

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bromelin

Banyak varietas nanas (*Ananas comosus L*) yang termasuk dalam family *bromeliaceae* mengandung enzim proteolitik yang disebut bromelin^[3]. Enzim ini menguraikan protein dengan jalan memutuskan ikatan peptida dan menghasilkan protein yang lebih sederhana^[4].

Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan tanaman nanas. Sekitar setengah dari protein dalam nanas mengandung protease bromelin. Di antara berbagai jenis buah, nanas merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi dalam buah yang masak^[5].

2.2 Karakterisasi Bromelin^[6,7,8]

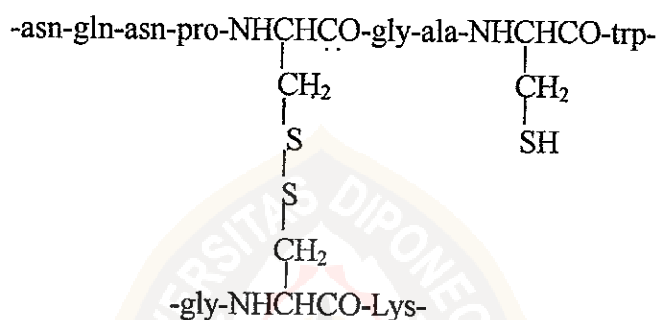
Bromelin bonggol nanas memiliki sifat-sifat sebagai berikut:

- a. Berat molekul : 33.500
- b. Titik iso elektrik : pH 9,55
- c. pH optimum : 6-8
- d. Suhu optimum : 50 °C
- e. Aktivitas spesifik : 5-10 U/mg protein
- f. Enzim bromelin mempunyai warna putih sampai kekuning-kuningan dengan bau yang khas.

2.3. Pusat Aktif Bromelin^[4]

Gugus sulfhidril merupakan pusat aktif bromelin. Pusat aktif bromelin mempunyai gugus sulfhidril yang esensial dan gugus sulfhidril lainnya membentuk jembatan disulfida yang aktivitasnya sangat lemah.

Bromelin membutuhkan gugus-SH bebas untuk mencapai aktivitas maksimal. Gugus-SH bebas pada ujung asam amino sistein (Cys), diperlihatkan pada gambar II.1.



Gambar II.1. Pusat Aktif (gugus-SH) dari bromelin

2.4. Kegunaan Bromelin

Bromelin merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan kegunaannya dalam bidang farmasi dan makanan^[5]. Guna bromelin mirip dengan papain dan ficin. Dalam tahun-tahun ini enzim bromelin lebih banyak digunakan dalam proses penjernihan bir (chillproofing bir) dan pengempukan daging^[7]. Selain itu enzim bromelin sering pula dimanfaatkan sebagai bahan kontrasepsi KB untuk memperjarang kehamilan. Ibu-ibu yang sedang mengandung tidak dianjurkan makan nanas karena dapat mengakibatkan keguguran^[9].

2.5. Isolasi Enzim

Untuk menentukan cara isolasi enzim, pertama-tama perlu mengetahui lokasi enzim di dalam sumbernya. Enzim dari jasad hidup dibagi menjadi dua macam yaitu enzim ekstraseluler dan intraseluler^[10]. Selanjutnya yang perlu digaris bawahi adalah jenis enzim serupa yang berasal dari sumber yang berbeda maka berbeda pula jumlah dan aktivitas katalitik enzim walaupun katalisasi reaksinya sama^[11].

Sebagian besar waktu yang dihabiskan dalam isolasi enzim adalah digunakan dalam uji aktivitas dengan ukuran/porsi yang berbeda-beda. Sangat dianjurkan uji aktivitas dengan cepat agar lebih akurat^[11].

Aktivitas enzim tergantung pada kondisi seperti suhu, pH dan konsentrasi. Jadi perlu secara khusus dan selalu menggunakan kondisi yang sama dalam membandingkan aktivitas enzim^[11]. Aktivitas enzim sering digunakan dalam satuan unit (U) yaitu jumlah enzim yang mengkatalisis 1 mikromol substrat per menit pada kondisi tertentu. Sedangkan kemurnian enzim dinyatakan dalam aktivitas spesifik yaitu jumlah unit per miligram protein^[12].

2.6. Denaturasi Enzim^[13]

Suhu tinggi dengan mudah memutuskan ikatan hidrogen dan sering menyebabkan denaturasi. Sedangkan selama ekstraksi dan pemurnian enzim suhu rendah hampir selalu dipertahankan untuk mencegah denaturasi. Hal ini berlaku walaupun enzim biasanya tidak mengalami denaturasi di dalam sel pada suhu tinggi.

Oksigen atau bahan pengoksidasi lainnya juga dapat mendenaturasi berbagai enzim dengan menyebabkan terbentuknya ikatan disulfida dalam rantai gugus SH sistein. Sedangkan bahan pereduksi dapat merubah struktur dengan cara sebaliknya, yakni dengan memutuskan ikatan disulfida untuk membentuk dua gugus SH.

