

PENGARUH ION LOGAM DIVALEN DAN ASAM FITAT TERHADAP AKTIVITAS ENZIM AMILASE DAN TRIPSIN

Oleh : Agus Setyono *)

A. PENDAHULUAN

Asam fitat disintesis secara alami di dalam biji tanaman, dapat berbentuk bebas atau bersenyawa dengan logam mono atau divalen (Na^+ , K^+ , Mg^{++} dan Ca^{++}). Asam fitat di dalam biji sebagian besar terdapat pada lapisan aleuron atau lembaga dan tergantung pada jenis biji tanaman tersebut. Asam fitat di dalam biji berfungsi sebagai sumber fosfor (Biswas, 1965), sebagai sumber energi (Hall and Hodges, 1966) dan sebagai sumber kation untuk perkecambahan biji (Williams, 1970).

Asam fitat mempunyai kemampuan yang kuat untuk mengikat ion logam dan protein sehingga mempunyai pengaruh yang kurang baik terhadap aktifitas enzim di dalam saluran pencernaan, nilai gizi makanan dan kesehatan tubuh. Oleh karena itu fitat perlu dipertimbangkan sebagai salah satu faktor pembatas nilai gizi makanan yang berasal dari biji-bijian. Pada kesempatan ini penulis akan membahas mengenai pengaruh asam fitat dan logam divalen terhadap aktifitas enzim α amilase dan tripsin.

B. ENZIM α AMILASI DAN TRIPSIN

α amilase banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, hewan, manusia dan

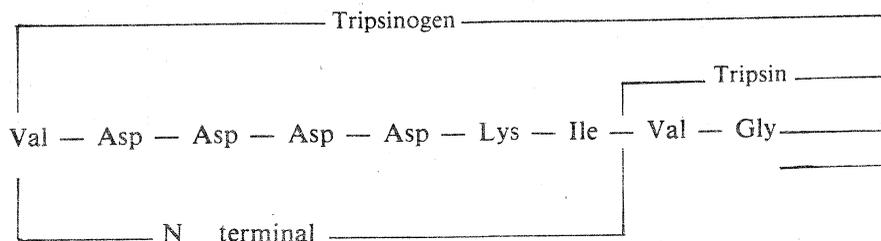
mikrobia, mempunyai berat molekul sekitar 50.000. α amilase mengandung 1 gramatom ion Ca^{++} per molekul α amilase (Vallee *et al.*, 1959). Kalsium terikat kuat di dalam molekul enzim α amilase dengan K_b antara 10^{12} sampai 10^{15} per molekul dan hanya dapat dipisahkan pada suhu rendah oleh senyawa khelator. Pemisahan ion Ca^{++} secara sempurna dari molekul enzim menyebabkan enzim α amilase menjadi tidak aktif dan mudah mengalami denaturasi oleh panas, asam dan urea.

Cawley dan Mitchell (1968) melaporkan bahwa fitat menghambat aktifitas enzim amilase, karena ion Ca^{++} yang sangat diperlukan untuk aktifitas enzim tersebut terikat oleh asam fitat. Penambahan garam kalsium telah direkomendasikan untuk melindungi enzim secara maksimal terhadap denaturasi panas. Tetapi konsentrasi ion Ca^{++} yang tinggi akan menghambat aktifitas enzim α amilase. Sharma *et al.* (1978) menyatakan bahwa penambahan ion Ca^{++} sekitar 8 mM belum mempengaruhi aktifitas enzim α amilase yang berasal dari wheat, jagung dan bakteri. Konsentrasi ion Ca^{++} lebih dari 10mM dengan adanya atau tidak adanya fitat sangat menghambat aktifitas enzim amilase sampai 93 persen. Mereka berpendapat bahwa terhambatnya aktifitas enzim tersebut karena terjadinya interaksi (ikatan) antara asam fitat dengan protein enzim dan bukan karena terbentuknya ikatan antara asam fitat dengan Ca^{++} .

*)Agus Setyono adalah Staf Peneliti pada Balittan Bogor yang sedang menempuh Program Doktor di Universitas Gadjah Mada.

