

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kedelai

Kedelai sudah dikenal sejak berabad-abad yang lalu dan berasal dari Asia Timur yaitu Cina, Manchuria, Korea dan di Indonesia ditanam sejak tahun 1875^[7].

Klasifikasi botani Kedelai^[7]

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi: *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Ordo : *Leguminales*

Genus : *Glycine*

Spesies : *Glycine max*

Kedelai merupakan sumber protein nabati yang efisien, dalam arti untuk memperoleh jumlah protein yang cukup diperlukan kedelai dalam jumlah kecil.

Kedelai mempunyai nilai gizi tinggi dengan kadar protein sekitar 40 %. Kandungan asam amino yang ada dalam kedelai antara lain : isoleusin, leusin, lisin, fenilalanin, treonin, triptofan dan valin. Masing-masing kandungan asam amino tersebut tinggi kecuali metionin dan fenilalanin. Disamping itu, kedelai juga mengandung Ca, Fe, P, Vitamin A dan Vitamin B^[7].

Tabel 1. Kandungan zat-zat makanan pada kedelai^[8]

Unsur Zat	Kedelai Putih (%)	Kedelai Hitam (%)
Air	13,75	14,04
Protein	41,00	40,40
Lemak	15,80	19,30
Karbohidrat	14,85	14,10
Mineral	5,250	5,250

Tabel 2. Komposisi zat gizi kedelai^[9]

Zat Gizi	Kadar Zat Gizi per 100 g berat dapat dimakan (bdd)
Protein	40,4 g
Lemak	16,7 g
Karbohidrat	24,9 g
Serat	3,20 g
Abu	5,50 g
Kalsium	222 mg
Fosfor	682 mg
Besi	10 mg
Karotin	31 mg
Vitamin A	0 SI
Vitamin B ₁	0,52 mg
Vitamin C	0 mg
Air	12,7 g

2.2. Enzim

Dalam sel sumber, enzim terlibat dalam setiap reaksi biokimia, diantaranya konversi energi, metabolisme makanan, mekanisme pertahanan sel, oleh karena

peranan yang demikian beragam inilah enzim merupakan salah satu produk alamiah yang mempunyai potensi bioteknologi yang tinggi, serta sifatnya dapat dimanfaatkan dalam proses industri yaitu efisien, spesifitas dan kerja yang selektif^[10].

2.2.1. Penggolongan enzim

Enzim digolongkan menurut reaksi yang diikutinya, sedangkan masing-masing enzim diberi nama menurut nama substratnya. Disamping itu pula beberapa enzim yang dikenal dengan nama lama misalnya pepsin, tripsin dan lain-lain. Oleh *Commision on Enzymes of the International Union of Biochemistry*, enzim dibagi dalam 6 golongan besar^[11]. Enam golongan tersebut ialah:

1. Oksidoreduktase

Oksidoreduktase adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan. Dalam golongan enzim ini terdapat 2 macam enzim yang paling utama yaitu oksidase dan dehidrogenase. Oksidase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi antara substrat dengan molekul oksigen. Yang termasuk dalam enzim oksidase yaitu katalase, peroksidase, tironase dan enzim askorbat oksidase. Dehidrogenase adalah enzim yang aktif dalam pengambilan atom hidrogen dari substrat^[11].

2. Transferase

Enzim yang termasuk golongan ini bekerja sebagai katalisis pada reaksi pemindahan suatu gugus dari suatu senyawa kepada senyawa lain^[11].

3. Hidrolase

Enzim hidrolase yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat atau pemecahan substrat dengan pertolongan molekul air^[11].

4. Liase

Liase adalah enzim yang aktif dalam pemecahan ikatan C-C dan ikatan C-O dengan tidak menggunakan molekul air ^[11].

5. Isomerase

Enzim isomerase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi perubahan konfigurasi molekul dengan cara pengaturan kembali atom-atom dalam molekul substrat, sehingga dihasilkan molekul baru yang merupakan isomer dari substrat, atau dengan perubahan isomer posisi ^[11].

6. Ligase

Enzim yang bekerja pada reaksi-reaksi penggabungan dua molekul. Ikatan yang termasuk dalam penggabungan tersebut adalah ikatan C-O, C-N, C-S atau C-C ^[11].

2.2.2. Komponen Enzim

Enzim tersusun atas dua komponen, yaitu protein atau disebut apoenzim yang mempunyai sifat tidak tahan panas dan non protein atau disebut kofaktor yang bersifat tahan panas. Kedua komponen bergabung erat satu sama lain, gabungan apoenzim dan kofaktor disebut haloenzim, jika keduanya terpisah maka masing-masing tak dapat bekerja sendiri-sendiri, jadi kedua komponen harus merupakan satu-kesatuan. Kofaktor dibagi dalam tiga bagian:

1. Gugus prostetik

Gugus prostetik merupakan senyawa organik yang terikat kuat pada apoenzim (merupakan bagian protein).