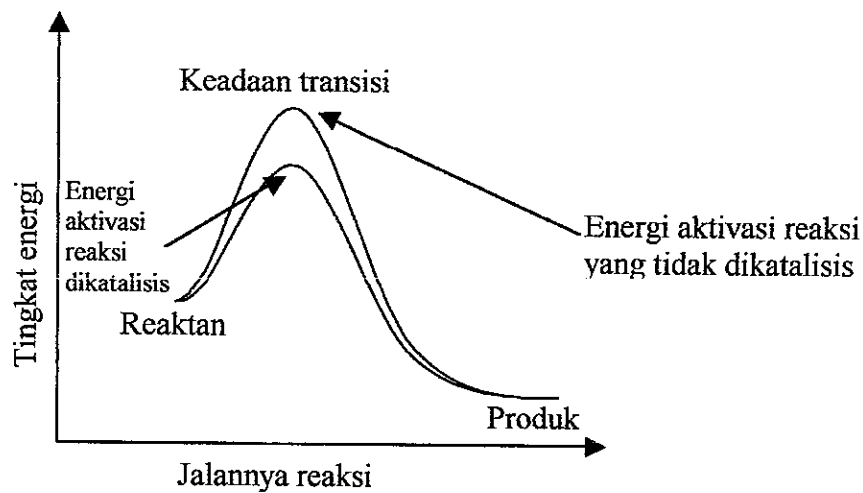
Jika struktur enzim berubah sehingga substrat tidak dapat lagi terikat dengan enzim maka aktivitas katalitik enzim akan hilang dan ini dikatakan terjadi denaturasi enzim.

2.7. Mekanisme Katalisis Enzim

Enzim sebagai katalis, walaupun jumlahnya amat sedikit tetapi mempunyai kemampuan unik untuk mempercepat berlangsungnya reaksi kimiawi tanpa enzim itu sendiri terkonsumsi atau berubah setelah reaksi selesai^[14] Enzim dan substrat bergabung menjadi kompleks yang kemudian terurai menjadi produk.

Untuk dapat diubah menjadi produk, reaktan harus menyerap cukup energi untuk mencapai keadaan transisi. Dari keadaan inilah produk dapat dihasilkan^[15].

Fungsi utama suatu enzim ialah mengurangi energi aktivasi. Hal ini ditunjukkan pada gambar II.2^[14].



Gambar II.2. Diagram energi dari reaksi yang dikatalisis dan tidak dikatalisis

Dengan tidak adanya enzim, energi aktivasi sangat besar sehingga laju reaksi sangat rendah. Sedangkan dengan adanya enzim energi aktivasi dikurangi sehingga reaksi berjalan pada laju yang dapat terukur^[15].

Sifat enzim, satu molekul enzim dapat mengkatalisis perubahan 10 sampai 1000 molekul substrat per detik. Reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh enzim seringkali berlangsung beberapa ribu sampai lebih dari satu juta kali lebih cepat dari pada reaksi-reaksi yang sama tetapi tidak dikatalisis oleh enzim^[14].

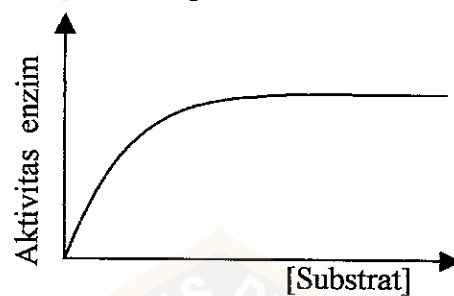
2.8. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

2.8.1 Konsentrasi Enzim^[16]

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

2.8.2 Konsentrasi Substrat

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar^[16]. Gambar II.3 menunjukkan pengaruh konsentrasi substrat pada kecepatan aktivitas enzim^[14].



Gambar II.3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

2.8.3 Suhu^[16]

Pada suhu rendah reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu yang tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Karena enzim adalah suatu protein, kenaikan suhu dapat mengakibatkan terjadinya proses denaturasi. Kenaikan suhu sebelum terjadi proses denaturasi enzim akan menaikkan kecepatan reaksi. Tetapi setelah terjadi proses denaturasi akan menurunkan kecepatan reaksi. Karena dua pengaruh yang berlawanan ini akan tercapai suatu suhu optimum.

2.8.4 pH^[16]

Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda

(zwitter ion). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk enzim substrat.

Disamping pengaruh struktur ion pada enzim, pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Ada suatu pH tertentu yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi, pH tersebut dinamakan pH optimum.

2.8.5 Inhibitor

Mekanisme enzim dalam suatu reaksi ialah melalui pembentukan kompleks enzim-substrat (E-S). Oleh karena itu hambatan atau inhibisi pada suatu reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis dapat terjadi apabila penggabungan substrat pada bagian aktif enzim mengalami hambatan. Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor^[16].