Tripsin adalah protease serin, merupakan salah satu protease utama yang dikeluarkan oleh kelenjar pankreas. Tripsin dapat dibentuk di dalam saluran pencernaan, dari tripsinogen (calon enzim) yang tidak aktif. Kelenjar pankreas juga mengeluarkan zat penghambat tripsin (trypsin inhibitor) yang berikatan secara lambat dengan tripsin membentuk senyawa yang tidak aktif. Perubahan ben-

tuk (transformasi) dari tripsinogen yang mempunyai berat molekul 24.000 menjadi tripsin diperkirakan merupakan hidrolisis ikatan peptida tunggal (single peptide). Ikatan peptida tunggal tersebut dapat digambarkan secara skematik antara lisina dan isoleusina dan menghasilkan bentuk heksapeptida (Val - Asp 4 - Lys) yang diketahui sebagai amino terminal dan tripsin.



Reaksi auto-katalitik berjalan secara cepat dengan adanya ion Ca^{++} . Tripsinogen dapat diubah dengan cepat menjadi tripsin tanpa adanya ion Ca^{++} , apabila residu empat asam aspartat berdekatan dengan amino terminal valin yang dimodifikasi oleh amida glisin.

C. PENGARUH FITAT DAN LOGAM DIVALEN TERHADAP AKTIFITAS AMILASE

Pengaruh fitat terhadap aktifitas enzim dinyatakan dalam persen dan dapat ditentukan sebagai berikut :

% hambatan aktifitas enzim (enzym inhibition) =

$$= \frac{\text{aktifitas enzim kontrol} - \text{aktifitas enzim contoh}}{\text{aktifitas enzim kontrol}} \times 100\%$$

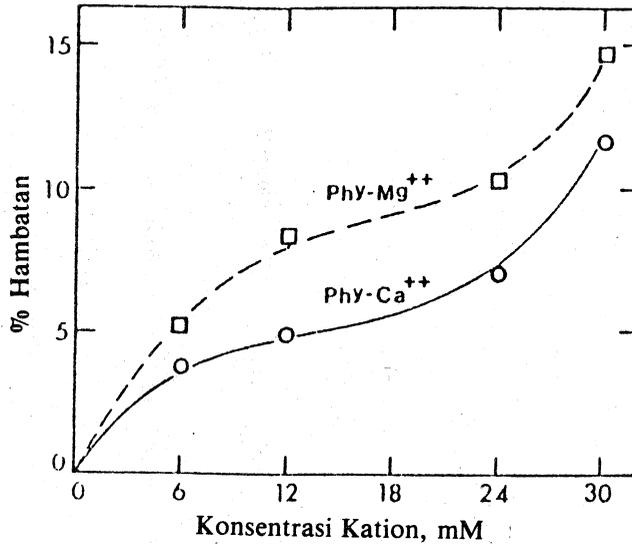
(Deshpande and Cheryah, 1984).

Kemampuan asam fitat untuk menghamb-

at aktifitas enzim ternyata ada hubungannya dengan kemampuan asam fitat untuk membentuk ikatan dengan protein. Cawley dan Mitchell (1968) menyatakan bahwa penghambatan aktivitas enzim amilase dalam kecambah wheat adalah akibat pengikatan ion Ca^{++} oleh fitat, sedangkan ion Ca^{++} tersebut sangat diperlukan untuk aktifitas dan stabilitas α amilasi (Vallee et al., 1959; Caldwell and Kung, 1953).

Pengaruh interaksi antara fitat dengan logam divalen terhadap aktifitas amilase dapat dilihat pada gambar 1.

