

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Kata Enzim berasal dari "En zyme" yang berarti dalam ragi (yeast), mulai dikenal dan dipakai semenjak tahun 1877. Sebelum itu sudah dikenal diastase (1833, A Payen dan Persoz), pepsin (1836, T Schwan) dan Emulsin (J.V Leibig dan F. Wohler 1837) yang masing-masing adalah senyawa organik yang dapat menghidrolisis pati, protein dan glikosida. (5)

Pada tahun 1866, Louis Pasteur mendapatkan bahwa cairan anggur bergula dapat mengalami perubahan menjadi alkohol dan CO₂ karena adanya ragi yang tumbuh didalamnya. Oleh karena itu Pasteur memastikan bahwa yang menyebabkan peristiwa fermentasi adalah sesuatu yang dikeluarkan oleh ragi, zat itu berhubungan erat dengan jasad tersebut. Pasteur menyebutnya sebagai "organized Ferment" untuk membedakan dengan diastase, pepsin dan emulsin yang dinamakan olehnya "unorganized Ferment". (5)

Pada tahun 1897, E. Buchner dapat mengekstrak zat yang terdapat dalam ragi yang selanjutnya senyawa ini dapat melangsungkan fermentasi alkohol tanpa berhubungan dengan struktur sel ragi. Dengan berhasilnya isolasi ini maka tidak ada lagi perbedaan antara kedua istilah yang dikemukakan oleh Louis Pasteur. (5)

Enzim yang sering disebut ferment adalah suatu golongan biologis yang sangat penting dari protein dan tergolong biokatalisator untuk sel-sel hidup yang daya kerjanya bersifat spesifik. Struktur kimianya tergolong protein sehingga bila terjadi denaturasi maka struktur kimianya berubah bersamaan dengan perubahan aktivitas katalitiknya.⁽²⁾

Daya kerja enzim sangat spesifik, sehingga meskipun jumlah enzim ribuan dalam sel dan substratnya sangat banyak jumlahnya, tidak akan terjadi kekeliruan. Yang dimaksud dengan substrat adalah substansi yang mengalami perubahan kimia setelah bercampur dengan enzim, sedangkan produk adalah substansi baru yang terbentuk setelah reaksi mencapai keseimbangan.⁽⁶⁾

Protein enzim disebut Apo-enzim dan bagian yang bukan protein dinamakan Koenzim. Komplek antara apoenzim dan koenzim disebut Holoenzim. Maka dengan tiga struktur yang ada pada apoenzim sangat penting untuk aktivitas katalitik sehingga perubahan konformasi yang sedikit saja pada enzim akan mempengaruhi aktivitasnya.⁽⁶⁾

2.2 Klasifikasi Enzim

Kebutuhan untuk suatu klasifikasi enzim yang rasionil dan juga nomenklatur disadari terutama sekitar tahun 1960, ketika disadari bahwa pada waktu itu telah dikenal lebih dari 1300 jenis enzim, sedangkan tahun 1930 baru dikenal sekitar 80 jenis saja.⁽⁷⁾

Pada tahun 1961 International Union Of Biochemistry mempublikasikan aturan-aturan nomenklatur sistematik dari enzim. Dasar untuk mengklasifikasikannya ada beberapa macam yaitu berdasarkan substrat yang dikatalisisnya, nama jasad hidup yang menghasilkan enzim, dan jenis reaksi yang dikatalisis. Adapun dasar klasifikasi yang sampai sekarang digunakan secara resmi adalah jenis reaksi yang dikatalisis oleh enzim. (8)

Walaupun tata nama yang terakhir ini disepakati bersama namun terdapat beberapa kelemahan antara lain menjadi panjangnya nama enzim tertentu, sehingga lebih disukai nama trivial enzim dari pada harus menyebutkan nama sistematiknya. Atas dasar reaksi yang dikatalisis enzim dibagi menjadi enam golongan yaitu : Oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase dan ligase. (8)

2.2.1 Oksidoreduktase

Golongan enzim ini mengkatalisis reaksi Oksidasi dan Reduksi atau memindahkan elektron-elektron dari suatu donor (yang dioksidasi) ke suatu akseptor (yang direduksi). (7)

Dalam golongan enzim ini ada dua macam enzim yang paling utama yaitu oksidase dan dehidrogenase. Oksidase adalah suatu enzim yang mengkatalisis suatu reaksi antara substrat dengan molekul Oksigen. Yang termasuk enzim ini antara lain : Katalase, Peroksidase, Tirosinase dan Asam Askorbat Oksidase. Dehidrogenase adalah enzim yang aktif

dalam pengambilan atom Hidrogen dari substrat. Enzim-enzim ini mempunyai koenzim : NAD, NADP, FAD atau FMN. Enzim yang termasuk Dehidrogenase antara lain : Laktat Dehidrogenase (mengubah asam laktat menjadi asam piruvat), Suksinat Dehidrogenase (mengubah asam suksinat menjadi fumarat), dan Glutamat Dehidrogenase (mengubah asam glutamat menjadi asam ketoglutarat dan amoniak).⁽⁷⁾

