

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim Peroksidase

Enzim adalah senyawa protein yang dapat mengkatalisis reaksi kimia dalam sistem biologis makhluk hidup. Menurut deMan (1989) enzim merupakan komponen tambahan (minor) yang berperan dalam berbagai kasus perubahan mutu makanan. Salah satu enzim yang berperan dalam bidang pangan adalah enzim peroksida. Enzim peroksida mampu memperpanjang masa simpan bahan pangan (Al-Baarri *et al.*, 2015) dan mampu meningkatkan kandungan antioksidan pada teh (Cahyana *et al.*, 2006). Menurut Marganingsari (2003) enzim peroksida adalah enzim golongan oksidoreduktase yaitu enzim yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan. Golongan ini dibagi lagi menjadi 2 sub golongan yaitu enzim oksidase dan dehidrogenase. Peroksidase merupakan enzim oksidase yaitu enzim yang dapat mengkatalisis reaksi antara substrat dengan molekul oksigen. Enzim dapat bekerja pada satu jenis substrat tertentu (spesifik) (Gardjito, 2014). Sifat enzim ini disebut dengan sifat spesifik (spesifitas 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 menjadi H_2O dan O^- (deMan, 1989). Penelitian Al-Baarri *et al.*, menunjukkan bahwa peroksidase jika dikombinasikan dengan H_2O_2 dan SCN^- akan menghasilkan senyawa *Hypothiocyanite* ($OSCN^-$). Senyawa

ini dapat digunakan sebagai antimikroba alami yang dapat digunakan sebagai pengawet bahan pangan.

Enzim peroksidase dapat disintesis dari berbagai sel-sel tanaman, jaringan hewan dan jamur-jamuran (Balasubramanian dan Boopathy, 2013). Peroksidase menyebar luar dalam jaringan tanaman. Enzim ini berperan dalam perkembangan dan senesens jaringan tumbuhan. Beberapa peran tersebut antara lain dalam proses biogenesis etilena, peroksidase mengatur pematangan, penguraian klorofil dan oksidasi asam indol-3-asetat (Nagle dan Haard, 1975). Beberapa jenis peroksidase konvensional yang berasal dari tanaman antara lain pada tanaman lobak (*horseradish*), kedelai, cengkeh dan bonggol jagung (Ilmi dan Kuswytasari, 2013).

2.2. Daun Tomat

Tomat adalah tanaman yang banyak ditemukan hampir diseluruh dunia. Tanaman yang mempunyai nama latin *Lycopersicon esculentum Mill* tersebar ke sebagian besar benua Amerika, Eropa dan juga Asia. Tanaman tomat berdasarkan klasifikasi taksonomi tergolong dalam Kingdom *Plantae*, Divisi *Spermatophyta*, Subdivisi *Angiosperma*, Klas *Dicotylodenae*, Ordo *Tubiflorae* Sub ordo *Myrtales*, Famili *Solanaceae*, Spesies *Lycopersicon esculentum Mill* (Pratiwi, 2009).

Organ tanaman tomat terdiri dari buah, daun, batang, akar. Organ tanaman yang sering dimanfaatkan adalah buah tomat. Selain dikonsumsi langsung, buah tomat juga biasa dijadikan sebagai jus dan sayuran. Organ lain seperti daun tomat jarang dimanfaatkan lebih lanjut dan terkadang hanya menjadi limbah pasca panen. Daun tomat mengandung banyak zat dan senyawa yang sangat bermanfaat

sebagai produk pengawetan. Pengembangan terakhir, daun tomat digunakan sebagai pestisida pada tanaman karena mengandung senyawa fungisida yang mampu mengatasi serangan jamur pada tanaman (Yasa *et al.*, 2012). Selain mengandung senyawa fungisida, daun tomat juga mengandung enzim peroksidase dan hidrogen peroksida (H_2O_2), dimana senyawa tersebut dapat diubah menjadi hipotiosianat ($OSCN^-$) yang mempunyai aktivitas antimikrobia (Al-Baari *et al.*, 2015). Senyawa antimikrobia tersebut dapat dijadikan salah satu alternatif pengawetan bahan pangan dengan memanfaatkannya sebagai agen antimikrobia. Penelitian Al-Baarri, menyatakan bahwa senyawa antimikroba ($OSCN^-$) dari enzim peroksidase susu, yang disebut *Lactose Peroxide System* mampu dengan efektif melawan mikroorganisme yang ditemukan dalam jus sayuran.

