

PENENTUAN AKTIVITAS SPESIFIK HEKSOKINASE DARI LIMBAH ANGGUR PISANG BIJI.

Wuryanti, Ining Indriani, Debora Agustina
Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Diponegoro Semarang 50275

ABSTRAK

Heksokinase termasuk enzim yang berperan dalam mengkatalisis transfer gugus fosfat dari adenosin tri fosfat ke glukosa dengan melepaskan satu hidrogen sebagai asam. Penentuan aktivitas spesifik heksokinase dari limbah anggur pisang biji telah dilakukan. Unit aktivitas heksokinase ditentukan dengan metode Wajzer, kandungan protein ditentukan dengan metode Lowry. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar heksokinase mempunyai aktivitas spesifik 270,48. Dapat disimpulkan bahwa aktivitas spesifik ekstrak kasar tersebut lebih tinggi dari pada ekstrak kasar limbah industri alkohol.

Kata kunci: heksokinase, aktivitas spesifik.

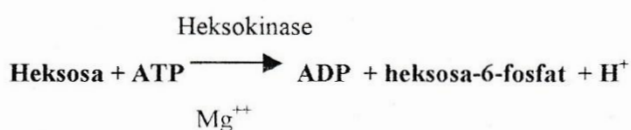
ABSTRACT

Hexokinase is a transferase enzyme which has a function to catalyze the transfer of one phosphate group from adenosine tri phosphate to glucose with liberation of one hydrogen equivalent of acid. Determination of specific activity of hexokinase from wild banana has been carried out. Activity unit of hexokinase determination with Wajzer method, protein content with Lowry method. The result showed crude extract have specific activity 270,48 from wild banana. It is concluded that specific activity of crude extract from wild banana can be categorized higher than from waste product of alcohol industry.

Kata kunci: hexokinase, specific activity.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis, kaya akan sumber enzim seperti hewan, tumbuh-tumbuhan dan mikrobial. Dari ketiga sumber tersebut, mikrobial merupakan sumber utama yang dapat tumbuh dimana-mana. Dibanding jamur, khamir dan bakteri, ternyata penyebaran khamir lebih sempit, selain dalam tanah dan air, sering pula ditemukan di kebun buah-buahan, beberapa tempat atau bagian tanaman tertentu (cairan buah, permukaan buah, bunga, madu, sari buah, cairan yang mengandung gula ataupun serangga)⁽¹⁾. Heksokinase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis reaksi:



Reaksi ini terjadi di dalam semua organisme karena merupakan reaksi penting tahap awal metabolisme glukosa.⁽²⁾ Heksokinase merupakan enzim intra selular sehingga untuk mendapatkannya perlu dilakukan pemecahan dinding sel.⁽³⁾ Heksokinase yang diperoleh pada mulanya mempunyai kemurnian yang rendah sehingga aktivitasnya juga rendah. Akan tetapi setelah mengalami pemurnian dapat diperoleh heksokinase dengan aktivitas yang lebih tinggi.⁽⁴⁾

Satu unit didefinisikan sebagai 1 mikromol heksosa-6 fosfat yang dihasilkan dalam 1 menit,⁽⁵⁾ dimana 1 unit ditunjukkan dengan adanya perubahan serapan sebesar 0,035. Prinsip penentuan disini dengan prinsip deteksi secara fotometri dengan adanya indikator asam basa metode Wajzer.

Heksokinase dapat diisolasi dari otak tikus (rat brain), jantung hati babi dan khamir. Pada pembuatan anggur, produk anggur diperoleh sebagai supernatan sedangkan endapannya sebagai limbah. Limbah tersebut mengandung khamir sehingga di dalamnya terdapat heksokinase

Pentingnya penelitian ini dilakukan adalah bahwa ekstrak kasar enzim hasil isolasi dari limbah pabrik anggur mempunyai aktivitas yang rendah sedangkan semakin tinggi aktivitas suatu enzim semakin tinggi nilai ekonominya karena semakin efektif dalam penggunaannya sebagai biokatalis. Oleh karena itu diupayakan suatu sumber enzim dengan aktivitas tinggi. Di dalam penelitian ini dipilih sebagai sumber enzim adalah limbah anggur yang didapat dari pisang biji.

METODOLOGI PENELITIAN

Sampel.

Pisang biji didapat dari pasar.

Bahan.

Semua bahan yang digunakan, memiliki tingkat kemurnian p.a. (proanalisis) kecuali aquades.

Alat.

Timbangan elektrik (Mettler AT 200), sentrifuga (centrifug-228), pH-meter, inkubator (Hammett), lemari pendingin (Sharp), spektrofotometer Uv-Vis (Shimadzu-1201), peralatan gelas.

Eksperimen.**Penyediaan ekstrak kasar.**

Limbah anggur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit pada 4 °C. Kemudian endapan dipisahkan. Endapan sebanyak 33,3 g disuspensi dengan 100 mL Na₂HPO₄ 0,2 M kemudian campuran di inkubasi selama 3 jam. Campuran disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya ekstrak kasar dipisahkan.

Uji aktivitas heksokinase.

Sebanyak 2,5 mL larutan uji ditambah dengan 0,4 mL larutan glukosa 0,2 M dan 0,1 mL enzim lalu diinkubasi selama 30 menit pada 30 °C. Kemudian diukur absorbansinya pada 560 nm dan ditentukan pula absorbansi dimana 0,1 mL enzim diganti dengan 0,1 mL HCl 0,00655 M

Penentuan kadar protein dengan metode Lowry.