2.2.2 Transferase

Enzim yang mengkatalisis pemindahan gugus atom dari suatu donor ke suatu akseptor. Dalam tubuh proses transfer radikal atau pemindahan gugus harus memakai enzim sebagai katalis yang pada umumnya mekanismenya berjalan kompleks. Enzim-enzim yang termasuk golongan ini yang penting dan banyak diketahui adalah : Transaminase, Transfosforolase, Transmetilase dan transasetilase.⁽⁵⁾

2.2.3 Hidrolase

Hidrolase adalah enzim yang mengkatalisa hidrolisa substrat atau enzim yang memecah substrat dengan bantuan air. Yang termasuk golongan ini diantaranya enzim yang mengkatalisa hidrolisa protein, karbohidrat, lemak, urea, asam nukleat dan lain-lain. Enzim ini juga mengkatalisis hidrolisis ikatan C-O dan C-N. Enzim Hidrolase juga dapat maningkatkan pemecahan karbon dengan atom lainnya dengan penambahan air. Contoh enzim ini adalah esterase, amidase, peptidase, fosfatase dan urease.

2.2.4 Liase

Enzim ini meningkatkan terjadinya pemisahan secara non hidrolitik suatu gugus dari atom substrat sehingga terbentuk suatu ikatan rangkap, atau penambahan suatu gugus atom pada suatu ikatan rangkap. Contoh enzim ini adalah Piruvatdekarboksilase. (7)

Enzim Liase adalah enzim yang aktif mengkatalisis pemecahan atom karbon rantai karbon (C-C), dan ikatan antara atom karbon dengan atom oksigen (C-O) dengan tidak menggunakan air. Termasuk golongan ini misalnya Karbonat anhidrase (memecah ikatan C-O) dan dekarboksilase (memecah ikatan C-C). Golongan enzim ini hanya mempunyai 3 sub golongan yaitu yang mengkatalisis reaksi adisi terhadap ikatan C=C, C=O dan C=N. (5)

2.2.5 Isomerase

Enzim golongan ini mampu mengkatalisis semua reaksi isomerisasi yaitu mengubah substrat menjadi isomernya. Yang termasuk golongan ini diantaranya fosfoheksosa isomerase dan fosfomanosa isomerase. (5)

2.2.6 Ligase (sintetase)

Enzim Ligase merupakan sekelompok enzim pembentuk ikatan dengan bantuan energi yang berasal dari pemecahan ATP. Oleh karena itu golongan enzim ini disebut juga sintetase. Ikatan yang terbentuk adalah ikatan C-O, C-S, C-N dan C-C. (5)

2.3 Komponen Enzim

Menurut Abder Halden enzim atau ferment tersusun atas dua komponen yaitu apo enzim (feron) dan ko-enzim (argon). Apoenzim adalah suatu protein sehingga tidak tahan terhadap panas (heat labile) dan Koenzim adalah gugus radikal prostetik dari suatu enzim yang merupakan persenyawaan biasa yang umumnya mempunyai struktur kompleks. Pada umumnya memiliki sifat tahan panas dan struktur kimianya ada yang mempunyai unit penyusun vitamin dan pada pemanasan tidak menggumpal.⁽⁹⁾

Apoenzim dan koenzim bergabung erat satu sama lain. Gabungan apoenzim dan koenzim disebut holoenzim. Bila keduanya terpisah satu dengan yang lain maka baik apoenzim maupun koenzim tak dapat bekerja sendiri-sendiri.⁽⁹⁾

Keterkaitan antara apoenzim, koenzim dan holoenzim dapat digambarkan :

Holo enzim \longrightarrow Apoenzim + Koenzim
 (Enzim) (Pembawa Protein) (Non Protein)

Beberapa sifat Apoenzim dan Koenzim sebagai berikut :

Tabel 1. Beberapa Sifat Apoenzim Dan Koenzim

No	Perlakuan	Apoenzim	Koenzim
1.	Berat molekul	Tinggi	Relatif kecil (10^2-10^3)
2.	Pemanasan	Termolabil	Termostabil
3.	Dialisis	Tertahan	Terjadi difusi

Koenzim memegang peranan penting dalam melancarkan proses reaksi atau uraian oleh suatu enzim. Beberapa vitamin yang termasuk golongan vitamin b-komplek merupakan unit penyusun koenzim. Beberapa contoh koenzim diantaranya piridoksin ko-enzim, Thiamin ko-enzim, flavin ko-enzim dan lain-lain. (9)

Untuk aktivitasnya kadang-kadang enzim membutuhkan kofaktor yang bisa berupa senyawa organik dengan berat molekul cukup tinggi atau logam. Senyawa organik ini terikat pada bagian protein enzim. Bila senyawa tersebut berasosiasi dengan apoenzim dan bersifat sementara atau ikatannya kendur disebut ko-enzim. Sedangkan bila terikat kuat melalui ikatan kovalen maka dinamakan gugus prostetik, walaupun pada umumnya dua kofaktor tersebut disamakan namanya yaitu ko-enzim. (5)

Fungsi logam pada umumnya ialah untuk memantapkan ikatan antara substrat pada enzim atau mentransfer elektron yang timbul selama proses katalisis. Beberapa logam yang berfungsi dalam katalisis :