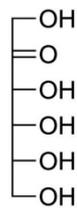
2.3. D-psikosa dan L-psikosa

Jenis substrat yang ada dalam reaksi enzim akan berpengaruh terhadap kecepatan dan nilai aktivitas enzim (Purich, 2010). Enzim memiliki ciri khas yang unik dimana hanya dapat bereaksi dengan substrat tertentu. Beberapa substrat dapat mengganggu jalannya reaksi kimia dalam enzim atau biasa disebut dengan inhibitor. Gula merupakan salah satu substrat yang dapat menjadi inhibitor dalam reaksi enzim. Penggunaan gula dalam pembuatan bahan pangan tidak dapat dihindari lagi, hal ini dikarenakan setiap bahan pangan memiliki kandungan karbohidrat. Menurut Al-Baarri *et al.* (2011) dalam penelitiannya tentang aktivitas antimikrobia pada LPO sistem, monosakarida dan disakarida dengan jelas menghambat aktivitas antimikrobia LPO sistem terhadap *Salmonella* Enteridis. Hasil ini menunjukkan bahwa molekul gula berinteraksi dengan rongga *heme* yang

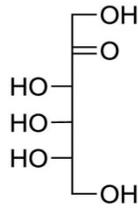
secara fisik menutup bagian ikatan substrat, yang kemudian akan mencegah interaksi enzim dengan substratnya yaitu hidrogen peroksida (Al-Baarri *et al.*, 2011). Pengujian pengaruh inhibisi gula dilakukan menggunakan spektrofotometer untuk mendapatkan nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi dan jenis gula.

Gula mempunyai berbagai macam jenis yang terdapat dipasaran. Gula merupakan karbohidrat dan turunannya yang mempunyai fungsi sebagai bahan tambahan pangan. Penggunaan gula pada produk makanan merupakan hal yang penting bahkan wajib tersedia untuk memperkuat nilai organoleptik produk. Sebagai salah satu sumber kalori gula dapat meningkatkan stamina tubuh. Konsumsi 1 g gula (karbohidrat) menghasilkan 4 kalori menjadikan gula sebagai sumber energi yang cukup efektif (deMan, 1989). Namun seiring dengan gaya hidup masyarakat yang mengkonsumsi makanan berbasis gula secara berlebihan (*overconsumption*) dan tidak seimbang, muncul berbagai macam penyakit yang menyertai, salah satunya adalah Diabetes Melitus. Penyakit tersebut adalah salah satu penyakit penyebab kematian terbesar di dunia (Hossain *et al.*, 2015). Pada penderita Diabetes Melitus kondisi persentase kadar gula dalam darah terlalu tinggi dan tubuh tidak mampu untuk mensekresi insulin. Penyakit ini menyebabkan komplikasi jangka lama seperti penyakit pembuluh darah, kegagalan ginjal hingga kebutaan (Nindyasari, 2010). Meskipun sebagian besar dipengaruhi oleh faktor genetik namun gaya hidup dan pola makan juga turut menentukan terjadinya penyakit ini. Oleh karena itu diperlukan produk pengganti gula konvensional yang diharapkan tidak hanya dapat menambah rasa namun juga dapat memberikan efek kesehatan.