Terbentuknya ikatan antara fitat - kalsium dan fitat - magnesium juga menghambat aktifitas enzim amilase. Adanya ion Ca^{++} dan Mg^{++} pada konsentrasi 6 sampai 30 mM masing-masing menghambat aktifitas enzim amilase antara 3,7 persen sampai 11,6 persen dan 5,1 persen sampai 14,7 persen (gambar 1). Aktifitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi asam fitat atau ratio molar antara enzim dan



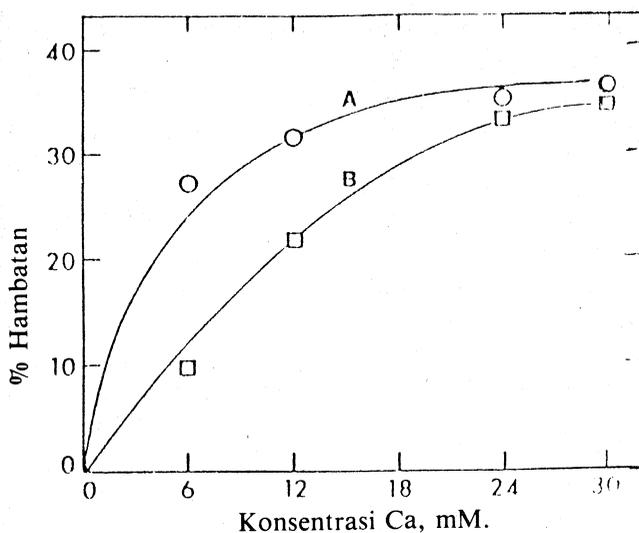
Gambar 1. Pengaruh interaksi antara fitat dengan kation terhadap penghambatan aktivitas amilase

fitat. Sharma *et al.* (1978) melaporkan bahwa konsentrasi fitat antara 2 sampai 10 mM dapat menghambat aktifitas enzim amilase berkisar antara 17 persen sampai 93 persen. Muatan listrik protein dipengaruhi oleh pH. Pada pH rendah gugusan imidasol protein enzim yang bermuatan positif akan berikatan dengan fitat (inhibitor) yang mengakibatkan aktivitas enzim menjadi terhambat. Apabila inkubasi dilakukan pada pH yang tinggi, pembentukan ikatan fitat-enzim atau enzim-fitat-substrat sangat lambat bila dibandingkan dengan pembentukan ikatan enzim-substrat.

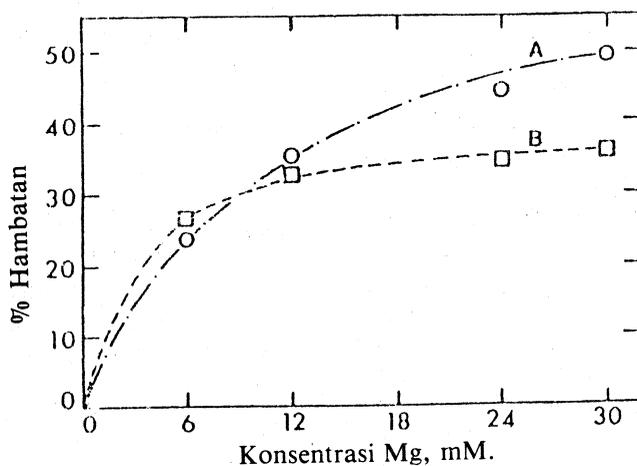
Ion Ca⁺⁺ dan Mg⁺⁺ terutama pada konsentrasi yang tinggi mempunyai pengaruh yang besar terhadap aktifitas amilase. Pada pH di atas titik isoelektrisnya, protein enzim bermuatan negatif, sehingga kation akan berikatan dengan gugusan karboksil yang bermuatan negatif. Sebaliknya pada pH di bawah titik isoelektris protein enzim, ion

Ca⁺⁺ dan Mg⁺⁺ kurang berpengaruh terhadap aktifitas enzim.