Tabel 2. Beberapa Ion Logam Yang Berperan dalam katalisis

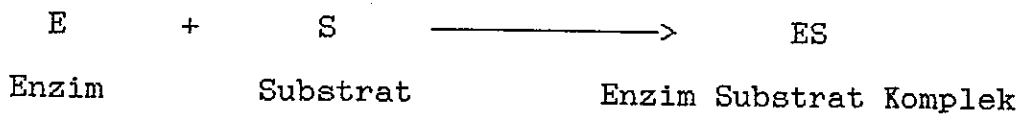
Logam	Nama Enzim	Logam	Nama Enzim
Zn ⁺⁺	Alkohol dehidrogenase	Fe ⁺⁺	Sitokrom katalase
K ⁺	Piruvat Fosfokinase	Mg ⁺⁺	Fosfo Transferase
Na ⁺	ATP-ase	Cu ⁺⁺	Tirosinase

2.4. Fungsi dan Mekanisme Kerja Enzim

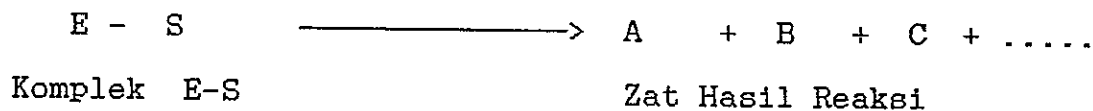
Fungsi enzim pada umumnya dapat merombak sesuatu zat dalam bentuk yang lebih kecil yang kemudian diuraikan menjadi zat-zat yang siap diresorpsi dan dapat dialirkan dalam darah. Sebagian dapat dipakai lagi untuk membentuk zat-zat yang semula diperlukan untuk keperluan organ itu sendiri dan yang lainnya diuraikan dalam pencernaan. (5)

Enzim adalah suatu protein, oleh karena itu memiliki molekul besar. Sedangkan substrat merupakan senyawa yang mempunyai molekul relatif lebih kecil dari molekul enzim. Perbedaan molekul ini memberikan kesan bahwa sebagian kecil dari molekul ini langsung ikut terlibat dalam pembentukan enzim-substrat. Bagian yang kritis ini disebut tempat aktif, sebab diduga di sinilah substrat menempel pada enzim dan reaksi kimia terjadi. (9)

Substrat yang terikat pada enzim ternyata harus memiliki bentuk yang sangat tepat dengan bagian aktif enzim. Agar substrat dapat mengalami perubahan oleh pengaruh dari suatu enzim, maka terlebih dahulu substrat harus terikat oleh enzimnya membentuk enzim-substrat kompleks. Diperkirakan molekul substrat tertarik oleh tenaga kimia (seperti muatan elektrostatik) masuk ke dalam ruang tempat aktif dimana substrat ini diaktifkan sebelum terbentuknya hasil-hasil reaksi. (9)

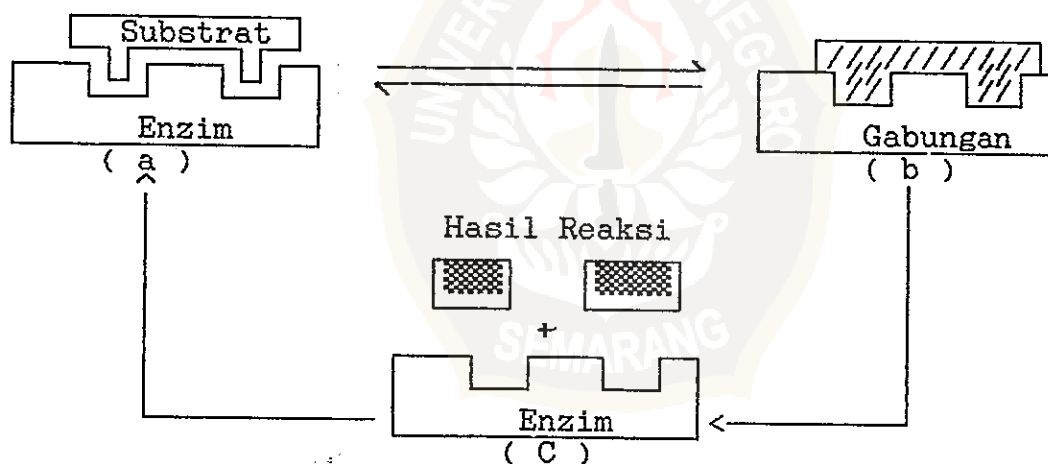


Hasil reaksi yang pola molekulnya tidak sesuai dengan pola tempat aktif akan terlempar ke larutan sekitarnya dan membebaskan tempat aktif untuk menangkap substrat lain.



Dari sini terlihat hasil peruraian / perubahan substrat (A + B + C dst.) sudah tidak terikat oleh enzimnya lagi, sehingga enzim dapat mempengaruhi substrat yang lain.

