

**PENGARUH SENYAWA KOFAKTOR DAN STABILITAS TERHADAP AKTIVITAS ENZIM  $\beta$ -1,3-GLUKANASE DARI ISOLAT BAKTERI TERMOFIL *Bacillus licheniformis* HSA3-1a**

**Seniwati Dali, Hasnah Natsir, Gusti**

Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin  
Email : seniwatid@gmail.com

**ABSTRACT**

*Study on the effect of compound cofactor and stability to enzyme activity of  $\beta$ -1,3-glucanase has been done. This study used bacterial isolates *B. licheniformis* HSA3-1a isolated from a hot spring Sulili Pinrang as a source of the enzyme  $\beta$ -1,3-glucanase. Isolation of enzyme made after bacterial are activated and cultured in fermentation medium, pH 7,0 and temperature of 50 °C for 4 days. The resulting enzyme performed activity assay. Activity of enzyme assays performed by adding the compound cofactor  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $CoCl_2$ , and  $ZnCl_2$  at different concentrations (0.25, 0.5, and 1.0) mM. To determine the stability of the enzyme made by varying the incubation time (0, 30, 60, 90, 120 and 180) minutes. The result showed that the cofactors of compounds that can serve as an activator for the enzyme  $\beta$ -1,3-glucanase from *B. licheniformis* HSA3-1a is  $MgCl_2$  and  $CaCl_2$  at a concentration of 0.25 mM, 0.5 mM and 1.0 mM. Compound cofactor of  $CaCl_2$  1 mM is stabilizer of enzyme  $\beta$ -1,3-glucanase because the relative activity of the enzyme remaining 86% of the treatment time for 180 minutes prainkubasi.*

**Key Word** :  $\beta$ -1,3-glucanase, *Bacillus licheniformis* HSA3-1a, cofactor, enzyme activity, stability

**PENDAHULUAN**

Banyak enzim dalam melaksanakan fungsi katalitiknya membutuhkan senyawa lain yang bukan protein, seperti kofaktor dan koenzim. Kofaktor dapat berupa senyawa anorganik yaitu ion logam, sedangkan yang berupa senyawa organik nonprotein adalah koenzim. Ion logam berperan dalam proses katalisis maupun penyusunan struktural enzim. Sebagian enzim

memerlukan ion logam dan berikatan secara kovalen atau non kovalen untuk aktivitasnya.

Ion logam mempunyai peranan penting dalam menjaga kestabilan enzim. Logam biasanya berperan sebagai pengatur aktivitas enzim. Ion logam dapat mengaktifkan enzim melalui berbagai kemungkinan seperti: menjaga bagian internal enzim, menghubungkan enzim dengan substrat, merubah konstante

keseimbangan reaksi enzim, merubah tegangan permukaan protein enzim, menghilangkan inhibitor, menggantikan ion logam yang tidak efektif pada sisi aktif enzim maupun substrat, dan merubah konformasi enzim menjadi konformasi yang lebih aktif.

Salah satu enzim yang memerlukan kofaktor untuk aktivitasnya adalah enzim  $\beta$ -1,3-Glukanase. Enzim ini merupakan golongan enzim hidrolase yang menggunakan glukukan sebagai substrat. Glukan adalah polimer linier dari karbohidrat yang tersusun dari monomer glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,3 yang banyak terdapat pada dinding sel jamur, baik sebagai  $\beta$ -1,3-glukan maupun  $\beta$ -1,6-glukan. Enzim glukukanase merupakan enzim industri yang penting, karena enzim ini dapat menghidrolisis beberapa jenis polimer glukukan yang berasal dari deposit mikroorganisme penyebab timbulnya berbagai bentuk gangguan di industri gula maupun di rongga mulut. Glukan di industri gula menyebabkan penurunan efisiensi produksi gula. Glukan di rongga mulut menyebabkan timbulnya karies gigi. Mikroorganisme termofil dapat menghasilkan enzim yang tahan terhadap suhu tinggi. Kelebihan pada proses industri suhu

tinggi antara lain dapat meningkatkan laju reaksi kimia termasuk reaksi enzimatik, efisien, dan dapat mengurangi kontaminasi. Beberapa hasil penelitian mengungkapkan bahwa  $\beta$ -glukan yang dikonsumsi dapat memberikan efek pengobatan antara lain, sebagai antioksidan, antikolesterol, antidiabetes, anti tumor, perlindungan terhadap radiasi.

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Pemilihan Mikroorganisme**

Mikroorganisme yang digunakan adalah isolat bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a yang diisolasi dari Sumber Air Panas Sulili Kabupaten Pinrang. Biakan dipelihara serta diperbanyak pada media agar.

