

PEMBELAJARAN MAKROMOLEKUL: PEMBUATAN HIDROLISAT PROTEIN

Kelly Sinaga¹, Zeily Nurachman²

^{1,2}Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Ilmu Pendidikan Universitas Pelita Harapan,
Karawaci Program Studi Kimia Kelompok Keahlian Biokimia Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam, Bandung
E-mail : kelly.sinaga@uph.edu

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuat bahan pembelajaran fungsi enzim dalam metabolisme dan materi makromolekul di sekolah menengah melalui eksperimen pembuatan hidrolisat protein dengan papain. Diharapkan penelitian ini mampu memberi manfaat dalam membantu guru memberikan contoh nyata aplikasi peranan enzim dan materi makromolekul dalam kehidupan sehari-hari. Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah protease. Protease dari pepaya dikenal sebagai papain. Hidrolisis protein dengan papain kasar menghasilkan hidrolisat protein. Pada penelitian ini, aktivitas papain diuji terhadap substrat kasein dan penentuan konsentrasi protein hasil hidrolisis dilakukan dengan metode Lowry. Hasil yang diperoleh adalah nilai aktivitas spesifik papain sebesar 7,93 U/mg. Dari hasil kinetika reaksi enzim diperoleh nilai konstanta Michaelis-Menten (K_M) papain 0,028% dengan $V_{maks} = 0.75$ gram/menit. Kegiatan meneliti dengan topik pembuatan hidrolisat protein ini dapat dipakai sebagai bahan penyusunan model pembelajaran materi peranan enzim dan makromolekul di Sekolah Menengah Atas. Pengalaman meneliti seperti mengisolasi enzim kasar dari bahan alam dan menguji kinetika reaksi enzim merupakan praktik yang dapat diajarkan kepada siswa sehingga mereka dapat memahami pelajaran biologi mengenai peranan enzim dan makromolekul lebih baik. Penelitian ini juga dapat membantu atau menguatkan pemahaman materi ajar lain seperti laju reaksi, ikatan kimia, dan reaksi kimia organik sehingga tercipta pembelajaran biologi yang terpadu dengan pembelajaran lainnya.

Kata kunci : enzim, protease, papain, protein, pembelajaran terpadu

PENDAHULUAN

Materi fungsi enzim di Sekolah Menengah Atas merupakan materi yang berkaitan dengan struktur dan fungsi enzim dalam metabolisme. Materi tersebut juga berkaitan dengan materi makromolekul seperti karbohidrat, protein dan lemak. Materi fungsi enzim dan makromolekul ini terdapat pada kelas XII semester 1 pada kurikulum mata pelajaran Biologi, yang mencakup pembahasan tentang struktur serta fungsi enzim dan makromolekul serta keterkaitan enzim dalam proses metabolisme makromolekul.

Salah satu materi makromolekul yang menjadi bahan ajar di Sekolah menengah Atas adalah protein. Enzim yang bertindak untuk menghidrolisis protein disebut sebagai protease, misalnya pepsin, tripsin, kimotripsin, dan renin. Protease yang diperoleh dari getah pepaya dinamakan papain. Hasil hidrolisis protein ini menghasilkan fragmen rantai oligopeptida pendek yang disebut sebagai hidrolisat protein. Proses hidrolisis protein oleh protease secara kuantitatif dapat diamati di laboratorium melalui uji kadar proteinnya.

Bahan ajar enzim merupakan bagian yang terintegrasi dari materi pembelajaran metabolisme makromolekul pada pendidikan tingkat menengah. Namun, sebagian besar waktu di kelas hanya digunakan dalam menjelaskan struktur, fungsi, dan kerja enzim sebagai biokatalis. Sangat sedikit eksperimen tentang enzim diajarkan di sekolah (St-Vincent dan Dickman, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk membuat bahan pembelajaran enzim dan makromolekul melalui eksperimen pembuatan hidrolisat protein dengan papain. Diharapkan penelitian ini mampu memberi manfaat dalam membantu guru memberikan

contoh nyata aplikasi peranan enzim dan materi makromolekul dalam kehidupan sehari-hari. Eksperimen ini juga dapat membantu atau menguatkan pemahaman materi ajar lain secara terpadu seperti laju reaksi, ikatan kimia, dan reaksi kimia organik.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, FMIPA, Institut Teknologi Bandung. Peralatan yang digunakan adalah: tabung reaksi; gelas kimia; spektrofotometer sinar tampak dan alat-alat yang mendukung penelitian.