Model tempat aktif dan cara kerja enzim dapat dilihat dalam skema berikut :



KETERANGAN

- (a) molekul substrat tertarik ke tempat aktif
- (b) Gabungan enzim substrat diaktifkan dan terjadi reaksi
- (c) Hasil reaksi ditolak keluar dari tempat aktif kemudian enzim menjadi bebas kembali untuk mengulangi daur ulang berikutnya. (9)

2.5 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Kerja Enzim

2.5.1. Pengaruh pH

Aktivitas kerja enzim bergantung pada pH. Tiap-tiap enzim memiliki pH optimum dimana enzim dapat bekerja sebaik-baiknya. Pada kisaran pH yang ekstrim baik asam maupun basa terjadi inaktivasi yang irreversibel. Sedangkan pada kisaran pH yang selebihnya masih dapat terjadi inaktivasi tetapi bersifat reversibel. Bila melewati pH optimum aktivitas enzim akan menurun. Adapun Tirosinase pH optimumnya 6-7.⁽⁹⁾

2.5.2. Pengaruh Temperatur

Tiap-tiap enzim mempunyai suhu optimum yaitu suhu dimana enzim dapat bekerja dengan sebaik-baiknya. Bila suhu terlalu tinggi maka akan mengalami denaturasi, karena enzim adalah protein yang tidak tahan panas.

Pada umumnya reaksi kimia akan berlangsung 2 kali lebih cepat pada setiap kenaikan suhu 10°C dan ini berlaku sampai 35°C . Jika suhu dinaikkan melampaui 35°C maka kecepatan reaksi kimia semakin berkurang dan mulai kehilangan sifat-sifat katalisatornya sampai mendekati 60°C .⁽⁹⁾

Untuk enzim Tirosinase suhu optimumnya adalah antara 25°C - 30°C , Sedangkan pada saat pengukuran uji aktivitas dilakukan pada 28°C dan suhu penyimpanan 4°C .

2.5.3 Pengaruh Radiasi

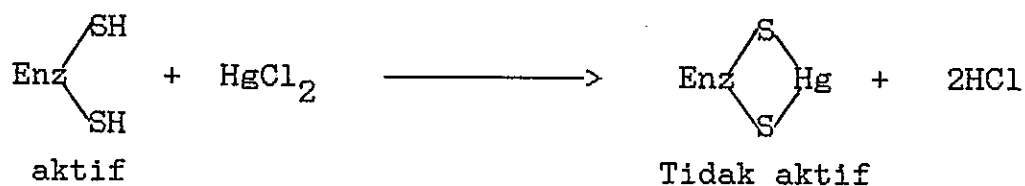
Pada umumnya cahaya yang kuat akan membuat enzim menjadi tidak aktif. Sinar ultraviolet, sinar alfa dan sinar gamma yang radioaktif dapat merusak enzim dan menimbulkan denaturasi. Radiasi sinar ultraviolet dapat memutus ikatan-ikatan peptida yang berdekatan dengan lingkaran aromatik dari suatu rantai peptida yang merupakan penyusun protein enzim sehingga menjadi tidak aktif.⁽⁹⁾

2.5.4 Pengaruh Oksidator

Ada beberapa enzim yang koenzimnya memiliki radikal Sulfidril, radikal Markapto, radikal Tio atau radikal -SH. Untuk dapat bekerja maka gugusan -SH atau radikal -SH dalam enzim harus bebas. Apabila enzim teroksidasi maka akan membentuk ikatan disulfida (-S-S) sehingga enzim tersebut tidak aktif.



Enzim-enzim yang reaktivitasnya tergantung oleh radikal -SH bebas, dapat juga menjadi tidak aktif karena kontak dengan garam-garam logam berat.⁽⁹⁾



2.5.5 Pengaruh Konsentrasi Enzim

Banyak sedikitnya konsentrasi enzim berpengaruh pada waktu yang dipakai untuk mencapai kesetimbangan. Bila kita menggunakan enzim yang masih murni dan belum rusak, maka kecepatan reaksi atau aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi dari enzimnya, walaupun konsentrasi substrat dapat merupakan faktor yang membatasi aktivitasnya.

2.5.6 Pengaruh Konsentrasi Substrat

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substratnya. Apabila konsentrasi substratnya dinaikkan sedangkan faktor-faktor yang lainnya tetap, maka aktivitas enzim tersebut akan naik sampai suatu batas optimum. Apabila batas ini dilampaui maka efeknya menjadi tidak ada. Pemberian substrat lebih lanjut tidak akan mempengaruhi aktivitas dari enzim, sebab pembentukan enzim - substrat kompleks sudah berakhir. Aktivitas enzim maksimal akan tercapai apabila seluruh enzim yang ada dapat dipakai.⁽⁹⁾

2.5.7 Pengaruh Aktivator dan Inhibitor

Suatu senyawa, unsur atau ion dapat meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim. Ada beberapa enzim yang dihasilkan dalam bentuk inaktif dan enzim yang dihasilkan dalam bentuk inaktif ini disebut Zimogen atau proenzim. Apabila zimogen ini berhubungan dengan aktivatornya maka akan berubah menjadi enzim yang aktif.⁽⁹⁾

Kebanyakan aktivator adalah berbentuk ion-ion, terutama ion-ion logam atau kation-kation misalnya Mg^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} dan lain-lain. Ada juga aktivator yang bekerja sebagai protektor yang berfungsi sebagai pelindung suatu enzim terhadap apa saja yang mengganggu proses bekerjanya. Misalnya untuk melindungi urease digunakan serum darah asam-asam amino, gom arab, protein dan lain-lain.