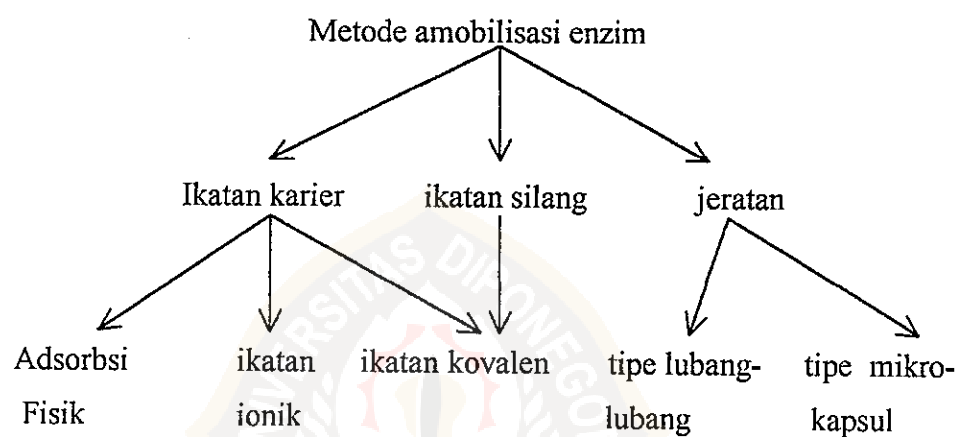
Inhibitor dibedakan menjadi 2 tipe yaitu reversibel dan nonreversibel. Inhibitor nonreversibel penyebab inaktivasi permanen pada molekul enzim. Inhibitor reversibel dapat didefinisikan ke dalam dua kategori yaitu kompetitif dan non kompetitif^[17].

2.9. Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim artinya bahwa enzim dibatasi atau terlokalisir sehingga ia dapat digunakan secara kontinyu. Masalah yang menarik agar enzim diamobilisasi jika jumlah substrat sangat besar dan enzim yang digunakan mahal^[18].

Beberapa keuntungan enzim yang diamobilisasi bila dibandingkan dengan enzim yang tidak diamobilisasi adalah enzim dapat dipisahkan dari campuran reaksi dengan cepat, produk hasil reaksi dapat diperoleh tanpa terkontaminasi enzim dan enzim yang diperoleh kembali dapat dipakai lagi beberapa kali^[19].

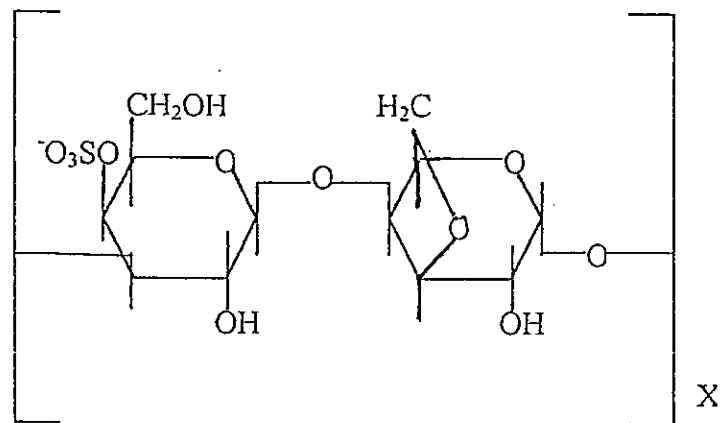
Amobilisasi enzim diklasifikasikan menjadi tipe ikatan karier, ikatan silang dan penjeratan. Klasifikasi tersebut dapat dilihat pada skema berikut ini: ^[20]



Gambar II.4. Skema metode amobilisasi enzim

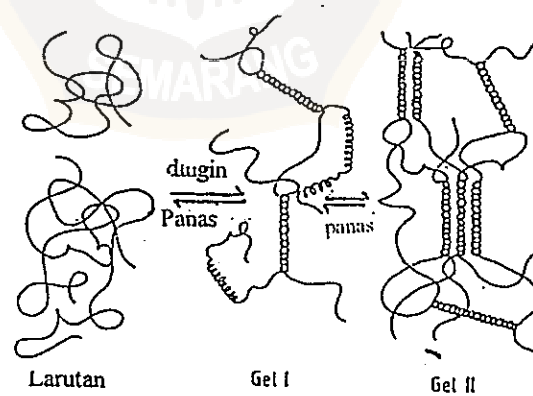
2.10. Kappa Karrageenan

Kappa Karrageenan adalah polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut . Ia mengandung β -D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhydro-D-galaktosa^[21]. Berat molekul kappa karrageenan berkisar antara 100.000-800.000^[22]. Kappa karrageenan mempunyai struktur kimia sebagai berikut: ^[23]



Gambar II.5. Struktur kappa karrageenan

Kappa karrageenan larut dalam air panas ^[24]. Pemanasan terhadap larutan kappa karrageenan menyebabkan rantai polisakarida berbentuk coil yang acak^[22]. Sedangkan pada kondisi dingin yang cocok, kappa karrageenan membentuk gel dengan bantuan penambahan kation yang khusus. Untuk mekanisme pembentukan gel dapat dilihat pada gambar II.6^[21].



Gambar II.6. Mekanisme pembentukan gel Karrageenan