Bahan yang digunakan adalah getah pepaya, aquabides, NaCl, etanol, kasein, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , asam trikloro asetat dan semua zat untuk uji aktivitas kuantitatif merupakan zat yang berderajat pro-analisis (pa). Tahap-tahap yang dilakukan adalah :

1. Isolasi Papain dari Getah Pepaya

Pengambilan getah buah dilakukan pada buah yang tergantung pada batang pokoknya berumur 2,5–3 bulan. Getah ditambah dengan NaCl, dibiarkan selama 2–3 jam lalu campuran disentrifuga. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam aquabides, lalu disentrifuga kembali. Supernatan dilarutkan dalam etanol lalu disaring. Endapan yang diperoleh merupakan papain yang kemudian dikeringkan dan disimpan pada suhu ruang.

2. Uji Aktivitas Papain

Campuran reaksi enzim, substrat kasein, dan buffer fosfat diinkubasi lalu dihentikan dengan penambahan TCA (asam trikloroasetat) dan didinginkan. Endapan dipisah melalui sentrifugasi.

3. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Larutan protein standar yang digunakan adalah BSA (albumin serum sapi) dengan metode Lowry. Kurva standar kalibrasi protein dibuat dengan cara mengalurkan data A_{750} terhadap konsentrasi BSA ($\mu\text{g/mL}$). Untuk penentuan kadar sampel hidrolisat protein, larutan standar BSA diganti dengan larutan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prinsip pemisahan papain dari getah pepaya adalah menggunakan metode pengendapan garam. Banyak protein yang memiliki sifat sukar larut pada konsentrasi garam tinggi. Peristiwa ini dinamakan efek *salting out*. Konsentrasi garam pada pengendapan protein berbeda antara protein satu dengan protein lainnya.

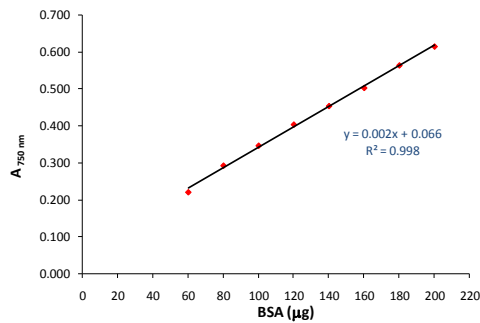
Hasil isolasi yang baik akan memberikan serbuk papain berwarna putih. Jika papain berubah warna menjadi putih kekuningan atau kecoklatan, maka aktivitas papain berkurang. Dari 126,6 g getah pepaya, papain yang diperoleh adalah sebanyak 0,509 g (rendemen 0,4% (b/b)). Pada percobaan lain, 1,250 gr papain diperoleh dari 84,8 g getah pepaya (rendemen 1,47% (b/b)). Papain dari kedua isolat tersebut memberikan aktivitas protease terhadap kasein, dengan aktivitas proteolitik percobaan 1 lebih rendah dari percobaan 2. Perbedaan aktivitas ini disebabkan oleh waktu penyadapan getah agak lebih panas (siang hari) sehingga kualitas getah berkurang. Rendemen hasil isolasi papain dengan metode ini sekurang-kurangnya sebesar 3% terhadap jumlah getah pepaya. Pada penelitian ini, rendemen papain yang diperoleh cukup kecil. Ini dapat disebabkan karena garam NaCl yang digunakan tidak cukup murni. Warna papain yang dihasilkan putih kecoklatan. Serbuk papain yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.