Suatu zat yang menghambat aktivitas kerja dari suatu enzim dikenal dengan nama inhibitor. Dipandang dari sifat kestabilan penghambatan, maka penghambatan enzim dapat dibagi menjadi dua yaitu penghambatan reversibel dan penghambatan irreversibel.

Inhibitor irreversibel terikat secara kovalen pada lokasi aktif enzim atau sedikitnya senyawa tersebut terikat sedemikian kuat sehingga disosiasi terjadi sangat lambat. Adapun penghambatan reversibel terbagi menjadi dua yaitu penghambatan kompetitif atau penghambatan bersaing dimana struktur molekul mirip dengan struktur substrat normal untuk menduduki tempat aktif suatu enzim, sedangkan penghambatan non kompetitif terjadi apabila inhibitor menempelkan diri pada tempat dipermukaan enzim yang agak jauh dari tempat aktif, sehingga struktur tempat aktif itu berubah dan dapat menghalangi terlaksananya peran enzim sebagai katalisator. Inhibitor bersaing dapat dikurangi dengan meningkatkan konsentrasi substrat. (9)

2.6 Jumlah Dan Satuan Enzim

Satuan aktivitas unit enzim (U) yang paling umum dipakai adalah jumlah mikromol substrat yang dirubah menjadi produk tiap menit. Satuan ini untuk menyatakan jumlah enzim seperti halnya massa atau satuan lainnya. Kadar enzim dinyatakan dalam satuan aktivitas enzim tiap satuan volume (U / volume). Nilai ini dipakai untuk menghitung jumlah mol enzim yang sebenarnya bila angka pergantian (turnover number) pada keadaan yang sama diketahui. Angka pergantian adalah jumlah daur reaksi yang dikatalisis oleh satu molekul enzim tiap satuan waktu (menit atau detik)⁽¹⁰⁾

Dengan kata lain Unit Internasional (U) didefinisikan sebagai satu mikromol substrat yang dikonversikan menjadi produk permenit pada kondisi tertentu (25°C atau 30°C pada pH optimum), sedangkan aktivitas spesifik didefinisikan perbandingan antara total aktivitas unit dengan total kadar protein.⁽¹¹⁾

Satu Aktivitas Unit tirosinase = 1 μ mol substrat (L-tirosin) yang dirubah menjadi produk (dopakrom) tiap menit. Dengan demikian dapat disimpulkan :⁽¹²⁾

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Unit} &= \text{Unit} / \text{mL} \\ \text{Aktivitas Spesifik} &= \frac{\text{Unit} / \text{mL}}{\text{Unit} / \text{mg}} = \frac{\text{Unit}}{\text{mg protein}} \\ \text{Total Aktivitas} &= (\text{Akt. Spes.}) \times (\text{Total mg protein}) \\ \text{Prosen (\%) Hasil} &= \frac{\text{Total Aktivitas Tahap Akhir Perlakuan}}{\text{Total Aktivitas Awal}} \end{aligned}$$

2.7 Penentuan Aktivitas Enzim

Pada umumnya konsentrasi enzim hasil isolasi cukup rendah, sehingga pengukuran berdasarkan pada absorbansi (A), atau Fluorosensi (F). Dari rumus Lambert Beer didapatkan bahwa : (13)

$$A = abc \quad \text{atau} \quad A = E\epsilon c \dots\dots\dots 1)$$

dimana A = Absorbansi

a = koefisien Ekstensi produk ($\text{cm}^2/\mu\text{mol}$) atau koefisien absorbansi ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi produk ($\mu\text{mol/mL}$)

Aktivitas diuji dalam campuran, kemudian :

$$\frac{C}{t} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{a \cdot b} \quad (\mu\text{mol} / \text{mL} \cdot \text{menit}) \dots\dots 2)$$

Dimana volume sampel adalah v dan V adalah volume total, sehingga :

$$\frac{C}{t} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{a \cdot b} \times \frac{V}{v} \quad (\mu\text{mol} / \text{mL} \cdot \text{menit} \text{ atau } \text{U/mL})$$

Satu aktivitas unit enzim didefinisikan sebagai transfer 1 μmol substrat permenit.⁽¹⁰⁾ Aktivitas dapat juga dinyatakan sebagai (BM = Berat Molekul Substrat)

$$\frac{C}{t} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{a \cdot b} \times \frac{V}{v} \times \text{BM} \quad (\mu\text{g} / \text{mL} \cdot \text{menit})$$

Sedangkan aktivitas spesifik enzim yaitu unit aktivitas per kadar protein enzim (C_e = kadar protein enzim dalam mg/mL) sehingga : (13)

$$\frac{C}{t} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{a \cdot b \cdot C_e} \times \frac{V}{v} \quad (U / \text{mg})$$

Untuk mendapatkan nilai aktivitas unit enzim maka digunakan rumus :

$$U/\text{mL} = \frac{C}{t} = \frac{A}{t} \times \frac{1}{a \cdot b} \times \frac{V}{v} \dots\dots\dots 3)$$

- dimana :
- A = Absorbansi
 - a = Koefisien Absorbansi atau Koefisien Ektensi Produk ($\mu\text{mol} / \text{mL menit}$)
 - b = Tebal Kuvet (cm)
 - V = Volume Total (mL)
 - v = Volume Sampel (mL)
 - t = Waktu Reaksi (menit)

