

PENGGUNAAN KARAGENAN DARI RUMPUT LAUT (*EUCHEMA COTONII*) SEBAGAI BAHAN PENDUKUNG (*SUPPORT*) PADA AMOBILISASI ENZIM PAPAN.

Wuryanti

Staf Pengajar Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Diponegoro

ABSTRAK—Untuk menjaga kestabilan enzim hasil isolasi dilakukan amobilisasi enzim dengan metode penjeratan pada karagenan. Pada metode ini enzim dijerat oleh karagenan yang berfungsi sebagai matriks pendukung. Hasil amobil mengalami perubahan kondisi optimum. Sebelum dilakukan amobilisasi enzim papain memiliki pH optimum sebesar 5,0 dan suhu optimum sebesar 35 ° C, amobilisasi enzim memiliki pH optimum 6,0 ; suhu optimum 41°C dan aktifitas spesifik enzim amobil dapat dipertahankan hingga pemakaian dua kali.

Kata kunci :Karageenan, Support, Amobilisasi, Aktivitas spesifik.

ABSTRACT—*To maintain stability of enzyme that isolation resulted, performed immobilization of enzyme by entrapment method on carrageenan. On this method enzyme is entrapped by carrageenan as support matrix. Immobilized enzyme had optimum condition changes. Before immobilization papain have optimum pH 5.0 and optimum temperature 35 °C, after immobilization enzyme have optimum pH 6.0 and optimum temperature 41 °C and immobilized enzyme stability maintained to twice utilization.*

Key words : Carrageenan, Support, Amobilization, Spesific activity

PENDAHULUAN

1. Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim dapat dianggap sebagai perubahan enzim dari larutan dalam keadaan 'bergerak' menjadi keadaan 'tak bergerak' yang tidak larut. Amobilisasi mencegah difusi enzim ke dalam campuran reaksi dan mempermudah memperoleh kembali enzim tersebut dari aliran produk dengan teknik pemisahan produk padat atau cair yang sederhana (Smith, 1990).

Ada lima teknik atau metode amobilisasi, yaitu (1) adsorpsi enzim pada bahan pendukung; (2) pengikatan enzim secara kovalen pada bahan pendukung; (3) pengikatan silang enzim pada bahan pendukung; (4) penjeratan enzim pada suatu bahan pendukung; (5) mikroenkapsulasi (Lee, 1996).

2. Perlunya Amobilisasi Enzim

Enzim adalah katalisator yang menunjukkan fungsi dari induksi dan pengaturan reaksi, yang besarnya sebanding kenaikan kecepatan reaksi. Tidak seperti kebanyakan katalisator anorganik, enzim

umumnya larut dan tidak stabil, jadi katalisator organik ini dapat digunakan tetapi hanya pada larutan yang bebas dari zat pengganggu stabilitas enzim (Sasmito, 1989).

Secara tradisional penggunaan enzim adalah enzim bebas yang dipakai secara langsung, dengan melarutkan enzim bebas ke dalam larutan substrat. Penggunaan secara langsung dari enzim bebas secara skala besar pada industri mengandung beberapa kelemahan, antara lain:

1. Umumnya enzim bebas hanya dapat digunakan untuk satu kali proses karena pemisahan dari produk sukar dilakukan.
2. Adakalanya proses inaktivasi enzim pada akhir reaksi perlu dilakukan dengan cara-cara yang dapat merusak produk, misalnya: secara termal atau kimiawi.

Salah satu cara untuk menggunakan enzim dengan lebih efisien dan berulang kali dalam suatu proses industri adalah dengan penggunaan enzim amobil (Lee, 1996).

Adapun kelebihan enzim amobil adalah sebagai berikut:

1. Penggunaan ganda atau berulang-ulang dari enzim.
2. Kemampuan untuk menghentikan reaksi dapat dikerjakan secara cepat dengan memindahkan enzim dari larutan reaksi,
3. Dalam banyak hal enzim distabilkan oleh ikatan,
4. Dalam proses ini larutan tidak terkontaminasi dengan enzim,
5. Proses analitik: waktu paruh, kecepatan peluruhan yang dapat diramalkan, pembuatan reagen dapat dihemat (Sasmito, 1989).

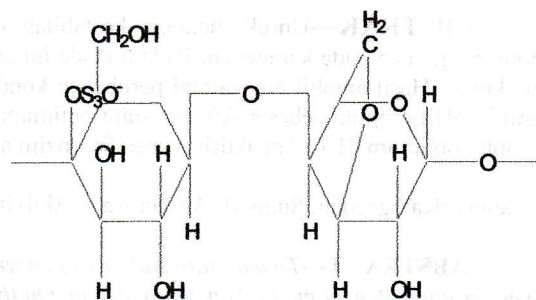
Meskipun secara teoritis penggunaan enzim amobil adalah lebih menguntungkan daripada enzim bebas untuk proses industri, kenyataannya tidak selalu demikian. Hal ini disebabkan proses amobilisasi enzim merubah parameter-parameter kinetik dan kestabilan enzim yang sangat ditentukan oleh teknik amobilisasi enzim yang digunakan (Nugroho, 1997).