Gb. 1 Serbuk Papain

Aktivitas Papain pada kasein

Aktivitas papain hasil isolasi diuji dengan menggunakan substrat kasein. Kurva standar protein dapat dilihat pada Gambar 2. Kurva standar kalibrasi protein digunakan untuk menentukan kadar sampel protein yang dilakukan dalam penelitian ini.



Gb. 2 Kurva standar kalibrasi protein

Kurva perubahan kadar hidrolisat protein yang terbentuk dari hasil hidrolisis kasein dengan papain terhadap waktu ditunjukkan pada Gambar 3.

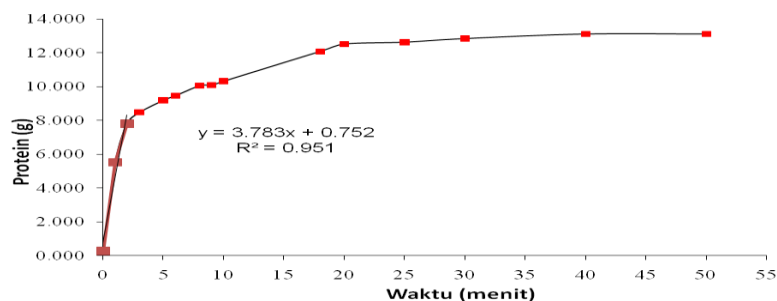
Aktivitas hidrolisis kasein meningkat secara linear pada rentang 0–20 menit. Artinya laju reaksi awal (V_0) papain dapat ditentukan dari kemiringan kurva antara kadar protein (g) dan waktu reaksi (menit). Kadar hidrolisat protein tidak bertambah secara signifikan setelah 20 menit. Ini berarti laju reaksi hidrolisis mendekati nol.

Pada saat produk terbentuk dari sebuah reaksi kimia, seringkali produk ini kemudian bereaksi dengan zat lain atau mungkin dengan reaktan. Dengan adanya reaksi sekunder maka analisis kinetika menjadi kompleks, sehingga dikembangkan teknik mengukur laju reaksi pada kecepatan awal, yaitu laju dimana reaksi baru dimulai ($t = 0$) dan produk belum terbentuk. Besarnya nilai laju awal dapat dipakai untuk menentukan aktivitas papain. Untuk mengonversi laju awal menjadi unit aktivitas papain digunakan persamaan:

$$\text{Unit aktivitas} = \text{Laju awal} \times \text{Volume reaksi} / \text{Volume enzim}$$

Aktivitas spesifik (U/mg) didefinisikan sebagai unit aktivitas papain tiap mg protein.

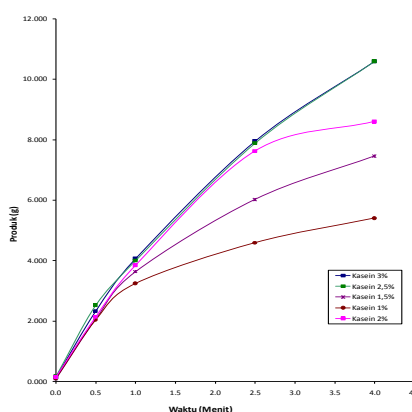
Laju awal yang diperoleh dari kurva pada Gambar 3 adalah 3,783 g/menit. Artinya, nilai aktivitas papain yang diperoleh adalah 56,7 U atau nilai aktivitas spesifik sebesar 7,93 U/mg.



Gb. 3 Aktivitas papain terhadap kasein 2%

Kinetika reaksi papain

Dalam penelitian ini, kinetika reaksi hidrolisis kasein oleh papain dilakukan pada beragam konsentrasi kasein. Pengamatan laju reaksi ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi enzim konstan. Kurva hidrolisis berbagai konsentrasi kasein ditunjukkan pada Gambar 4. Laju awal reaksi dari tiap-tiap variasi konsentrasi kasein ditentukan dari garis singgung kurva pada Gambar 4 pada waktu 0 menit.