2.8 Tirosinase

Tirosinase disebut juga polifenol oksidase atau fenolase (o-difenol : oksigen oksidoreduktase E.C.1.1.0.3.1) atau terkadang disebut dengan fenolase, katekol oksidase, kresolase dan katekolase. Tetapi penamaan enzim ini dengan tirosinase lebih sering digunakan karena substrat yang digunakan adalah tirosin.⁽³⁾

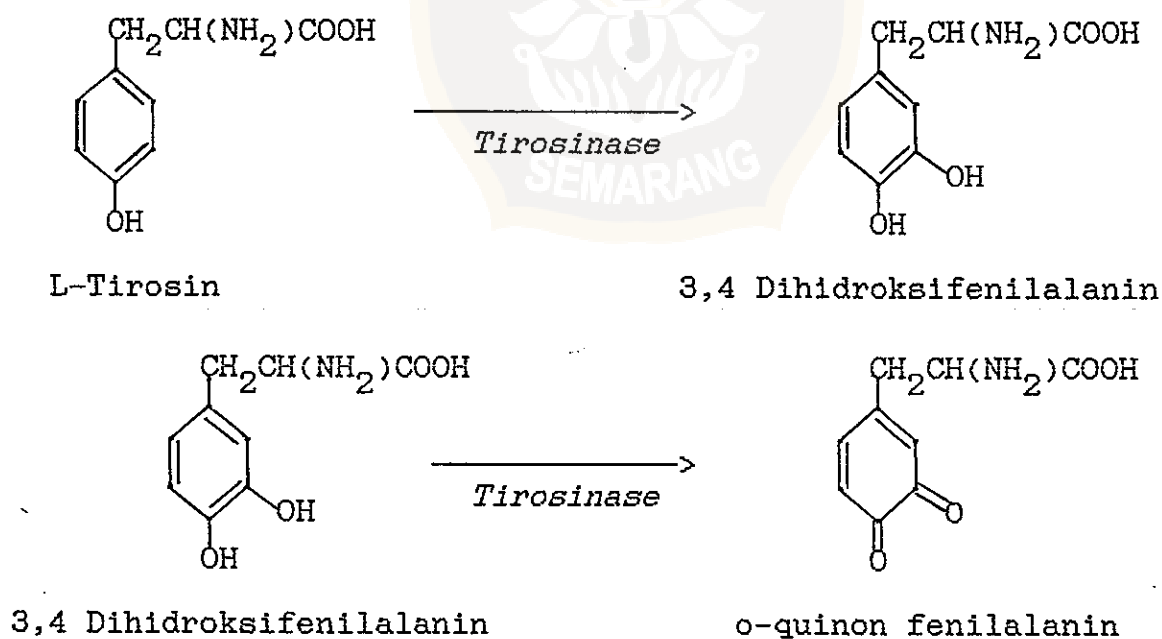
Tirosinase adalah salah satu enzim yang berperan dalam reaksi pencoklatan (browning) pada beberapa buah dan juga sayuran, seperti kentang, apel, jamur, dan pisang yang kehadirannya kurang disukai. Disamping itu tirosinase dapat mengoksidasi senyawa fenol menjadi orto quinonnya.⁽⁴⁾

Enzim ini sudah mulai dikenal sejak seratus tahun yang lalu, dan diduga banyak terdapat pada jamur, kentang, apel, nanas, alpukat dan berbagai macam buah dan sayuran yang mengalami pencoklatan dengan konsentrasi yang berlainan.⁽³⁾ Disamping pada buah-buahan dan sayuran, Tirosinase juga diduga terdapat pada sel mamalia yang terdapat pada pigmen yang memproduksi melanin pada kulit, mata dan rambut.⁽¹³⁾

Sampai saat ini Tirosinase belum banyak diketahui secara pasti sehingga penelitian tentang hal ini masih harus terus dilakukan. Beberapa sifat yang sudah diketahui diantaranya memiliki 4 atom Cu^{++} yang berasosiasi dengan sisi aktif enzim serta sangat berperan dalam proses pencoklatan pada buah-buahan dan sayuran.⁽⁴⁾

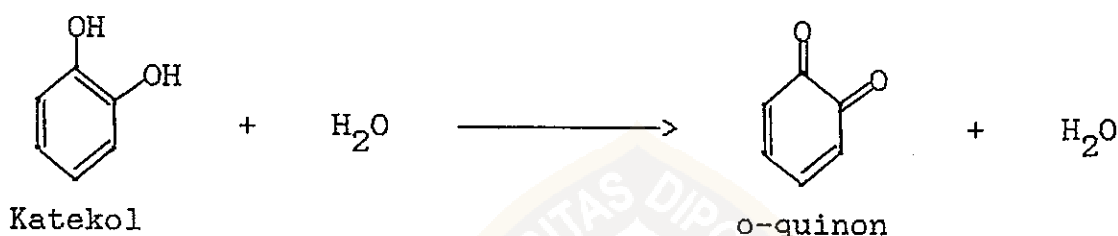
Proses pencoklatan yang terjadi pada buah dan sayuran berlangsung dengan bantuan gugus prostetik Cu^{++} pada enzim dan Oksigen dari udara. Oleh sebab itu Tirosinase termasuk ke dalam golongan oksidoreduktase dimana Oksigen sebagai akseptor Hidrogen dan mengoksidasi suatu substrat menjadi produk. Substrat yang sering digunakan adalah L-tirosin dan produknya adalah dopakrom. (3)

