

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Enzim adalah protein yang mengkatalisis reaksi biokimia (katalis merupakan suatu zat yang dapat mempercepat kecepatan khususnya dalam suatu reaksi tanpa mengalami perubahan). Sebagian besar reaksi sel-sel hidup akan berlangsung sangat lambat bila tanpa dikatalis oleh enzim ^{[7][8]}.

2.1. Tata Nama dan Klasifikasi Enzim

Pada tahun 1961, International Union of Biochemistry menggunakan rekomendasi tentang klasifikasi dan sistem tatanama enzim yang telah dibuat oleh *Enzymes Commission*. Menurut *Enzymes Commission* klasifikasi dan pembagian enzim dibagi dalam enam golongan menurut fungsi dan reaksi yang mereka katalis ^[9].

Diantaranya adalah :

2.1.1. Oksidoreduktase

Oksidoreduktase adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan. Enzim-enzim yang termasuk dalam golongan ini dapat dibagi dalam dua golongan yaitu dehidrogenase dan oksidase. ^[1]

2.1.2. Transferase

Enzim transferase adalah enzim yang ikut serta dalam reaksi pemindahan gugus, transfosforilase termasuk salah satu enzim golongan ini dan berfungsi untuk memindahkan gugus fosfat dari satu molekul ke molekul lainnya.

Sebagai contoh adalah enzim heksokinase yang dapat memindahkan gugus fosfat dari ATP kepada heksosa menghasilkan heksosa mono fosfat dan ADP ^[1].

2.1.3. Hidrolase.

Enzim hidrolase merupakan kelompok enzim yang sangat penting dalam pengolahan pangan, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat dengan pertolongan molekul air. Enzim yang termasuk dalam golongan ini antara lain lipase yang menghidrolisis ikatan ester pada lemak menjadi gliserol dan asam lemak ^[1].

2.1.4. Liase

Enzim liase adalah enzim yang aktif dalam pemecahan ikatan C-C, dan pemecahan ikatan C-O tanpa menggunakan molekul air. Sebagai contoh adalah enzim dekarboksilase yang memecah ikatan C-C ^[1].

2.1.5. Isomerase

Enzim isomerase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi perubahan konfigurasi molekul sehingga dihasilkan molekul baru yang merupakan isomer dari molekul semula, contohnya adalah fosfoheksosa isomerase. ^[1].

2.1.6. Ligase

Enzim ligase adalah enzim yang mengkatalisis pembentukan ikatan antara lain : C-O, C-C, C-S dan C-N. Sebagai contoh adalah enzim karbondioksida ligase ^[1].

2.2. Komponen Enzim

Berdasarkan hasil penelitian para ahli biokimia ternyata banyak enzim yang memiliki gugus bukan protein sehingga dapat dikatakan enzim merupakan

protein majemuk. Enzim seperti ini terdiri atas protein (apoenzim) dan suatu gugus bukan protein (kofaktor). Kofaktor ada yang terikat kuat pada protein adapula yang tidak begitu kuat ikatannya. Gugus yang terikat kuat pada protein, artinya sukar terurai dalam larutan disebut gugus prostetik, sedangkan yang tidak kuat ikatannya atau mudah dipisahkan secara dialisis disebut koenzim merupakan bagian enzim yang memungkinkan enzim bekerja terhadap substrat ^[10]. Apoenzim mempunyai sifat tidak tahan panas, sedangkan koenzim pada umumnya tahan panas. Gabungan apoenzim dan koenzim yang terikat satusama lain disebut holoenzim. ^[10]

Koenzim termasuk kofaktor, selain koenzim ada gugus prostetik dan aktivator. Gugus prostetik adalah bagian enzim yang berbentuk molekulorganik dan terikat sangat erat pada apoenzim. Sedangkan aktivator adalah berupa ion logam yang dapat mempercepat suatu reaksi misalnya : Mg, Fe, dan Cu ^[3].

2.3. Fungsi dan Cara Kerja enzim

Fungsi suatu enzim adalah sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun luar sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dari pada apabila reaksi tersebut dilakukan tanpa katalis ^[3].

Suatu enzim hanya dapat bekerja pada suatu jenis substrat saja dan untuk dapat bekerja dengan substrat harus ada hubungan antara enzim. Hubungan enzim dengan substrat hanya terjadi pada bagian tertentu saja yang dinamakan bagian aktif. Hubungan hanya mungkin terjadi apabila pada bagian yang aktif memiliki ruang yang tepat yang dapat menampung substrat. Apabila substrat mempunyai

bentuk lain, maka enzim tidak dapat berfungsi terhadap substrat tertentu. Hubungan antara enzim dengan substrat menyebabkan terjadinya kompleks enzim substrat. Kompleks ini bersifat sementara dan akan terurai lagi apabila reaksi yang diinginkan telah terjadi ^[3].

