

PENINGKATAN AKTIVITAS METALLOPROTEASE MELALUI
PEMBENTUKAN KOORDINASI DENGAN ION LOGAM Zn (II)
DAN FRAKSINASI AMMONIUM SULFAT

Skripsi Sarjana Kimia

Oleh:

RONI SAPUTRA
01 132 039



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG

2006

ABSTRAK

Peningkatan Aktivitas Metalloprotease Melalui Pembentukan Koordinasi Dengan Ion Logam Zn (II) dan Fraksinasi Ammonium Sulfat

Oleh

Roni Saputra

Sarjana Sain (SSi) dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
Dibimbing oleh Yetria Rilda, MS dan Drs. Yusri Gondok

Karboksipeptidase A (CPA) adalah enzim Metalloprotease yang aktivitasnya dipengaruhi oleh ion Zn (II) dimana ion Zn (II) ini terikat pada sisi aktif CPA membentuk koordinasi tetrahedral dengan asam amino dari enzim CPA. Fraksinasi ammonium sulfat adalah salah satu teknik pemurnian enzim yang telah digunakan secara luas. Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ion logam Zn (II) dan fraksinasi ammonium sulfat terhadap peningkatan aktivitas dan kemampuan koordinasi dengan logam Zn (II) dari enzim metalloprotease. Fraksinasi paling baik didapatkan yaitu pada fraksi 40-60% dengan aktivitas 0,3003 Unit/mL. Jika hasil fraksinasi ini ditambahkan ion logam Zn (II) pada konsentrasi 2 mM terjadi peningkatan aktivitas sebesar 8,87 kali dari sebelumnya dengan kemampuan penyerapan 92,11%. Penambahan ion logam Zn (II) 2 mM sesudah fraksinasi pada fraksi 40-60% memiliki peningkatan aktivitas metalloprotease sebesar 6,16 kali dibandingkan dengan aktivitas jika logam Zn (II) ditambahkan sebelum fraksinasi yaitu pada medium produksi enzim metalloprotease. Dari spektrum FTIR terlihat bahwa penambahan ion logam Zn (II) dengan variasi pH dapat menyebabkan terjadinya pergeseran intensitas dari gugus – gugus fungsi asam amino metalloprotease.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Suatu ciri khas sel hidup adalah terdapatnya proses metabolisme yang dikatalisis oleh suatu protein yang disebut enzim. Enzim adalah suatu katalisator protein yang mempercepat reaksi kimia dalam makhluk hidup atau dalam sistem biologik. Sifat enzim sangat spesifik, sehingga satu jenis enzim hanya dapat mengkatalisis satu jenis substrat dalam suatu reaksi sehingga dihasilkan produk yang spesifik pula. Karena sifatnya ini, enzim banyak digunakan dalam berbagai bidang baik skala laboratorium maupun industri.^[1]

Dari klasifikasi enzim yang dihasilkan mikroorganisme diperkirakan terdapat lebih dari 3000 macam enzim, salah satu diantaranya adalah enzim protease. Enzim protease merupakan enzim proteolitik yaitu enzim yang mengkatalisis pemecahan protein. Enzim ini digolongkan ke dalam hidrolase karena dalam menghidrolisis substrat membutuhkan air.^[2,3] Mikroorganisme yang paling banyak dikembangkan untuk produksi enzim protease adalah dari genus *Bacillus* dan *Aspergillus*.

Bacillus subtilis merupakan salah satu bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease dari jenis protease metal (metalloprotease), misalnya pada Carboxy Peptidase A (CPA). Pembentukan struktur CPA sangat membutuhkan Zn (II) sebagai ion pusat yang akan membentuk koordinasi dengan ligand dari gugus-gugus asam amino (Tyrosin memberikan gugus OH₂, glutamic memberikan gugus C = O, histidin 69 dan histidin 169 memberikan gugus N – H). Gugus-gugus yang akan berkoordinasi dengan ion logam Zn (II) membentuk geometri tetrahedral. Ion logam Zn (II) pada CPA disebut sebagai kofaktor, yang sangat berperan dalam menunjang aktivitas katalitik CPA.^[4,5]

Selain protease ada beberapa jenis enzim lain yang terdapat dalam sel *Bacillus subtilis* yang juga membutuhkan logam dalam aktivitasnya. Oleh sebab itu perlu dilakukan pemurnian terlebih dahulu untuk meningkatkan aktivitas enzim metalloprotease.^[6]

Ada berbagai macam metoda pemurnian enzim. Diantaranya adalah metoda kromatografi kolom penukar ion, gel filtrasi, dan metoda penggaraman

(salting-in salting-out) yang dikenal dengan fraksinasi bertingkat. Dua metoda pertama sulit dilakukan karena diperlukan peralatan yang cukup kompleks dan biaya yang tinggi. Sedangkan metoda yang terakhir memiliki keunggulan, biaya yang relatif murah serta peralatan yang sederhana.^[9,10]

Enzim protease merupakan salah satu jenis protein yang berbentuk globulin, yang sangat larut pada bentuk garamnya. Sehingga dengan melakukan salting-in enzim protease diubah menjadi bentuk garamnya, sehingga akan meningkatkan kekuatan ionnya. Hal ini dilakukan untuk memisahkan enzim protease dari enzim lainnya. Pada tahap berikutnya *desalting* dapat dilakukan dengan melakukan dialisis terhadap buffer dengan kekuatan ion rendah. Jika semua ion mengendap, atau semua ion tidak mengendap maka enzim adalah murni.^[10]