Tirosinase dapat terjadi pada dua tipe reaksi yaitu Fenol Hidroksilase atau Kresolase dan Polifenol Oksidase atau Katekolase. Kedua tipe tersebut dapat dijelaskan dengan reaksi L-tirosin yang merupakan senyawa fenol yang banyak dijumpai dalam sayuran dan buah-buahan yang konsentrasinya merupakan faktor penentu kecepatan pencoklatan enzimatis. Reaksinya adalah sebagai berikut : (4)



Pada reaksi kedua diikuti oleh pelepasan hidrogen untuk membentuk senyawa berwarna merah yang mempunyai cincin heterosiklik yang berasal dari rantai sisi asam amino karboksilat. Dopakrom selanjutnya mengalami polimerisasi membentuk melanin berwarna coklat.⁽⁴⁾

Katekol adalah suatu o-difenol yang mudah diserang oleh fenolase dan hanya reaksi yang dikatalisis oleh katekolase dapat ditunjukkan dengan reaksi sebagai berikut :



Pembentukan o-quinon selain tergantung oleh katekol dan H_2O tergantung pula adanya enzim tirosinase dan Oksigen. Pada saat reaksi berlangsung, maka reaksi lanjutan akan berlangsung pula secara spontan dan keadaan demikian, juga tergantung pada keberadaan tirosinase dan oksigen.⁽⁴⁾

Reaksi pertama diduga sebagai hidroksilasi sekunder o-quinon atau karena kelebihan o-difenol. Kemudian senyawa trihidroksi benzen mengalami interaksi dengan orto quinon membentuk hidroksiquinon yang kemudian akan mengalami polimerisasi dan dengan cepat dikonversi menjadi polimer berwarna merah atau merah kecoklatan yang akhirnya berubah menjadi melanin berwarna coklat.⁽⁴⁾ Seperti ditunjukkan pada mekanisme pencoklatan di halaman 23.

2.8.1 Reaksi Pencoklatan Pangan

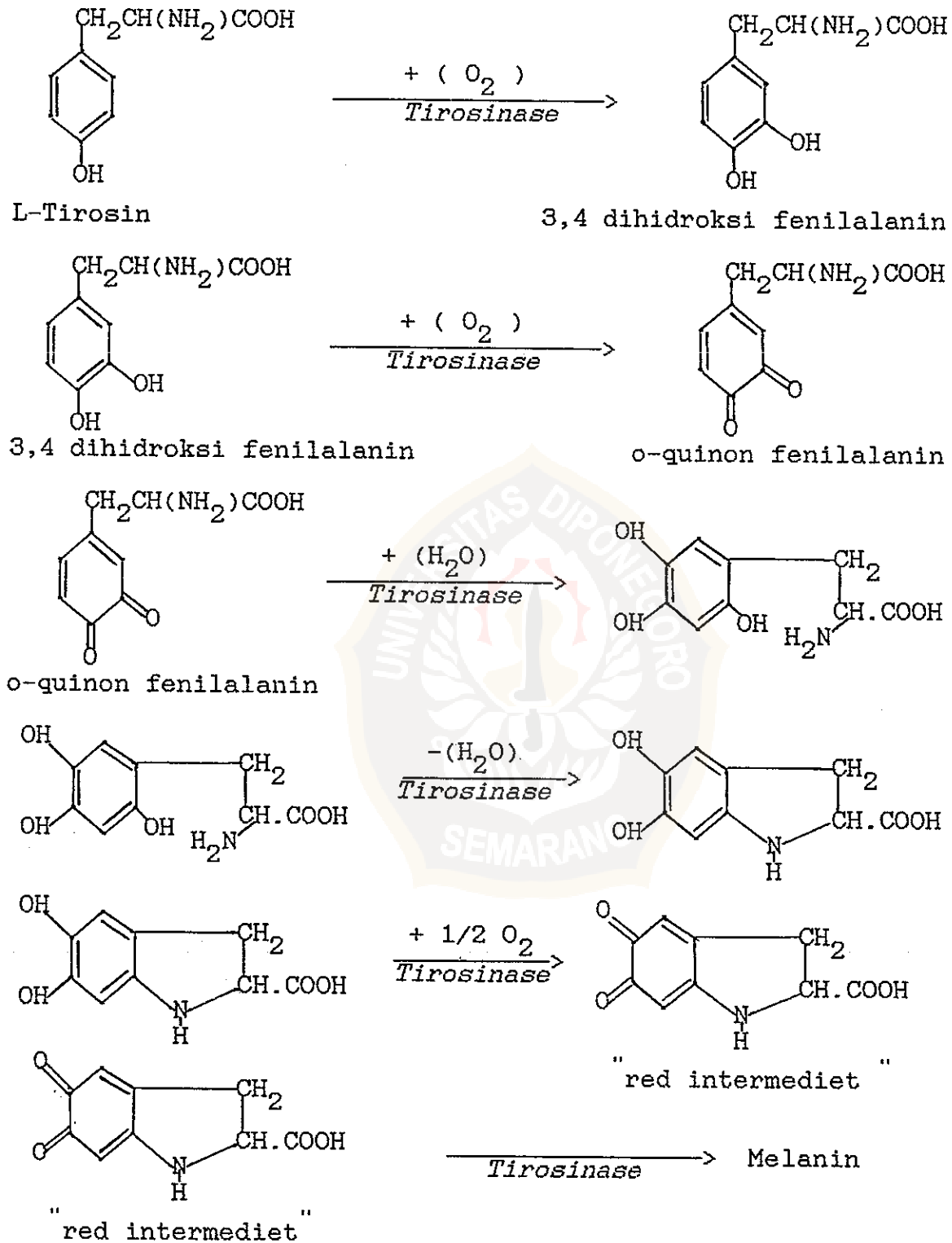
Reaksi pencoklatan pangan terjadi secara luas dengan berbagai macam bukti, misalnya pencoklatan pada bahan dasar pangan yang akan diolah atau memar karena perlakuan mekanis. Peristiwa pencoklatan semacam ini sangat penting dipandang dari sudut kenampakan, cita rasa dan nilai gizi pangan.