### **B. Media**

Media agar yang digunakan adalah yeast ekstrak 0,05%, NaCl 0,1%, bacto agar 1,5%, glukukan 0,2%, pepton 0,01%. Komposisi media produksi adalah amonium sulfat 0,7%, yeast ekstrak 0,05%, NaCl 0,1%, bacto pepton 0,01%, glukukan 0,1%,  $K_2HPO_4$  0,01%,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,01%.

### **C. Fermentasi**

Inokulum yang telah disiapkan dimasukkan secara aseptik ke dalam media fermentasi, diinkubasi selama 4 hari, pH 7,0

dan suhu 50<sup>0</sup> C pada *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm. Cairan fermentasi yang mengandung enzim β-1,3-Glukanase dipisahkan dari selnya dengan sentrifuse pada kecepatan 4000 rpm, suhu 4<sup>0</sup>C selama 30 menit. Filtrat yang didapat diuji aktivitasnya. Pada uji aktivitas enzim dilakukan penambahan ion logam Ca<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> pada berbagai konsentrasi (0,25; 0,5; dan 1,0 )mM. Untuk penentuan stabilitas enzim dilakukan dengan memvariasikan

waktu inkubasi yaitu (0, 30, 60, 90, 120 dan 180) menit.

#### D. Penentuan Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim β-1,3-Glukanase ditentukan dengan menggunakan glukon sebagai substrat . Aktivitas ditetapkan dengan menentukan banyaknya gula pereduksi yang dibebaskan dari glukon (9).

#### E. Penentuan Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan metode Lowry(10), dan Bovin Serum Albumin digunakan sebagai protein standar.

### HASIL PENELITIAN

**Tabel 1.** Data Senyawa Kofaktor Terhadap Aktivitas Enzim β-1,3-Glukanase

Kofaktor	Aktivitas relatif (%)			
	Non Logam	0.25 mM	0.5 mM	1 mM
Non Logam	100	-	-	-
MgCl <sub>2</sub>	-	139.71	129.41	136.76
CaCl <sub>2</sub>	-	108.82	120.59	135.29
CuCl <sub>2</sub>	-	95.65	77.94	64.65
CoCl <sub>2</sub>	-	89.71	97.06	94.73
ZnCl <sub>2</sub>	-	72.06	92.65	77.94

**Tabel 2.** Data Waktu Prainkubasi Terhadap Aktivitas Enzim β-1,3-glukanase

Waktu Prainkubasi (menit)	Aktivitas Enzim (U/mL)
0	10.32
30	14.54
60	12.21
90	11.443
120	9.213
180	8.88

### PEMBAHASAN

#### A. Produksi Enzim

Enzim β-1,3-Glukanase merupakan enzim ekstraseluler

yang dihasilkan dari *B. licheniformis* HSA3-1a. Proses fermentasi dilakukan selama 4 hari ( 96 jam) pada suhu 50<sup>0</sup> C

dengan kecepatan 180 rpm. Hasil fermentasi disentrifuse pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit pada suhu 4<sup>0</sup>C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim yang akan diuji aktivitasnya.

## **B. Pengaruh berbagai senyawa kofaktor**

Untuk mengetahui pengaruh berbagai kofaktor terhadap aktivitas enzim, maka dalam penelitian ini digunakan beberapa senyawa garam klorida sebagai kofaktor, yaitu: MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>. Penambahan ion Mg<sup>2+</sup> menaikkan aktivitas enzim pada konsentrasi 0,25 mM, 0,5 mM dan 1 mM masing-masing sebesar ± 39 %, ± 29 % dan ±36%. Ion Ca<sup>2+</sup> menaikkan aktivitas enzim pada konsentrasi 0,25 mM, 0,5 mM dan 1 mM masing-masing sebesar ± 8 %, ± 20 % dan ±35%. Penambahan ion Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> dan Zn<sup>2+</sup> baik pada konsentrasi 0,25 mM, 0,5 mM maupun 1 mM semuanya menurunkan aktivitas enzim masing-masing untuk ion Cu<sup>2+</sup>, pada konsentrasi 0,25 mM, ± 4%, pada konsentrasi 0,5 mM ± 23 %, dan pada konsentrasi 1 mM adalah ± 36 %. Ion Co<sup>2+</sup> pada konsentrasi 0,25 mM, ± 11%, pada

konsentrasi 0,5 mM ± 3 %, dan pada konsentrasi 1 mM adalah ± 5 %. Ion Zn<sup>2+</sup> pada konsentrasi 0,25 mM, ± 28%, pada konsentrasi 0,5 mM ± 7 %, dan pada konsentrasi 1 mM adalah ± 23 %. Berdasarkan data pada Gambar 1 maka terdapat dua ion logam yang dapat meningkatkan aktivitas enzim β-1,3-glukanase hasil isolasi yaitu Mg<sup>2+</sup> dan Ca<sup>2+</sup> serta tiga macam ion logam yang dapat menurunkan aktivitas enzim β-1,3-Glukanase hasil isolasi yaitu Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> dan Zn<sup>2+</sup>.