3. Karageenan

Rumput laut yang tergolong *Rhodophyceae* beberapa diantaranya mengandung bahan yang cukup penting yaitu *Karrageenan*. *Karrageerophyt* adalah kelompok penghasil *Karrageenan* dari kelompok *Rhodophyceae*. Kelompok ini antara lain adalah *Chondrus*, *Gigartina*, dan *Euchema*. *Karagenan* terbagi atas dua fraksi yaitu *Kappa karagenan* dan *Iota karagenan*.

Kappa karagenan adalah polisakarida yang mengandung ester sulfat, lebih dari 20% bagian gula tersulfonasi tidak larut dalam air dingin. Tetapi dapat dilarutkan dengan pemanasan dan pada pendinginan berbentuk gel. Temperatur terjadinya gel dan kualitas gel tergantung pada konsentrasi polimer setara dengan jumlah dan tipe ikatan yang ada (Sasmito, 1989).

Kappa karagenan dapat diperoleh dari rumput laut jenis *Euchema cottonii*. Unit-unit penyusun polisakarida *Kappa karagenan* adalah beta-D-galaktosa sulfat dan 5,6-anhidro-alfa-D-galaktosa. Berat molekul *Kappa karagenan* berkisar antara 100.000-800.000 (Tosa T., 1979),



Karagenan

4. Papain

Papain merupakan suatu enzim pemecah protein atau disebut sebagai enzim proteolitik yang terdapat dalam getah pepaya. Kandungannya dapat mencapai 50 % dari berat kering getah. Sel bagian tanaman kecuali biji dan akar mengandung enzim ini (Baga Kalie, Moch., 1992). Papain merupakan enzim yang stabil, tahan terhadap perbedaan pH dan suhu yang besar. Enzim ini mengandung tiga jembatan S-S yang berasal dari residu sistin dan satu gugus -SH bebas dari sistein. Gugus -SH ini sangat esensial untuk aktifitas enzimnya. Molekulnya banyak sekali mengandung gugus basa, karena itu titik isoelektriknya pada pH 8,75. Semua enzim ini memerlukan aktivator untuk aktivitas yang berfungsi membebaskan gugus -SH yang terhalang. Aktivator yang umum adalah sianida, sistein dan glutation.

Papain diisolasi dari getah pepaya dengan cara ekstraksi, pemisahan material yang tidak larut pada pH 9, pengendapan dengan amonium sulfat, dan rekristalisasi. Hasil kristal terdiri dari tiga jenis papain :

1. Papain aktif
2. Papain yang dapat diaktifkan
3. Papain non aktif.

Pada papain aktif, sisi aktifnya sistein-25 memiliki gugus sulfhidril yang jelas. Sedangkan papain yang dapat diaktifkan dapat dikonversi menjadi papain aktif dengan cara mereduksi dengan tio atau zat pereduksi lain. Pemisahan papain aktif dari molekul non aktif dapat dilakukan dengan kromatografi afinitas (E. Inglett, George et al, 1979).

METODE PENELITIAN

Sebanyak 500 mg karagenan dilarutkan dengan 15 mL NaCl psikologis kemudian dipanaskan sehingga suhu menjadi kira-kira 70 °C lalu didinginkan menjadi 40 °C. Selanjutnya enzim disuspensikan dengan NaCl psikologis sebanyak 10 mL lalu dipanaskan menjadi 40 °C. Setelah keduanya mencapai suhu 40 °C kemudian dicampur dengan pengadukan hingga rata. Lalu dituangkan kedalam cawan petri dan kemudian didinginkan pada suhu 10 °C. Setelah dingin dicuci dengan larutan NaCl psikologis kemudian dipotong-potong dengan ukuran (3x3x3) mm lalu diuji aktivitasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses amobilisasi enzim papain dengan zat pendukung ("support") karagenan merupakan suatu proses dimana terjadi penjebakan enzim di dalam gel karagenan, sehingga secara fisik enzim tidak bebas bergerak. Setelah dilakukan amobilisasi ternyata terjadi perubahan karakter dari pada enzim tersebut. Karakter enzim bebas yaitu enzim sebelum diamobil mempunyai kondisi optimum pH 5,0 , suhu 35 ° C dan setelah enzim diamobil pH 6,0, suhu 41 ° C. Perbedaan

