan

Irianto, S, E, B. 2015. Sel Punca Jaringan Lemak sebagai Anti-aging untuk Kulit: Menua karena Paparan Ultraviolet. *Jurnal CDK-231*. **42**(8) : 632-634.

- Nursyam, H & A. A. Prihanto. 2018. Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Mangrove *Rizhopora mucronata* Penghasil Gelatinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **21**(1): 143-147.
- Peristiowati, Y., Sumarno., I, K, G, Muliarta & Murwani. 2017. Kemampuan *Whole Cell Helicobacter pylori* dalam Menginduksi Degradasi Kolagen Tipe IV Melalui Peningkatan Aktivitas Makrofag. *Jurnal Ilmu Kesehatan Surya Mitra Husada*. **1**(1) : 1-7.
- Prihanto, A. A., H. D. L. Timur., R. Nurdiani & K. A. Pradarameswari. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **1**(1): 1-10.
- Putri, E. G., Yuliani & L. Lisdiana. 2017. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit A1 B1 dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Iphomoea batatas*) Var. Papua Patippi Berdasarkan Karakter Feonotipik. *Jurnal Lentera Bio*. **6** (3): 62-69.

14

ENZIM SELLULASE

- 14.1 Pengertian Enzim Sellulase
- 14.2 Sifat Enzim Sellulaso
- 14.3 Sumber Enzim Sellulaso
- 14.4 Aktivitas Enzim Sellulaso
- 14.5 Isolasi Enzim Sellulaso
- 14.6 Aplikasi Enzim Sellulaso
- 14.7 Sumber Rujukan

14.1 Pengertian Enzim Sellulase

Pemanfaatan enzim sebagai katalisator reaksi-reaksi biologi dalam bidang industri pertanian termasuk pangan, farmasi dan kedokteran terbukti memberikan manfaat dan keuntungan yang luar biasa bagi manusia. Teknologi pemanfaatan enzim berkembang dengan sangat pesat dan mendapat prioritas untuk dikembangkan di Indonesia. Pengukuran aktivitas selulase lengkap dilakukan untuk mengukur aktivitas campuran enzim yang menghidrolisis bahan yang mengandung selulosa dan Jurnal Biologi menghasilkan glukosa sebagai produk akhir (Gunam *et al.*,2010).

Selulase adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi pemutusan ikatan β - 1-4-glikosidik dalam selulosa. Pada penelitian ini dilakukan penentuan pH optimum produksi enzim selulase (6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0). Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dihitung berdasarkan jumlah gula pereduksi yang terbentuk dari proses hidrolisis JOM FMIPA Volume 2 No. 1 Februari 2015 200 substrat *Carboxymethyl cellulose* (CMC) oleh

enzim selulase dengan metode Nelsonsomogyi (Prima *et al.*,2015).

Enzim selulase merupakan suatu enzim yang mampu menguraikan selulosa dengan cara menghidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu monomer glukosa (Lehninger, 1998). Selulosa adalah suatu polimer glukosa yang tidak bercabang yang mengandung unit-unit glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosidik. Enzim selulase memiliki aplikasi luas dan sangat potensial digunakan dalam berbagai industri dan untuk pengolahan limbah selulosa dalam pembuatan kompos atau untuk penguraian limbah pertanian yang mengandung selulosa menjadi produk yang bernilai ekonomis yaitu glukosa (Prima *et al.*,2015).

14.2 Sifat Enzim Selulase

Salah satu enzim transferase yang umum digunakan dalam reaksi transglukosilasi ini adalah enzim selulase yang memiliki sifat *retaining enzyme*, yaitu enzim hidrolisis yang mampu menahan hasil hidrolisis dalam waktu yang cukup lama untuk melakukan reaksi transfer glikosil ke akseptor sebelum melepaskan produk hidrolisis tersebut (Safitri *et al.*,2015).

14.3 Sumber Enzim Selulase

Enzim selulase biasanya merupakan campuran dari beberapa enzim, Sedikitnya ada tiga kelompok enzim yang terlibat dalam proses hidrolisis selulosa, yaitu 1) endoglukanase yang bekerja pada wilayah serat selulosa yang mempunyai kristalinitas rendah untuk memecah selulosa secara acak dan membentuk ujung rantai yang bebas, 2) eksoglukanase atau selobiohidrolase yang mendegradasi lebih lanjut

molekul tersebut dengan memindahkan unit-unit selobiosa dari ujungujung rantai yang bebas, dan 3) α -glukosidase yang menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Jumlah enzim yang diperlukan untuk hidrolisis selulosa berbeda-beda, bergantung pada kadar padatan tidak larut air (water insoluble solids) pada bahan yang akan dihidrolisis. Sampai tahap tertentu, semakin banyak selulase yang digunakan, semakin tinggi rendemen dan kecepatan hidrolisis, namun juga meningkatkan biaya proses. Hidrolisis selulosa juga dapat dilakukan dengan menggunakan mikroba yang menghasilkan enzim selulase, seperti *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, dan *Aspergillus niger* (Hermiati *et al.*,2010).