Gb. 4 Aktivitas papain terhadap berbagai konsentrasi kasein

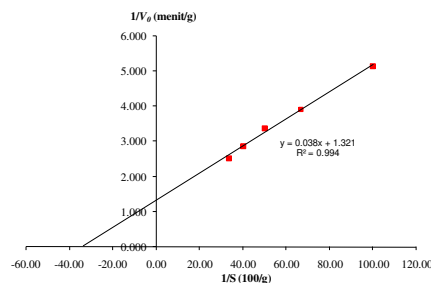
Besarnya nilai laju awal yang diperoleh pada berbagai konsentrasi kasein ditampilkan dalam Tabel 1. Tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat maka laju reaksi awal juga semakin besar. Ini mengindikasikan bahwa konsentrasi enzim yang diuji belum jenuh terhadap substrat sehingga penambahan substrat akan meningkatkan laju kerja enzim.

Tabel 1. Laju awal reaksi papain pada berbagai konsentrasi kasein

Konsentrasi Kasein (%)	V_0 (gram/menit)
1	0,194
2	0,296
3	0,398
1,5	0,256

Persamaan Michaelis-Menten merupakan persamaan dasar dalam kinetika enzim. Nilai V_{maks} sangat sulit didapatkan secara teliti langsung dari grafik aliran V_0 dengan $[S]$ karena meskipun konsentrasi substrat sangat tinggi, nilai V_{maks} sebagian besar dibawah nilai seharusnya. Metode yang lebih baik dalam menentukan nilai V_{maks} dan K_M adalah menggunakan persamaan Lineweaver-Burk, yang merupakan kebalikan dari persamaan Michaelis-Menten.

Pada penelitian ini, penentuan nilai (K_M) papain menggunakan kurva laju reaksi terhadap konsentrasi kasein sulit dilakukan karena enzim belum jenuh terhadap substrat. Oleh karena itu, penetapan nilai K_M dan laju reaksi maksimum (V_{maks}) dilakukan dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk (kurva $1/V_0$ vs $1/[S]$) seperti ditampilkan pada Gambar 5.



Gb. 5 Kurva Lineweaver-Burk dari aktivitas papain

Dari kurva pada Gambar 5 diperoleh persamaan linear $y = 0,038x + 1,321$. Kurva memotong sumbu y ketika $x = 0$ tepat pada titik 1,321. Titik potong kurva pada sumbu y menunjukkan nilai dari $\frac{1}{V_{maks}}$, sehingga diperoleh nilai $V_{maks} = 0,75$ g/menit. Lalu ketika kurva memotong sumbu x pada saat nilai $y = 0$ tepat pada titik $-34,7$ yang merupakan nilai dari $-\frac{1}{K_M}$ maka nilai $K_M = 0,028\%$. Selain itu nilai K_M juga dapat dihitung berdasarkan kemiringan kurva yang merupakan nilai dari $\frac{K_M}{V_{maks}}$. Nilai K_M yang diperoleh dari kerja papain terhadap kasein cukup kecil. Ini mengindikasikan bahwa papain memiliki afinitas yang baik terhadap substrat kasein.

Pada kondisi ini, siswa juga dapat melihat bagaimana perbedaan konsentrasi substrat memberikan laju reaksi hidrolisis yang berbeda. Dengan demikian, para siswa dapat memahami bahwa tiap enzim memiliki kemampuan menghidrolisis yang berbeda terhadap substrat yang berbeda pula.

Pembelajaran kontekstual

Pendekatan CTL (*contextual teaching and learning*) merupakan konsep belajar yang membantu guru mengaitkan antara materi yang diajarkannya dengan situasi dunia nyata siswa dan mendorong siswa membuat hubungan antara pengetahuan yang dimiliki dan terapan dalam kehidupan mereka sebagai anggota keluarga dan masyarakat. Dengan konsep itu, hasil pembelajaran diharapkan lebih bermakna bagi siswa. Proses pembelajaran berlangsung alamiah dalam bentuk kegiatan siswa bekerja dan mengalami, bukan transfer pengetahuan dari guru ke siswa.