karakter tersebut disebabkan oleh beberapa hal diantaranya akibat proses amobilisasi, bahan pendukung yang dipakai. Aktivitas suatu enzim sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, terutama pH dari media dan sifat protein enzim itu sendiri (Rehm H.J., et al., 1987). Jika suatu enzim diamobilisasi, perubahan pH optimum bisa terjadi karena tergantung dari muatan molekul protein atau matriks pendukungnya. Proses amobilisasi mengakibatkan terjadinya perbedaan konsentrasi muatan pada lingkungan enzim amobil sehingga terjadi interaksi elektrostatik dengan bergabungnya muatan-muatan pada matriks pendukung. Adanya efek difusi yang disebabkan oleh proses penjeratan dan pengikatan pada pori-pori matriks pendukung, sehingga melindungi enzim dari panas yang dapat mengakibatkan denaturasi. Dengan demikian terjadi perubahan suhu optimum.

Penggunaan enzim amobil beberapa kali menunjukkan bahwa enzim amobil relatif lebih stabil bila dibanding dengan enzim bebas. Hal ini ditunjukkan oleh harga aktifitas enzim papain amobil yang relatif konstan pada penggunaan dua kali. Tabel berikut merupakan hasil pengujian enzim papain amobil.

Pemakaian ke :	Unit aktivitas (U/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Penurunan aktivitas (%)
1.	1,31264	0,83560	1,57090	-
2.	1,31264	0,83560	1,57090	-
3.	1,30281	0,83560	1,55913	0,75
4.	1,11206	0,83560	1,33085	15,28
5.	1,04853	0,83560	1,25482	20,12

Berkurangnya aktivitas enzim bebas selama proses amobilisasi pada umumnya disebabkan oleh proses denaturasi enzim. Pada enzim amobil, dengan masuknya enzim ke dalam pori-pori gel karagenan mengakibatkan enzim terstabilkan dan lebih terlindungi dari proses denaturasi. Setelah selesai reaksi, enzim amobil dapat dipisahkan dengan mudah dari larutan produk sehingga enzim dapat dijaga dari kontaminasi produk. Namun demikian proses amobilisasi dapat menurunkan aktivitas dari enzim. Hal ini dapat dilihat dari pengukuran aktivitas enzim bebas dan amobil seperti pada tabel berikut :

Enzim	Unit aktivitas (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Penurunan aktivitas (%)
Papain Bebas	1,48871	1,78161	-
Papain Amobil	1,31264	1,57090	11,83

Penurunan aktivitas tersebut disebabkan oleh beberapa hal diantaranya proses pemotongan, proses pemanasan saat amobilisasi, bentuk serta ketebalan gel.

KESIMPULAN

Amobilisasi dengan karagenan merupakan metoda yang mudah dikerjakan untuk berbagai enzim. Kelebihan metode ini adalah bahwa dapat membuat bermacam-macam model amobilisasi dengan perencanaan reaktor yang sesuai. Amobilisasi enzim dapat menstabilkan enzim sehingga dalam penggunaan enzim sebanyak dua kali aktivitas dapat dipertahankan. Untuk penggunaan ke tiga kali mengalami sedikit penurunan aktivitas yakni 0,749 %.

DAFTAR PUSTAKA

1. Smith, John, Penterjemah : Dr. Usman F Sumo dkk., 1990, *Prinsip Bioteknologi* , Penerbit PT Gramedia, Jakarta hlm. 143-145.
2. Lee, Byong. 1996. " *Fundamental of Food Biotechnology* ". VCH Publisher Inc: New York. page 136.
3. Sasmito. 1989. " *Petunjuk Lab. Teknik Enzim Amobil* ". PAU Pangan dan Gizi UGM: Yogyakarta. Hlm. 3-4.
4. Nugroho, Titania Tjandrawati, dkk. 1997. " *Studi Perbandingan Amobilisasi Enzim Invertase dengan Karbon Aktif dan Kalsium Alginat* ". Jurnal Penelitian VII. hlm 1, 49.
5. Tosa T., Sato. Mori K. Yamamoto. I. Takata, Y. Nishida and I. Chibata, 1979, *Immobilization of enzymes and microbial cells Using carrageenan as matrix*, Biotechnology and Bioengineering. John Wiley and Sons Inc. (21) : 1897-1709.
6. Baga Kalie, Moch., 1992, *Bertanam Pepaya*, cetakan ke :6, Penebar Swadaya, Jakarta, hlm. 1-43.
7. E. Inglett, George et al., 1979, *Tropical Foods : Chemistry and Nutrition*, Volume I, Academic Press, New York. P. 33-34, 36-37.
8. Rehm H.J, et al., 1987, *Biotechnology : Enzyme Technology*, volume 7a, Verlag Chemi, USA. P. 397-402.
9. Chibata, I. 1978. " *Immobilisasi Enzymes* ". Kodansha: Tokyo. page 6