14.4 Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas ekstrak kasar enzim yang dihasilkan dari ketiga isolat ini ditentukan berdasarkan jumlah gula pereduksi yang JOM FMIPA Volume 2 No. 1 Februari 2015 203 dihasilkan dari reaksi selulase menggunakan substrat CMC 2% tiap satuan waktu. Kadar gula pereduksi ditentukan dengan metode Nelsonsomogyi dan aktivitas selulase dari ketiga isolat pada setiap variasi pH (Prima *et al.*,2015).

14.5 Isolasi Enzim Selulase

Produksi selulase komersial umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Mikroorganisme dapat diisolasi dari mana saja termasuk dari padang pasir Tengger-Bromo. Padang pasir ini terbentuk akibat aktivitas vulkanik, sehingga jenis tanahnya berasal dari abu dan pasir vulkanis. Kondisi padang pasir Tengger-Bromo mirip dengan kondisi gurun, dimana ketersediaan air sangat sedikit

terutama pada musim kemarau, dan tidak banyak tumbuhan yang mampu tumbuh, sehingga tercipta kondisi yang ekstrim bagi makhluk hidup termasuk mikroorganisme (Sonia & Joni, 2015).

Pengambilan sampel dilakukan pada tiga tempat yang berbeda dengan jenis ekosistem yang berbeda, yakni ekosistem pepohonanan, ekosistem savanna dan ekosistem rumput gajah. Selanjutnya dilakukan proses pengkayaan dengan menambahkan media selektif yang mengandung CMC 1% [3], (1 g CMC; 0.02 g MgSO₄; 0.075 g KNO₃; 0.05 K₂HPO₄; 0.002 g FeSO₄; 0.004 CaCl₂; 0.2 g ekstrak khamir, 1.5 g agar-agar bakto dan 0.1 g glukosa). Pada proses pengkayaan, sampel diinkubasi selama 72 jam di dalam *shaker waterbath* pada suhu 55°C sebagai suhu minimum pertumbuhan bakteri termofilik. Setelah 72 jam bakteri selulolitik diisolasi dengan menggunakan metode spread plate pada media selektif yang mengandung CMC 1%. Dari hasil spread plate, didapatkan sebanyak dua belas isolat dengan morfologi yang berbeda dari ketiga sampel. Setelah didapatkan 12 isolat dengan morfologi yang berbeda, dilakukan pemurnian untuk mendapatkan koloni yang benar-benar murni dengan melakukan streak plate pada media agar CMC dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 55°C. Setelah diinkubasi cawan dibanjiri dengan congo red 1% selama 15 menit, dan NaCl selama 15 menit. Koloni yang mampu memproduksi selulase akan terdeteksi dengan terbentuknya zona oranye muda hingga bening setelah dibanjiri dengan congo red (Gambar 2). Zona bening dari 12 isolat diukur berdasarkan indeks selulolitik (IS). IS dihitung dari perbandingan diameter zona bening di sekitar bakteri dengan diameter koloni (Sonia & Joni, 2015).

14.6 Aplikasi Enzim Selulase

Produksi selulase komersial umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Mikroorganisme dapat diisolasi dari mana saja termasuk dari padang pasir Tengger-Bromo. Padang pasir ini terbentuk akibat aktivitas vulkanik, sehingga jenis tanahnya berasal dari abu dan pasir vulkanis. Kondisi padang pasir Tengger-Bromo mirip dengan kondisi gurun, dimana ketersediaan air sangat sedikit terutama pada musim kemarau, dan tidak banyak tumbuhan yang mampu tumbuh, sehingga tercipta kondisi yang ekstrim bagi makhluk hidup termasuk mikroorganisme (Sonia & Joni,2015).

Enzim selulase memiliki aplikasi yang luas dan potensial dalam bidang makanan, pakan ternak, tekstil, bahan bakar, industri kimia, industri pulp dan kertas, pengolahan limbah, industri farmasi, produksi protoplas, dan teknik genetik.

14.7 Sumber Rujukan

Sonia N, M, O., & Joni K. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3** :11-19.

Hermiati E., Djumali M., Titi C, S., Ono S & Bambang P. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa ampas tebu untuk produksi bioethanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, **29**(4) : 121-130.

Safitri S., Titania T. N., & Hilwan Y.T. 2015. Hubungan Aktivitas Enzim dan Konsentrasi Substrat Pada

- Pola Deteksi hasil HPLC Transglukosilasi Pinocembrin Oleh Enzim Selulase *Trichoderma asperellum* LBKURCC1. *Jurnal JOM FMIPA*. **2**(1):163-172.
- Prima A., Silvera D., & Saryono. 2015. Optimalisasi pH Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Endofitik *Pseudomonas stutzeri* LBKURCC45, *Pseudomonas cepacia* LBKURCC48 Dan *Pseudomonas stutzeri* LBKURCC59. *Jurnal JOM FMIPA*. **2**(1):199-205.
- Gunam I.B.W., Ketut B., & I Made Y.S.G. 2010. Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Dengan Larutan NaOH Dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi Terhadap Produksi Enzim Selulase Dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi*. **14**(1) : 55-61.