Metode pembelajaran ini berpusat pada siswa (*student centered*). Pengalaman belajar siswa dapat diperoleh selama proses belajar dengan metode-metode pembelajaran yang telah diterapkan. Dalam hal ini, guru bertindak sebagai fasilitator agar siswa dapat memperoleh pengalaman belajarnya masing-masing. Uniknya, dengan strategi pembelajaran yang sama diterapkan pada siswa dapat menciptakan pengalaman belajar yang berbeda bagi tiap siswa. Namun guru tetap bisa mendesain model pembelajaran dimana tujuan-tujuan utama yang harus tercapai dapat diraih oleh semua siswa.

Berkaitan dengan materi pembelajaran enzim dan makromolekul, pada sekolah tingkat menengah atas, materi ini mendapat bagian pada semester 1 kelas XII. Artinya, siswa yang akan mempelajari materi ini merupakan siswa yang paling dewasa menurut tingkat sekolah menengah. Sejauh ini pembelajaran makromolekul hanya berlangsung di kelas dimana para guru mentransfer ilmu tentang enzim dan makromolekul sebagian besar dengan metode ceramah. Hal ini mengakibatkan para siswa cenderung menghafal materi daripada memahami atau bahkan menerapkannya dalam kehidupan sehari-hari.

Materi enzim merupakan materi yang sangat aplikatif dalam kehidupan sehari-hari. Namun, materi ini belum mendapat banyak perhatian pada lingkungan Sekolah Menengah Atas. Hal ini dapat disebabkan karena sulitnya memberi contoh nyata pada saat proses pembelajaran berlangsung. Pada kenyataannya banyak enzim yang dapat kita peroleh dengan mudah dan cukup murah dari lingkungan sekitar.

Melalui penelitian mengenai enzim seperti ini, maka diharapkan siswa mendapatkan pemahaman materi tentang enzim dan aktivitasnya. Beberapa aspek penting yang bisa digali untuk materi ajar melalui penelitian ini antara lain konsep tentang unit aktivitas dan aktivitas spesifik enzim, laju reaksi melalui konsep laju awal reaksi, kinetika enzim yang menunjukkan efektifitas masing-masing enzim yang juga dapat dijadikan sebagai bahan pembelajaran terpadu.

Melalui nilai aktivitas enzim maka siswa dapat memahami bahwa tiap enzim memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan produk. Dapat pula dihitung berapa banyak produk yang dihasilkan tiap unit enzim yang digunakan berdasarkan laju awal reaksi. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan bahwa konsentrasi protein tidak sama dengan konsentrasi enzim. Dengan demikian, para siswa bisa mendapatkan pemahaman bahwa aktivitas spesifik memberikan gambaran berapa jumlah enzim yang harus digunakan untuk menghasilkan sejumlah produk.

Laju reaksi awal sangat baik dalam memberikan pemahaman bagi siswa tentang laju reaksi. Laju reaksi awal dalam penelitian ini ditentukan dari kemiringan kurva aktivitas enzim terhadap substrat. Melalui aktivitas ini maka siswa dapat memperoleh pemahaman lebih baik tentang laju reaksi dengan menghitung banyaknya produk yang dihasilkan untuk tiap satuan waktu.

Kinetika enzim merupakan materi pengembangan lebih lanjut mengenai materi ajar enzim bagi siswa Sekolah Menengah Atas. Para siswa dapat menghitung nilai-nilai K_M dan V_{maks} untuk tiap enzim serta memahami bahwa nilai-nilai tersebut memberikan gambaran mengenai kemampuan kerja enzim. Dengan demikian, para siswa dapat mengetahui bahwa tiap enzim memiliki batas konsentrasi jenuh terhadap substrat yang nilainya spesifik untuk masing-masing enzim. Kekhasan ini terutama berkaitan dengan afinitas enzim terhadap masing-masing substrat dan menemukan bahwa tiap enzim memiliki kesukaan substrat tersendiri.