Berdasarkan alasan tersebut dikembangkan produk *rare sugar* oleh para peneliti di Universitas Kagawa, Jepang. *Rare sugar* merupakan monosakarida dan turunannya yang jarang ditemukan di alam bebas (Li *et al.*, 2013). Penggunaan *rare sugar* merupakan salah satu inovasi yang dapat mengatasi penyakit Diabetes Melitus yang banyak diderita oleh masyarakat saat ini. *Rare Sugar* selain sebagai bahan tambahan pangan, produk ini juga mempunyai fungsi yang spesifik untuk mencegah seperti Diabetes Melitus tipe 2 dan Kanker (Mizobhuci dan Nisihihara, 2009; Hossain *et al.*, 2015). Terdapat berbagai macam jenis *rare sugar*, salah satu yang sering digunakan pada industri pangan adalah Psikosa. Jenis *rare sugar* ini banyak digunakan pada industri makanan dan minuman, seperti industri roti dan biskuit. Pemilihan Psikosa dikarenakan gula ini merupakan salah satu jenis *Rare Sugar* yang mempunyai komposisi yang mirip dengan gula konvensional (disakarida) namun memiliki kalori yang sangat rendah (Al-Baarri *et al.*, 2010). Psikosa sendiri mempunyai dua jenis yang berbeda yaitu D-psikosa dan L-psikosa. Perbedaan kedua jenis ini didasarkan pada struktur gula itu sendiri. Ilustrasi struktur D-psikosa dan L-psikosa dapat dilihat pada Ilustrasi 2 dan Ilustrasi 3.



Ilustrasi 2. Rumus bangun D-psikosa (Li *et al.*, 2013)



Ilustrasi 3. Rumus bangun L-psikosa (Li *et al.*, 2013)

Walaupun memiliki struktur yang hampir sama, kedua gula ini mempunyai karakteristik yang berbeda jika direaksikan dengan zat lain. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut ketika kedua jenis gula tersebut direaksikan kedalam reaksi enzimatik dengan enzim peroksidase dari daun tomat (Al-Baarri *et al.*, 2010).

2.4. Kinetika Enzim

Proses katalisasi suatu substrat oleh enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, suhu, pH dan konsentrasi substrat (Purich, 2010). Kecepatan reaksi katalisasi pada suatu konsentrasi substrat tertentu akan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi enzim. Konsentrasi enzim dinyatakan dalam satuan unit (U). Semakin tinggi suhu maka semakin cepat laju reaksi kimia, namun semakin tinggi suhu juga meningkatkan inaktivasi enzim yang bekerja karena enzim merupakan protein yang mudah terdenaturasi oleh suhu tinggi (Purich, 2010). Nilai pH optimum enzim untuk bekerja adalah 4,5-8,0 sehingga diperlukan buffer untuk menjaga stabilitas enzim. Konsentrasi substrat berpengaruh terhadap kecepatan reaksi kimia enzim (Kharatmol dan Pandit, 2010). Kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat.

Pada konsentrasi substrat yang rendah kecepatan reaksi juga akan rendah, namun akan bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi awal akan meningkat dengan nilai yang semakin kecil seiring dengan penambahan konsentrasi substrat. Pada akhirnya kecepatan reaksi akan meningkat dengan sedemikian kecil hingga mendekati garis maksimum (V_{max}) seiring dengan penambahan konsentrasi (Purich, 2010). Pada batas ini enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat berfungsi dengan cepat. Peneliti Michaelis dan Menten menentukan suatu tetapan yang disebut K_m yang menyatakan hubungan yang tepat diantara konsentrasi substrat dan kecepatan reaksi enzimatik. Secara sederhana, nilai K_m atau tetapan Michaelis-Menten adalah konsentrasi substrat tertentu pada saat enzim mencapai setengah kecepatan maksimumnya (Purich, 2010). Persamaan Michaelis-Menten merupakan dasar bagi aspek kinetika enzim, jika nilai K_m dan V_{max} dapat diketahui, kecepatan reaksi suatu enzim pada setiap konsentrasi dapat dihitung. Berikut ini adalah rumus dasar Michaelis-Menten untuk mengetahui aktivitas kinetik enzim:

$$V_o = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Keterangan :