2. Koenzim

Koenzim adalah senyawa organik yang berasosiasi dengan apoenzim bersifat sementara. Koenzim yang sama dapat menjadi kofaktor pada enzim yang berbeda.

3. Ion Logam

Pada umumnya digolongkan pada senyawa pengaktif, yang kehadirannya dapat lebih mempercepat suatu reaksi enzimatik dan tidak dikelompokkan dalam kofaktor, misalnya besi, tembaga dan magnesium^[1].

2.2.3. Fungsi dan Kerja Enzim

Fungsi suatu enzim ialah sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun di luar sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat daripada reaksi tanpa katalis.

Enzim hanya dapat bekerja pada suatu jenis substrat tertentu. Untuk dapat bekerja terhadap substrat, harus ada hubungan antara enzim dan substrat^[11].

Suatu substrat berikatan dengan bagian aktif enzim melalui suatu mekanisme yang khas. Ada 2 teori yang menerangkan mekanisme pengikatan substrat oleh enzim. Teori pertama disebut teori “kunci dan anak kunci”, yang menyatakan bahwa bentuk ruang dan konformasi bagian aktif enzim adalah khusus sedemikian rupa, sehingga molekul substrat dengan bentuk yang khusus pula dapat masuk pada bagian aktif tersebut, seperti sepasang kunci dan anak kuncinya. Teori kedua disebut teori “Induced fit”, yang menyatakan bahwa perubahan konformasi molekul enzim terjadi untuk menyesuaikan dirinya dengan bentuk molekul substrat, jadi kompleks yang terjadi antara substrat dan enzim itu disebabkan oleh induksi substrat terhadap

konformasi enzim. Dalam hal ini fleksibilitas konformasi enzim merupakan fungsi dari proses katalitik.

Aktivitas katalitik enzim juga ditentukan oleh struktur tiga dimensi molekul enzim tersebut. Denaturasi protein enzim menyebabkan hilangnya aktivitas katalitik. Sebagian enzim akan hilang aktivitasnya dengan pemecahan satu atau beberapa ikatan peptida dari rantai polipeptidanya^[12].

2.3. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim

1. Konsentrasi Enzim

Seperti pada katalisis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim^[11].

2. Konsentrasi Substrat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bertambahnya konsentrasi substrat pada konsentrasi enzim yang tetap, akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar karena 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 reaksinyapun tidak bertambah besar^[11].

3. Pengaruh Suhu

Pada umumnya semakin tinggi suhu, semakin cepat laju reaksi kimia, baik yang tidak dikatalis maupun yang dikatalis oleh enzim. Tetapi perlu diingat bahwa

enzim adalah protein, jadi semakin tinggi suhu, proses inaktivasi enzim juga meningkat^[1].

4. Pengaruh pH

Semua reaksi enzim dipengaruhi oleh pH medium tempat reaksi terjadi. Sebab itulah pada setiap percobaan dengan enzim diperlukan bufer untuk menjaga pH reaksi. Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum, yang umumnya antara pH sebesar 4,5 sampai 8,0. Di sekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Perlu diketahui bahwa enzim yang sama sering mempunyai pH optimum berbeda, tergantung asal enzim tersebut^[10].

2.4. Teknologi Isolasi

2.4.1. Ekstraksi dan Separasi

Teknik ekstraksi dan separasi pada prinsipnya mempertimbangkan beberapa hal, diantaranya: sumber enzim, jenis, sifat dan bentuk ekstrak atau preparat yang diinginkan.

Sumber enzim selalu merupakan sel hidup atau yang pernah hidup, baik hewan, tumbuhan dan mikroba. Berdasarkan fungsi hayatinya setelah disintesis oleh sel, enzim dapat berada di dalam sel melekat pada membran atau dikeluarkan dari sel, berdifusi ke lingkungannya atau diangkut ke organ lain pada makhluk bersel banyak.

Untuk pemecahan sel diperlukan cara-cara kimia dan fisika. Metode kimiawi memanfaatkan beberapa bahan kimia dan bahan hayati yang dapat melarutkan dinding sel.

Beberapa metode fisika dipergunakan untuk memecah dinding sel atau membran. Enzim yang berasal dari tumbuhan, penghancuran sel secara fisik mutlak diperlukan. Pada proses penghancuran, ditambahkan bufer atau cairan sehingga memudahkan proses ekstraksi^[10].

2.4.2. Teknik Sentrifugasi

Teknik sentrifugasi adalah teknik pemisahan yang dilakukan berdasarkan sifat partikel dalam gaya sentrifugal. Partikel yang berbeda berat jenis, ukuran dan bentuk akan mengendap searah gaya sentrifugal dengan kecepatan yang berbeda. Kecepatan tergantung pada gaya sentrifugal yang mengenai partikel searah dengan jari-jari radial ke arah yang menjauhi sumbu^[13].