Pada konsentrasi ion Ca⁺⁺ di atas 24 mM, aktifitas amilase turun sebesar 34 persen (Gambar 2, sistem A). Sistem B dengan penambahan 2 mM asam fitat, penghambatan terhadap aktifitas enzim amilase tidak begitu besar apabila dibandingkan dengan adanya ion Ca⁺⁺ atau fitat saja (gambar 2). Konsentrasi ion Mg⁺⁺ di atas 12 mM ternyata mempunyai pengaruh yang lebih besar terhadap aktifitas amilase bila dibandingkan dengan ion Ca⁺⁺. Adanya asam fitat dengan konsentrasi ion Mg⁺⁺ yang rendah tidak mempengaruhi aktifitas amilase secara nyata (gambar 3 kurve B) (Deshpande and Cheryan, 1984). Greenwood (1970) melaporkan bahwa aktifitas enzim akan menurun akibat proses pemisahan ion logam baik dengan cara dialisis maupun dengan pengikatan oleh senyawa khelator. Penambahan ion Ca⁺⁺, enzim yang sudah tidak aktif tadi aktifitasnya akan pulih kembali.



Gambar 2. Pengaruh ion Ca^{++} terhadap penghambatan aktivitas amilase. A. α amilase dan Ca diinkubasikan selama 15 menit suhu 37°C . B. α amilase dan fitat diinkubasikan selama 10 menit kemudian ditambah ion Ca.



Gambar 3. Pengaruh ion Mg^{++} terhadap penghambatan aktivitas amilase. A. α amilase dan Mg diinkubasikan selama 15 menit pada suhu 37°C . B. α amilase dan fitat diinkubasikan selama 10 menit kemudian ditambah ion Mg.

Dari hasil penelitian ini diusulkan bahwa asam fitat dalam sereal dan kacang-kacangan lebih berperan sebagai fungsi fisiologis daripada sebagai sumber P. Biji dalam kondisi fase istirahat (dorman), asam fitat umumnya berada dalam lapisan aleuron. Diperkirakan bahwa pemecahan fitat menjadi ATP dan fosfat energi tinggi yang lain diperlukan untuk menghasilkan energi bagi perkecambahan biji. Pemecahan fitat selama perkecambahan biji berjalan secara lambat dan kandungan fitatnya menurun pada perkecambahan tingkat awal sampai mencapai 50 persen. Minailovic *et al.* (1965) juga melaporkan bahwa proses hidrolisis enzimatis asam fitat selama proses perkecambahan dilakukan dengan cara melepaskan fosfat melalui IPP, ITP, ITriP, IDP, IMP dan yang terakhir inositol dan fosfat. Sel aleuron biji mensintesis α amilase yang akan memecah pati selama perkecambahan. Pati menghasilkan energi utama untuk proses perkecambahan. Secara individual logam divalen dan asam fitat sangat menghambat aktifitas amilase dan mencegah pemecahan pati secara sempurna, sehingga proses perkecambahan biji menjadi terhenti. Senyawa fitat-mineral diduga mempunyai pengaruh yang relatif kecil terhadap aktifitas enzim amilase. Senyawa ini kemudian melepaskan kation divalen secara lambat pada saat pemecahan senyawa fitat-mineral dan terjadi selama proses perkecambahan. Fitat umumnya tahan terhadap pemanasan dan hanya sedikit yang terpecah selama pengolahan makanan. Fitat yang tersisa di dalam makanan menyebabkan penurunan nilai gizi makanan tersebut, karena akan mengikat mineral dan protein serta merusak enzim dalam saluran pencernaan.

D. PENGARUH ASAM FITAT TERHADAP AKTIFITAS TRIPSIN

Kemampuan asam fitat untuk menghambat aktifitas tripsin tergantung pada konsentrasi asam fitat dan suhu inkubasi. Pada suhu 37°C kemampuan asam fitat untuk menghambat aktifitas tripsin lebih besar bila dibandingkan pada suhu 4°C (Sing and Krikorian, 1982).

Tripsinogen merupakan calon enzim (prekursor) tripsin, mengikat ion Ca^{++} pada dua posisi (tempat), salah satu ikatannya pada bodi molekul tripsinogen, sedangkan tripsin berikatan dengan ion Ca^{++} hanya pada satu tempat. Ion Ca^{++} ini menghambat autolisis tripsin dan juga mendorong aktifitas tripsinogen untuk membentuk tripsin. Pengaruh asam fitat terhadap aktifitas tripsin disebabkan oleh terjadinya ikatan antara fitat dengan ion Ca^{++} , sehingga tidak akan terjadi perubahan bentuk dari tripsinogen menjadi tripsin.