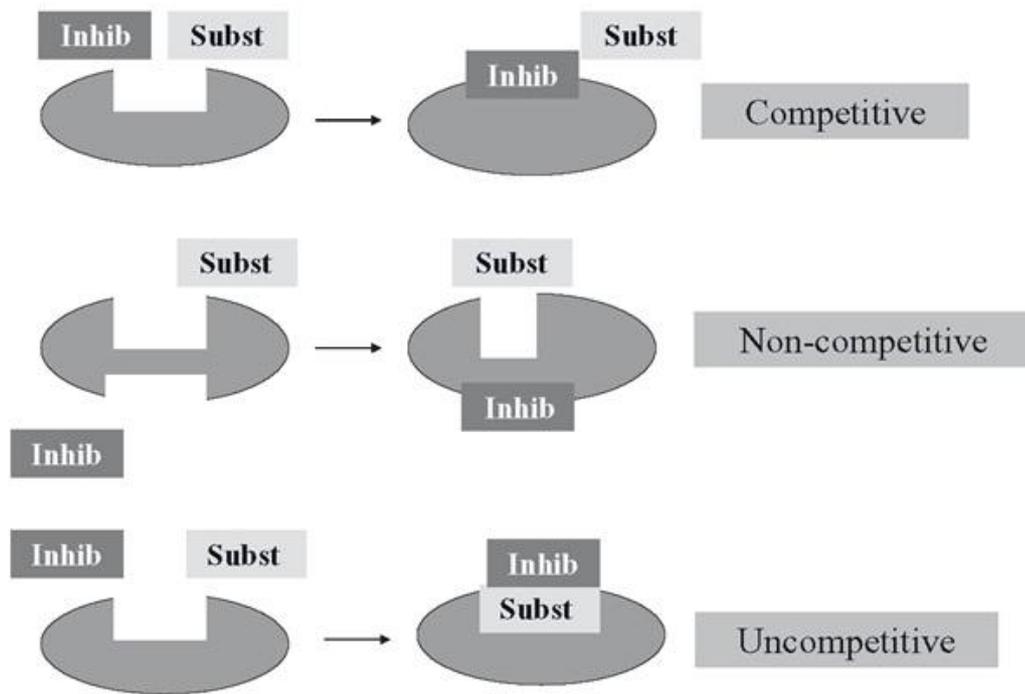
V_o = kecepatan awal pada konsentrasi substrat[S]

V_{max} = kecepatan maksimum pada reaksi enzim

K_m = tetapan Michaelis-Menten bagi substrat tertentu

Reaksi enzimatik yang terjadi antara enzim dan substrat menganut sistem *lock and key*. Sistem *lock and key* adalah mekanisme reaksi enzim dengan substrat

dimana sisi aktif enzim akan menempel dengan sisi substrat sehingga reaksi katalis dapat terjadi. Reaksi enzimatik tidak selamanya berjalan dengan baik, terkadang terdapat berbagai substrat yang dapat mengganggu terjadinya reaksi atau biasa disebut dengan substrat inhibitor (Purich, 2010). Hal ini terjadi karena sisi aktif pada enzim tertutup oleh substrat pengganggu sehingga substrat yang seharusnya bereaksi dengan enzim tidak dapat bekerja secara maksimal. Li dan Lu (1998) menjelaskan bahwa terdapat 3 jenis Inhibitor enzim terdapat 3 jenis yaitu inhibitor kompetitif, inhibitor non-kompetitif dan inhibitor *uncompetitive*. Inhibitor kompetitif adalah zat pengganggu yang secara tipikal mirip dengan substrat asli dan dapat langsung berikatan dengan sisi aktif enzim. Ketika berikatan inhibitor jenis ini mencegah berikatannya sisi aktif enzim dengan substrat. Mekanisme inhibitor kompetitif dapat dilihat pada Ilustrasi 4. Inhibitor non-kompetitif adalah zat pengganggu yang tidak berkompetisi dengan sisi aktif enzim, terlepas sisi aktif enzim berikatan dengan substrat ataupun tidak. Inhibitor tipe non-kompetitif ini berikatan dengan sisi lain enzim (*allosteric*) yang berbeda dengan sisi aktif enzim saat berikatan dengan substrat. Mekanisme inhibitor kompetitif dapat dilihat pada Ilustrasi 4. Inhibitor *uncompetitive* merupakan zat pengganggu yang akan berikatan dengan sisi *allosteric*, dimana sisi ini akan muncul ketika reaksi antara sisi aktif enzim dan substrat telah terjadi. Enzim akan berubah bentuk sehingga inhibitor dapat mengikat enzim pada kompleks enzim-substrat dan menghambat aktivitasnya. Mekanisme inhibitor *uncompetitive* dapat dilihat pada Ilustrasi 4.



Ilustrasi 4. Mekanisme inhibitor *Competitive*, *Non-competitive* dan *Uncompetitive* (Lin dan Lu, 1998)