2.4.3. Presipitasi

Salahsatu cara untuk menggumpalkan protein enzim adalah penggumpalan oleh garam. Ion garam yang ditambahkan mempengaruhi kelarutan protein. Pada konsentrasi rendah, ion-ion akan melingkungi molekul protein dan mencegah bersatunya molekul-molekul ini, sehingga protein melarut. Peristiwa ini disebut "*salting in*". Pada konsentrasi tinggi, terjadi peningkatan muatan listrik disekitar protein, yang menarik mantel air dari koloid protein. Interaksi hidrofobik diantara sesama molekul protein pada suasana ionik tinggi akan menurunkan kelarutan protein. Peristiwa ini disebut "*salting out*". *Salting out* dengan garam merupakan proses pemisahan yang sederhana dan murah.

Garam amonium sulfat sering digunakan, karena sifat kelarutannya dalam air yang tinggi, harganya murah dan umumnya tidak mempengaruhi struktur protein^[14].

2.4.4. Dialisis

Dialisis adalah metode pemisahan antara molekul besar dan molekul kecil menggunakan membran semipermeabel berdasarkan difusi. Membran yang digunakan berupa selofan atau kantong dialisis yang dimasukkan kedalam pelarut dengan konsentrasi lebih kecil. Molekul-molekul kecil dapat melewati membran menuju cairan diluarnya sehingga kesetimbangan tercapai^[14].

Selama dialisis, suhu diatur sedemikian rupa sehingga pengadukan dengan pengaduk magnetik sekitar 8 - 10 jam tidak menaikkan suhu, karena suhu yang tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein.

2.4.5. Penentuan Aktivitas Enzim Peroksidase

Aktivitas enzim peroksidase dalam penelitian ini ditentukan dengan metode spektrofotometri. Aktivitas enzim dihitung dengan persamaan berikut ini:

$$U = \frac{A}{t} \cdot \frac{1}{\epsilon \cdot b} \cdot \frac{V}{v}$$

keterangan: ϵ : Koefisien ekstingsi molar ($6,58 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$)^[15]

b: Tebal kuvet (1 cm)

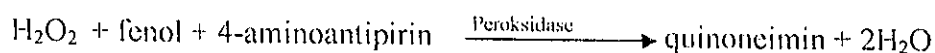
V: Volum total (5 mL)

v: Volum sampel (0,1 mL)

t: Waktu reaksi (5 menit)

U: Unit aktifitas

Dalam reaksi kimia, H_2O_2 akan bereaksi dengan fenol dan 4-aminoantipirin. Adanya peroksidase akan menghasilkan quinoneimin dengan intensitas warna yang terbentuk pada panjang gelombang $510 \text{ nm}^{[16]}$. Reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut:



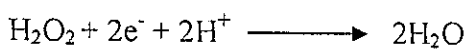
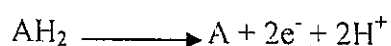
Aktivitas peroksidase dipengaruhi oleh banyaknya quinoneimin yang terbentuk sehingga aktivitas peroksidase berhubungan linier dengan intensitas warna yang terbentuk. Intensitas warna diukur dengan spektrofotometer.

Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai aktivitas enzim untuk mengubah satu mikromol hidrogen peroksida pada waktu inkubasi tertentu. Aktivitas spesifik enzim dinyatakan sebagai perbandingan unit aktivitas dengan kadar protein. Kadar protein dihitung berdasarkan rumus persamaan garis dari kurva standar kasein.

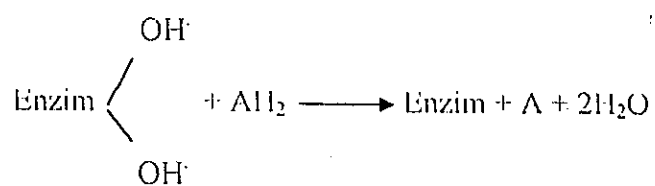
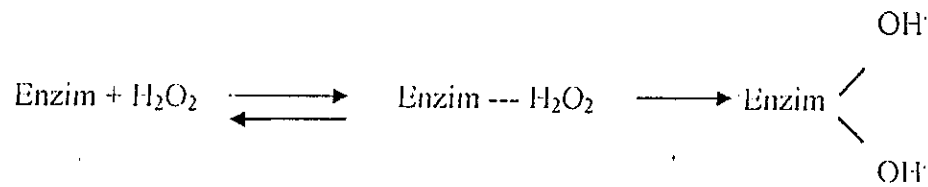
2.5. Peroksidase

2.5.1. Sifat Katalitik Peroksidase^[4]

Peroksidase termasuk golongan enzim oksidoreduktase, yang mengkatalisis proses reduksi dari hidrogen peroksida oleh donor hidrogen (ditunjukkan sebagai AH_2)



2.5.2. Mekanisme Kerja Enzim Peroksidase



Peroksidase membentuk kompleks dengan hidrogen peroksida, kemudian pecah menjadi dua radikal hidroksi. Pengambilan dua hidrogen dari donor hidrogen terjadi berurutan, sehingga terbentuk produk.