2.4. Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

2.4.1. Konsentrasi Enzim

Kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. ^[3]

2.4.2. Konsentrasi substrat

Pada konsentrasi enzim yang tepat, bertambahnya konsentrasi substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi. Tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar ^[3].

Agar dapat terjadi kompleks enzim-substrat perlu adanya kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada suatu tempat atau bagian enzim yang disebut bagian aktif. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim ini hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktifnya. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar, dan hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif telah dipenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam keadaan ini, bertambah besarnya konsentrasi substrat

tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks enzim-substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya juga tidak bertambah besar^[3].

2.4.3. Temperatur

Reaksi yang menggunakan katalis enzim juga dipengaruhi oleh temperatur. Pada temperatur rendah reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada temperatur yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Enzim adalah suatu protein, maka kenaikan temperatur dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu sehingga konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya juga akan menurun.^[3]

Kenaikan temperatur sebelum terjadinya proses denaturasi dapat meningkatkan kecepatan reaksi. Tetapi kenaikan temperatur pada saat mulai terjadinya proses denaturasi akan mengurangi kecepatan reaksi. Oleh karena ada dua pengaruh yang berlawanan, maka akan diperoleh temperatur optimum^[3].

2.4.4. Pengaruh pH

Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungan. Enzim dapat bermuatan positif, negatif, atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektifitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim-substrat. Pada pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya denaturasi, dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Suatu pH tertentu yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi disebut pH optimum^[3].

2.5. Jumlah dan Satuan Enzim

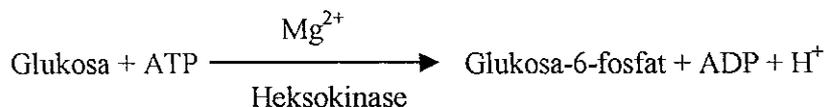
Bila dilakukan analisa, maka komposisi kimia suatu enzim baik yang masih aktif maupun yang tidak aktif ternyata sama. Karena itu kita tidak dapat menentukan keaktifan enzim hanya dengan analisis komposisi kimianya saja. Keaktifan enzim dapat ditentukan dengan reaksi kimia yaitu dengan substrat yang dapat dikatalisis oleh enzim tersebut, sehingga jumlah enzim lebih banyak dinyatakan dalam satuan atau unit enzim. ^[5]

Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai aktivitas enzim yang dapat menghasilkan sejumlah produk atau menurunkan sejumlah substrat pada keadaan optimal dari sistem tersebut. Sedangkan aktivitas spesifik didefinisikan sebagai jumlah unit per miligram protein. Untuk penentuan kadar protein digunakan metode Lowry ^[5].

2.6. Heksokinase

Heksokinase adalah suatu enzim yang pertama ditemukan oleh Mayerhoff pada tahun 1927. Heksokinase merupakan nama trivial dan mempunyai nama sistematik yaitu ATP: D-heksosa-6-fosfotransferase, ATP sebagai donor fosfat dan D-heksosa sebagai akseptor fosfat ^[11].

Heksokinase telah dapat dikristalkan dari ragi dan memiliki berat molekul 111.000 g/mol. Heksokinase yang berasal dari ragi dapat merupakan katalis pada pemindahan gugus fosfat dari ATP ke senyawa-senyawa heksosa. Dalam otak, otot dan hati terdapat enzim yang multisubstrat ini. Pemindahan gugus fosfat dari ATP pada proses pengubahan glukosa menjadi glukosa-6-fosfat adalah sebagai berikut :



Enzim heksokinase merupakan katalis dalam reaksi tersebut dan dibantu oleh ion Mg^{2+} sebagai aktivator. ATP berfungsi sebagai koenzim yang memindahkan gugus fosfat. ATP termasuk golongan senyawa berenergi tinggi. Bila ATP melepaskan satu gugus fosfat, maka berubah menjadi ADP. ^[12]

Disamping melepaskan fosfat reaksi itu berlangsung dengan melepaskan sejumlah energi yang digunakan untuk keperluan reaksi yang lain. Energi yang dibebaskan cukup besar yaitu 7.000 kal/mol ATP. Oleh karena itu ATP memegang peranan yang sangat penting dalam reaksi metabolisme karbohidrat. Dalam tubuh ATP berfungsi sebagai penyimpan energi untuk kemudian dibebaskan apabila energi tersebut diperlukan. ^[12]

Dalam enzim heksokinase satu unit didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk pembentukan 1 μ mol asam per menit pada 30 °C. Untuk enzim heksokinase, bila aktivitas enzim ditentukan pada suhu selain 30 °C maka harus dikalikan dengan faktor $2,2^{(30-T)/10}$, dimana harga Q10 adalah 2,2. Q10 adalah koefisien suhu reaksi yang diartikan sebagai kenaikan suhu 10°C ^[5].