Ada banyak jenis garam yang dapat digunakan dalam fraksinasi bertingkat, antara lain K_2HPO_4 , Na_2SO_4 dan $(NH_4)_2SO_4$. dari sekian banyak jenis garam tersebut garam $(NH_4)_2SO_4$ paling baik digunakan dalam fraksinasi bertingkat karena berbagai kelebihannya (tidak terpengaruh pH, suhu dan harga yang murah).^[10]

Bertitik tolak dari hal diatas, maka perlu diteliti pengaruh pemurnian enzim metalloprotease secara fraksinasi ammonium sulfat dan kemampuannya dalam pembentukan koordinasi dengan logam Zn (II) untuk meningkatkan aktivitasnya dengan menggunakan metoda fraksinasi dengan menggunakan ammonium sulfat sebagai garamnya. Peningkatan aktivitasnya akan dibandingkan bila enzim ditambahkan ion logam Zn (II) dengan bila enzim tidak ditambahkan ion logam Zn (II).

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah untuk meningkatkan aktivitas enzim metalloprotease melalui pembentukan koordinasi dengan ion Zn (II) dan fraksinasi ammonium sulfat.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah

1. dapat meningkatkan sifat katalis dari metalloprotease untuk diaplikasi lebih luas.
2. Melakukan penelitian sebagai suatu langkah awal dibidang Anorganik dan Biokimia.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan :

1. Kenaikan aktivitas enzim metalloprotease yang paling besar didapatkan pada enzim murni hasil fraksinasi 40-60%, dan pada penambahan ion logam Zn (II) pada konsentrasi 2mM pada enzim murni hasil fraksinasi 40-60%.
2. Enzim metalloprotease mempunyai batas kemampuan untuk berkoordinasi dengan ion logam Zn (II) sebagai kofaktornya, dimana penyerapan tertinggi mencapai 71,18% bila ion logam Zn (II) ditambahkan pada medium produksi dan 97,42% bila ditambahkan pada enzim murni hasil fraksinasi.
3. Dari spektrum FTIR menunjukkan bahwa ion Zn (II) dapat mempengaruhi gugus-gugus fungsi sehingga menyebabkan terjadinya modifikasi struktur CPA dari metalloprotease.

5.2. Saran

Setelah melakukan penelitian ini, ada beberapa hal yang perlu diperhitungkan untuk pengembangan penelitian ini selanjutnya, antara lain:

1. Kemurnian enzim metalloprotease belum dapat dipastikan secara visual, karena hanya dilihat dari peningkatan aktivitas. Oleh sebab itu perlu dicoba metoda lain dalam memurnikan enzim yaitu dengan metoda kromatografi penukar ion.
2. Untuk mengetahui bagaimana bentuk struktur dari metalloprotease perlu juga dilakukan analisa yang lebih lanjut terhadap enzim tersebut misalnya analisa dengan elektroporesis, NMR dan sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Meyrath, J. and Volavsek, U. Production of Microbial enzyme dalam *Enzymes in Food Processing* edited by Reed G. Academic Press, New York, 1975 255 – 297
2. Lehninger, A.L. *Dasar – Dasar Biokimia*, Tenawijaya. M, Jilid I Erlangga, Jakarta, 1993.
3. Wirahadikusumah, M. *Biokimia : Protein, Enzim dan Asam Nukleat*, ITB, Bandung, 1981.
4. Fogarty, W. M., Kelly, C. T. *Development in Microbial Extracellular Enzymes* dalam topik *Enzymes and Fermentation Biotechnology*, Weisman, A. Ellys Horwood, New York, 3 : 45 1979
5. Vallee B. L., Auld D.S. *Zinc Corrdination, Function and Structure of Zinc Enzymes and Other Protein Biochemistry*. 1993b; 29; 5647-5659
6. John, Reglinski, *From Metalloprotease to Coordination Chemistry*, *J.of Chem.Educ.* Vol .81, No 1, p 76, Jan 2004.
7. Yetria, Rilda, *Studi Interferensi Zn terhadap Analisa Pb secara Spektrofotometri dengan Menggunakan Dithizon sebagai Peng kompleks*, Thesis Sarjana Kimia, Unand, Padang, 1986
8. Hesse, Manfred, *Spectroscopy Methods in Organic Chemistry*, George Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1997.
9. Cotton F. A., Wilkinson G. *Advanced Inorganic Chemistry : A Comprehensive Text 5th ed.*, vol.1. John Wiley and Sons. New York. 1988
10. Bouvier, J., Schneider, *Enzyme Purification*, 1990 43-55
11. Neurath, H., *The Deversity of Proteolytic Enzymes* dalam *Proteolytic Enzymes, a Practical Approach*, Beynon, R. J dan Bond, J. S, Ed IRL Press New York, 1989
12. Fardiaz, Suryani, *Fisiologi Fermentasi*, PAU IPB, Bogor, 1988
13. Rossette, M.Rout, Malone, *Bioinorganic Chemistry*, Jhon Wiley and Sons, New York, 2002
14. Ristiarini, *Deteksi Dini Bakteri Penghasil Enzim Protease Serum*, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Mandala Surabaya.