Dapat juga terjadi interaksi langsung antara asam fitat dengan protein enzim atau protein non enzim (substrat) sehingga asam fitat akan menghambat aktifitas tripsin. Oleh karena itu asam fitat cenderung mempunyai pengaruh yang lebih besar terhadap penghambatan aktifitas tripsin.

Selain mempengaruhi aktifitas amilase, asam fitat juga menghambat aktifitas enzim fosfatase, karboksipeptidase, leusin amino peptidase, karena ion Zn^{++} sebagai aktivatornya akan diikat oleh asam fitat. Perlu diingat bahwa kalsium dan seng berada dalam insulin yang dikeluarkan oleh kelenjar pankreas. Kekurangan Ca akan menghalangi pengeluaran insulin, sedangkan Zn diperlukan untuk melepaskan insulin dari simpanan dalam kelenjar pankreas. Pro-

ses perubahan proinsulin menjadi insulin terjadi seperti pada proses perubahan dari tripsinogen menjadi tripsin. Fitat tidak hanya menghambat aktifitas tripsin, tetapi juga menghalangi pembentukan tripsin dari tripsinogen. Salah satu sebab utamanya adalah pembentukan senyawa fitat-protein yang tidak larut.

E. PENUTUP

Pengaruh asam fitat dan senyawanya serta kation valensi dua (Ca^{++} dan Mg^{++}) terhadap aktifitas amilase tergantung pada konsentrasi fitat. Pada konsentrasi 6 sampai 30mM ion Ca^{++} menyebabkan penurunan aktifitas enzim amilase 9 sampai 34 persen, sedangkan 6 sampai 30 mM ion Mg^{++} mengurangi aktifitas enzim amilase sebesar 24 sampai 49 persen. Apabila kation valensi dua ditambahkan serentak bersama asam fitat, maka ion Ca^{++} sedikit meningkatkan aktifitas amilasi dan ion Mg^{++} menghambat aktifitas amilase yang lebih besar bila dibandingkan dengan apabila kation dan asam fitat diberikan sendiri-sendiri. Selain itu pada konsentrasi yang rendah asam fitat sudah mempengaruhi aktifitas enzim proteolitik tripsin dan menghambat transformasi dari tripsinogen menjadi tripsin.

Dilihat dari kedua masalah tersebut di atas, jelas bahwa asam fitat perlu mendapat perhatian yang serius agar penyerapan gizi dan metabolisme di dalam tubuh tidak terganggu. Oleh karena itu asam fitat yang ada di dalam bahan makanan perlu dikurangi atau dihidrolisis.

F. DAFTAR PUSTAKA

- Biswas, S.S., and B.B. Biswas, 1965. *J. Biol. Chem.*, 189, 65.
- Caldwell, M.L., and J.T. Kung, 1953. *J. Amer. Chem. Soc.* 75, 3132.
- Cawley, R.W., and T.A. Mitchell, 1968 *J. Sci. Food Agric.*, 19, 106.
- Deshpande, S.S., and M. Cheryan, 1984. *J. Food Sci.*, 49, 516.
- Greenwood, C.T., 1970. *The carbohydrates*. (Ed) W. Pigman and D. Hoston. Vol. 2 B. Academic Press, New York.
- Hall, J.R., and T.K. Hodges, 1966. *Plant Physiol.*, 41, 1459.
- Minailovic, M.L., M. Antic and D. Hadzije, 1965. *Plant Soil*, 23, 117.
- Sharma, C.B., M. Goel and M. Irshad, 1978. *Phytochem.*, 17, 201.
- Singh, M., and A.D. Krikorian, 1982. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 799.
- Vallee, B.L., E.A. Stein, W. Sumerwell and E.H. Fischer, 1959. *J. Biol. Chem.*, 234, 2901.
- Williams, S.G., 1970. *Physiol.*, 45, 376.