2.7. Karbofuran

Karbofuran atau 2,2-dihidro-2,2dimetil-7benzofuranil merupakan insektisida jenis karbamat. Senyawa ini disamping digunakan sebagai insektisida juga digunakan sebagai nematisida. Karbofuran mempunyai daya larut dalam air yang sangat tinggi yaitu 700 mg/L pada suhu 25°C, sifat ini memudahkan untuk

dapat diserap oleh tumbuh-tumbuhan. Karbofuran dapat digunakan pada daun dan juga pada tanah, namun ia tidak dapat bertahan lama dalam tanah (hanya beberapa minggu saja). Karbofuran ini dikenal dengan nama dagang : furadan dan currater. Insektisida karbofuran ini digunakan untuk mengendalikan hama serangga dan nematoda pada tanaman yaitu: jeruk, teh, tomat, tembakau, kentang, cengkeh, lada, tebu dan padi ^[13].

2.8. Pemurnian Enzim

Pada umumnya metode untuk pemurnian enzim tidak berbeda dengan prinsip yang digunakan untuk pemurnian protein. Metode tersebut salah satunya adalah metode pengendapan. ^[14]

Kadar elektrolit yang tinggi pada umumnya mempengaruhi kelarutan protein, karena itu larutan garam sering digunakan untuk melarutkan beberapa jenis protein. Peristiwa itu sering disebut dengan istilah *salting in*, sebaliknya beberapa jenis larutan garam lain dapat digunakan untuk mengendapkan protein atau enzim. Proses ini disebut dengan istilah *salting out*, yang dimanfaatkan untuk isolasi enzim ^[14].

Garam amonium sulfat sering digunakan untuk pemurnian enzim, karena kelarutannya dalam air yang tinggi dan dapat mencapai konsentrasi hingga 4 M, selain itu amonium sulfat juga tidak mengganggu bentuk dan fungsi enzim ^[14].

2.9. Dialisis

Salah satu cara yang dapat dilaksanakan untuk pemurnian suatu biomolekul adalah dialisis. Dialisis digunakan untuk memisahkan molekul besar

dan kecil menggunakan membran semipermeabel (yang dapat dilewati molekul kecil tetapi menahan molekul besar). Membran yang digunakan biasanya berupa selofan atau kantong dialisis. Suatu campuran molekul besar dan kecil ditempatkan dalam sebuah kantong dialisis yang dimasukkan pada suatu pelarut dengan konsentrasi sangat rendah dibandingkan dengan konsentrasi larutan buffer didalam selofan. Molekul kecil dapat melewati membran menuju cairan diluarnya (bufer) hingga kesetimbangan tercapai.

Selama proses dialisis temperatur diatur sedemikian rupa sehingga adanya pengadukan dengan magnetik stirer yang berlangsung selama 8 sampai 10 jam tidak menaikkan temperatur. Temperatur yang meningkat dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein. Untuk mencegah peningkatan temperatur maka proses dialisis dilakukan pada temperatur dingin^[15].

2.10. Penentuan Aktivitas Enzim Heksokinase

Metode yang digunakan dalam mengukur aktivitas enzim heksokinase dalam penelitian ini adalah metode spektrofotometri. Prosedurnya berupa penentuan glukosa dengan analisa serapan sinar. Sesuai hukum lambert-beer diperoleh :

$$\log T = A = \epsilon b c$$

maka

$$c = \frac{A}{\epsilon b}$$

dimana

T = transmittan

A = absorbansi

ϵ = koefisien ekstingsi molar produk

b = tebal kuvet

c = konsentrasi

Pada pengukuran ini ϵ dan b dianggap konstant dan konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi ^[16].

Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk pembentukan produk atau berkurangnya substrat. Kadar protein enzim dihitung berdasarkan rumus persamaan garis dari kurva standar kasein. Kadar protein digunakan dalam penentuan aktivitas spesifik enzim menunjukkan jumlah unit aktivitas per milligram protein yang menggambarkan tingkat kemurnian enzim tersebut.