## **C. Pengaruh stabilitas senyawa kofaktor**

Untuk mengetahui pengaruh stabilitas senyawa kofaktor, maka digunakan ion Ca<sup>2+</sup>, karena ion ini memberikan aktivitas enzim besar seperti pada ion Mg<sup>2+</sup> dibandingkan dengan ion logam lainnya yang digunakan dalam penelitian ini. Dalam penelitian ini divariasikan waktu inkubasi yaitu (0, 30, 60, 90, 120, 150, dan 180) menit.. Data hasil penelitian dari pengaruh stabilitas enzim β-1,3-Glukanase terhadap senyawa kofaktor terlihat pada Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim β-1,3-Glukanase dengan adanya ion Ca<sup>2+</sup> dapat

meningkatkan aktivitas relatif enzim  $\pm 40\%$  selama waktu prainkubasi 30 menit dan mulai menurun dengan bertambahnya waktu prainkubasi 60 – 90 menit dengan aktivitas relatif enzim  $\pm 18\%$  dan  $\pm 10\%$ . Jika waktu prainkubasi dilanjutkan sampai 180 menit, maka tidak terjadi kenaikan aktivitas enzim, namun aktivitas enzim masih tersisa  $\pm 86\%$ . Hal ini menunjukkan bahwa ion  $\text{Ca}^{2+}$  pada konsentrasi 1 mM merupakan senyawa aktivator dan stabilisator pada enzim  $\beta$ -1,3-Glukanase dari *B. licheniformis* HSA3-1a.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa kofaktor yang dapat berfungsi sebagai aktivator untuk enzim  $\beta$ -1,3-glukanase dari *B. licheniformis* HSA3-1a adalah  $\text{MgCl}_2$  dan  $\text{CaCl}_2$  pada konsentrasi 0.25 mM, 0.5 mM dan 1,0 mM. Senyawa kofaktor  $\text{CaCl}_2$  1 mM merupakan stabilisator untuk enzim  $\beta$ -1,3-glukanase karena aktivitas relatif enzim masih tersisa 86% dengan perlakuan waktu prainkubasi selama 180 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

Hairruddin, 2011, Kofaktor, (Online), (<http://klinikdokterhairrudin>).

Blogspot.com/2008/10/kofaktor.html, diakses pada tanggal 29 Maret 2011).

Harper H, Rodwell VM, Mayes PA, 1979, *Biokimia*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Terjemahan dari: *Harper's Biochemistry*, Jakarta.

Richardson T, Hyslop DB, 1985, Enzym, dalam: dalam: Owen R Fennema editor, *Food Chemistry*, 2nd ed, Hal, 371, New York dan Basel: Marcel Dekker Inc.

Yaumul, H., 2011, Enzim Glukanase, (Online), (<http://queenofsheeba.wordpress.com/2010/10/11/enzimglukanase/>), diakses 16 Maret 2011).

Long-Liu, L., Charng-Cherng, C., Wen-Hwei, H. (1998), *Biotechnol. Appl. Biochem*, 28, 61-68

Jei-Fu, S., Fu-Pang, L., Su-Chiu, C., and Hsing-Chen, C. (1995), *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 36, 195-200.

Spicer, E.J. Goldenthal EI, Ikada T. A, 2005. *Toxicological Assesment of Curdlan*. (Online), (<http://www.betaxanthin.com/toxicologi-research.html>), diakses 16 Maret 2011)

Breedveld MW, Zevenhuizen LPTM, Zehnder AJB, 1990. Excessive Excretion of Cyclic

$\beta$ -1,3-glucan by *Rhizobium trifolii* TA-1, *Applied and Environmental Microbiology*, 6, 2080

Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi, 1984, *Prosedur*

*Pengaruh Senyawa Kofaktor Dan Stabilitas Terhadap Aktivitas Enzim B-1,3-Glukanase*

Analisa untuk Bahan  
Makanan dan Pertanian,  
Liberty Yogyakarta.

Lowry, O.H., Rosebrought, N. J., Farr,  
A.L., and Randal, R.J., 1951,

Protein Measurement with  
the Folin Phenol Reagent.,  
*Journal of Biol. Chem*, 193,  
265-275.