Berlangsungnya pencoklatan perlu dibatasi seperti pada sari buah, kentang potong dan french fries. Lebih dari itu untuk beberapa hal seperti buah, sayur, makanan beku dan kering, maka pencoklatan sama sekali tidak dikehendaki, karena akan memberikan cita rasa kurang enak dan penampilan yang jelek. Sehingga perlu diketahui secara rinci mekanisme reaksi pencoklatan, cara penghambatan dan pengendaliannya (halaman 23). Problem lain yang tidak kalah pentingnya dalam reaksi pencoklataban adalah turunnya nilai gizi pangan. (4)

2.8.2 Reaksi Pencoklatan Enzimatis

Tipe pencoklatan yang terjadi pada buah dan sayuran seperti jamur, kentang, apel dan pisang apabila bagian jaringannya memar, dipotong, dikupas, terkena penyakit, atau karena kondisi yang tidak normal. Jaringan yang memar akan cepat menjadi gelap bila kontak dengan udara atau disebabkan oleh konversi senyawa fenol menjadi melanin berwarna coklat. (4)

MEKANISME REAKSI PENCOKLATAN ENZIMATIS



2.9. Jamur Merang

Banyak istilah yang digunakan untuk menyebut fungi atau jamur, mold, supu atau mushroom yang disebut disini adalah tubuh buah berbagai basidiomicetes yang mempunyai ciri-ciri tidak berklorofil dan tubuhnya terdiri dari benang-benang hipa yang kumpulannya disebut miselium. (9)

Jamur merupakan sumber makanan yang banyak mengandung protein disamping juga karbohidrat, mineral dan vitamin yang dikonsumsi oleh masyarakat luas, sekalipun nilai gizinya masih berada dibawah daging dan telur. (13)

Komposisi jamur merang berat segar dapat dilihat dibawah ini : (14)

Tabel 3. Komposisi Jamur Merang

Kandungan	Komposisi	Kandungan	Komposisi
Kadar Air	93,3 %	Zat Besi	0,9 mg/100 g
Lemak	0,3 %	Kalsium	30 mg/100 g
Protein	1,8 %	Fosfor	37 mg/100 g
Abu	1,2 %	Vitamin C	1,7 mg/100 g

Secara alami jamur dapat tumbuh pada musim tertentu pada satu tahun. Hal ini terjadi karena ketergantungan hidupnya akan temperatur dan kelembaban tertentu. Maka menurut kemampuan hidup pada temperatur tertentu jamur merang termasuk ke dalam psikrofilik yaitu jamur yang tumbuh pada kisaran temperatur antara 0-30°C. (14)

Diantara sekian banyak spesies jamur tropika dan sub tropika adalah jamur merang (*Volvariella Volvaceae*) merupakan jamur yang paling terkenal. Jamur ini telah lama dibudidayakan sebagai bahan pangan karena spesies ini termasuk golongan jamur yang enak rasanya dan juga baik teksturnya. (14)

Menurut Sanger (1975) klasifikasi jamur merang adalah :

Divisio : Mycota	Ordo : Agaricales
Kelas : Basidiomycetes	Famili : Pluteaceae
Sub Kelas : Homo Basidiomycetes	Spesies : <i>Volvariella Volvaceae</i>

Adapun kentang disebut juga *Solanum Tuberosum* adalah tanaman iklim sedang atau sub-tropik dan daerah tinggi (1000-1500 m). Tanaman kentang memiliki kandungan protein dan diduga mengandung enzim tirosinase. (15)

Dibawah ini daftar kandungan gizi beberapa jenis makanan dan Sayuran (14)

Tabel 4. Daftar Kandungan Gizi Beberapa Jenis Makanan

No.	Jenis makanan	Protein	Lemak	Karbohidrat
		(%)	(%)	(%)
1.	Bayam	2,2	0,3	1,7
2.	Jamur merang	1,8	0,3	12-48
3.	Kentang	2,0	0,1	20,9
4.	Kubis	1,5	0,1	4,2
5.	Daging sapi	21,0	5,5	0,5