Banyak aspek pendidikan yang dapat diraih dalam proses yang dilakukan pada penelitian ini. Tugas guru adalah bagaimana menjadi fasilitator selama proses

pembelajaran berlangsung mulai dari membuat rancangan pembelajaran, memfasilitasi siswa dan membantu siswa menemukan aspek pengetahuan dalam tiap data yang dihasilkan. Metode pembelajaran yang diimplementasikan juga dapat berbeda bergantung kepada karakter siswa, sekolah dan pengetahuan yang ingin disampaikan melalui masing-masing percobaan. Dengan demikian, diharapkan melalui proses menemukan pengetahuan sendiri, para siswa dapat membangun pemahaman lebih baik terhadap materi enzim.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa topik mengenai proses pembuatan hidrolisat protein dapat dijadikan materi praktik pembelajaran fungsi enzim dan makromolekul di tingkat Sekolah Menengah Atas, khususnya yang berkaitan dengan materi sifat-sifat enzim, laju reaksi, dan kinetika enzim.

Dalam penelitian ini diperoleh nilai aktivitas papain = 56,7 U dan nilai aktivitas spesifiknya 7,93 U/mg. Dari uji kinetika papain maka diperoleh nilai $V_{maks} = 0,75g/ menit$ dan $K_M = 0,028 \%$.

Agar dapat dikembangkan menjadi bahan ajar yang utuh untuk tingkat sekolah menengah khususnya sekolah menengah atas maka tahap-tahap penelitian ini perlu diramu menjadi sebuah prosedur eksperimen sederhana. Perlu dipikirkan lebih lanjut metode-metode yang lebih sederhana sehingga keterbatasan alat di Sekolah Menengah Atas tidak menjadi penghambat utama dalam implementasi hasil penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arends, R.I., Wenitzky, N.E., dan Tannenboum, M.D. 2001. *Exploring teaching: An introduction to education*. New York: McGraw-Hill Companies.
- Burden, P.R., dan Byrd, D.M. 1996. *Method for effective teaching* (2nd edition). Boston: Allyn and Bacon.
- Cornely, K., Crespo, E., Early, M., Kloter, R., Levesque, A., Pickering, M. 1999. Kinetics of papain: An introductory biochemistry laboratory experiment. *J. Chem. Educ*, 76, 644–645.
- Joyce, B. dan Weil, M. 1980. *Model of teaching*. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Nitsawang, S., Hatti-Kaul, R., Kanasawud, P. 2006. Purification of papain from Carica papaya latex: Aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation. *J. Enzyme Microb. Technol.*, 39, 1103–1107.
- Voet, D.J., Voet, J.G, dan Pratt, C.W. 2008. *Principles of Biochemistry*. United States: John Wiley and Sons.

DISKUSI

Penanya 1 : Andin Irsadi (Bio FMIPA UNNES)

Pertanyaan :

Proses pembuatan hidrolisat protein membutuhkan waktu berapa lama dan kompetensi dasar untuk pembelajaran terpadu seperti apa ?.

Jawaban :

Proses pembuatan hidrolisat protein dapat dibuat menjadi proyek bagi para siswa dan membutuhkan waktu kurang lebih 1 minggu. Kompetensi dasar : Siswa mampu memahami fungsi dan struktur enzim dalam metabolisme, memahami konsep laju reaksi dan ikatan kimia.

Penanya 2 : Hasruddin

Pertanyaan :

Bagaimana penerapan di tingkat SMA karena adanya keterbatasan alat ?

Jawaban :

Untuk isolasi enzim dapat menggunakan enzim kasar sehingga tidak perlu menggunakan sentrifugasi. Untuk pengukuran absorbansi bisa menggunakan reagen tes uji makanan dalam kadar tertentu dan tetap sehingga bisa membandingkan perbedaan konsentrasi protein melalui perbedaan kepekaan warna.