Sebanyak 0,6 mL larutan sample ditambahkan 3 mL Lowry C diinkubasikan selama 20 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 0,3 mL larutan folin dengan cepat dan didiamkan selama 45 menit pada suhu kamar dengan sesekali digojog. Campuran diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dari kasein dengan menggunakan spektrofotometer.

PEMBAHASAN

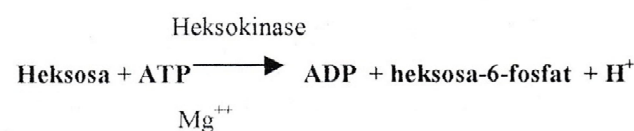
Anggur atau minuman yang mengandung alkohol dapat dibuat dari bahan-bahan yang mengandung karbohidrat berupa gula, pati dan sebagainya. Sebagai contoh molase, sari buah, gula tebu, kentang dan tapioka. Buah pisang bila difermentasi akan diperoleh minuman segar yang disebut anggur. Anggur tersebut diperoleh karena perasan buah pisang yang mengandung gula tersebut akan dirombak oleh khamir menghasilkan alkohol dan gas karbon dioksida. Khamir yang aktif dalam perombakan

tersebut adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Anggur berupa supernatan sedangkan endapannya disebut sebagai limbah anggur yang mengandung banyak *Saccharomyces cerevisiae*. Limbah tersebut dimanfaatkan sebagai bahan penelitian untuk memperoleh heksokinase.

Heksokinase merupakan enzim intra seluler sehingga untuk memperolehnya harus dilakukan dengan memecah dinding sel.⁽²⁾ Hal ini dapat dilihat bahwa aktivitas spesifik pada supernatan hasil isolasi sangat rendah. Pada penelitian disini pemecahan dinding sel dilakukan secara kimiawi yaitu menggunakan larutan Na₂HPO₄ 0,2 M dan diinkubasi pada 37 °C. Supernatan yang diperoleh disebut sebagai ekstrak kasar heksokinase.

Kemurnian enzim ditentukan oleh tinggi rendahnya aktivitas spesifik enzim. Semakin tinggi semakin murni. Aktivitas spesifik adalah nilai yang diperoleh dari perbandingan antara unit aktivitas terhadap kadar protein. Aktivitas enzim ditentukan dengan metode Wajzer dan penentuan kadar protein dengan metode Lowry.

Prinsip deteksi secara fotometri dengan adanya indikator asam basa metode Wajzer adalah :



Reagen uji atau reagen Wajzer yang mengandung ion Magnesium, ATP, indikator asam basa (kresol merah), semula berwarna pink pada pH 9. Setelah bereaksi dengan heksosa dan dikatalisis dengan heksokinase, larutan akan mengalami perubahan warna berangsur-angsur ke arah warna kuning sebab kondisi larutan berubah menjadi asam. Sesuai dengan indikator yang dipakai yaitu kresol merah yang mengalami perubahan oranye menjadi purple pada pH 7-8,8 sehingga semakin banyak H⁺ yang dihasilkan, perubahan warna semakin nyata ke arah kuning. Aktivitas enzim ekstrak kasar yang telah mengalami pengenceran 100 kali 0,284 unit/mL.

Kadar protein ditentukan dengan metode Lowry karena metode ini cukup sensitive dibanding dengan beberapa metode penentuan kadar protein lainnya. Walaupun metode ini kurang sensitive jika

dibandingkan dengan metode Bradford. Namun demikian metode Lowry banyak dipakai orang sebab metode tersebut memberikan hasil yang cukup akurat. Adapun kadar protein ekstrak kasar adalah 0,105 sehingga aktivitas spesifik ekstrak kasar heksokinase adalah 270,48.

KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilakukan dapat dikemukakan beberapa kesimpulan sbb:

1. Heksokinase dapat diisolasi dari limbah anggur pisang biji.
2. Ekstrak kasar heksokinase yang diperoleh mempunyai aktivitas spesifik 270,48.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada yang terhormat:

1. Ibu Dra. Taslimah MSi, atas segala saran yang amat berguna.
2. Sdr Ining Indriani dan Debora Agustina atas bantuannya dalam pengambilan data.
3. Semua pihak yang tidak dapat kami sebut satu persatu atas sumbangsih yang telah diberikan, baik berupa saran penelitian, penyusunan laporan penelitian maupun penyusunan artikel ini.

Semoga semua budi baik tersebut terbalas olehNya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wuryanti, "Pembuatan Preparat Heksokinase untuk Keperluan Penentuan Kadar glukosa dalam sample", tesis Pasca Sarjana, ITB Bandung, 1994, 1,2,5-7.
2. Lehninger, "Principles biochemistry" a.b. Maggy Thenawidjaja, Fakultas Pangan Dan Gizi, IPB, Erlangga Jakarta; 1988; 143, 209, 210, 238, 244, 269, 276.
3. Wiseman A, "Topics in Enzyme and Fermentation Biotechnology 9", John Wiley And Sons, New York, 1984, 120.
4. Ritzman M. "Metodologi Isolasi dan Aktivitasnya", PAU Bidang Ilmu Hayati ITB Bandung, 1991; 34-44.
5. Colowich, Sidney P. and Kaplan N.O. "Methods in Enzymology"; Academic Press 2C, Publisher, New York Vol. V, 1962; 226-235.
6. Fuhermann GF Vohler H. "Regulation of Glucose transport in *Saccharomyces cereviciae*, Journal of Biotechnology"; 1992; 1-15.