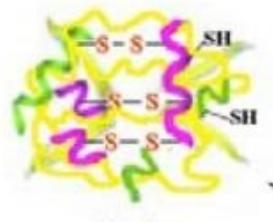


PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fisin merupakan enzim yang diekstrak dari getah batang, buah dan daun tumbuhan ara (*Ficus sp*) yang dapat menghirolisis ikatan kimia yang ada pada protein alami seperti ikatan ester dan ikatan peptida (Cai, Jiaju, Guosheng, Haide, Anhua dan Jian, 2015). Nama enzim fisin pertama kali diciptakan oleh Robbins pada tahun 1930 yang dikenal dengan istilah “Ficin”, kemudian pada tahun 1992 IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) merekomendasikan enzim fisin diberi nama “Ficain”. Kehadiran fisin dari getah tanaman ara telah ditetapkan nomor EC-nya (*Enzyme Commission*) yaitu EC 3.4.22.3. Telah diketahui selama bertahun-tahun bahwa getah yang mengalir dari potongan batang, daun dan buah mentah dari spesies genus *Ficus sp*. mengandung aktivitas proteolitik (Singleton dan David, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zare, Ali, Moosavi-Movahedi, Maryam, Morteza, Ali dan Nader (2013) getah dari tumbuhan ara mengandung 10% protein yang terdiri dari 9% fisin dan 1% protein lain, 20% getah dan 70% air pada spesies *Ficus carica* cv. Sabz.

Fisin termasuk ke dalam protease sulfidril yaitu enzim yang mempunyai gugus sulfidril (S-H) pada bagian aktifnya. Fisin merupakan sistein endopeptidase dengan 210 asam amino (Shah, Shabir dan Aray, 2014). Menurut Katsaros, Katapodis dan Taoukis (2009) sisi aktif enzim fisin terdiri dari 2 asam amino yaitu sistein (Cys-25) dan histidin (His-159). Protease sulfidril ini disebut juga thiolprotease dan keaktifannya sangat tinggi (Winarno, 1983). Fisin merupakan enzim yang kuat dengan memiliki stabilitas yang baik. Enzim ini mengandung residu sistein yang memainkan peran penting dalam aktivitas enzimatik (Liener dan Friedenson, 1970). Anggota lain dari kelas ini yaitu papain yang telah banyak diteliti sebelumnya (Singleton dan David, 2013). Fisin dan papain banyak memiliki sifat umum yang sama, sehingga mekanisme kedua enzim ini juga diketahui serupa (Wang, Zhang dan Jiang, 2014). Sangat sedikit informasi struktural tentang fisin yang tersedia (Devaraj *et al.*, 2008). Menurut Zheng, Jiahui, Danyang, Yadi, Yijuan, dan Huzhi (2019) enzim fisin murni memiliki 3 ikatan disulfida dan 2 gugus sulfidril yang terlihat pada Gambar 1.



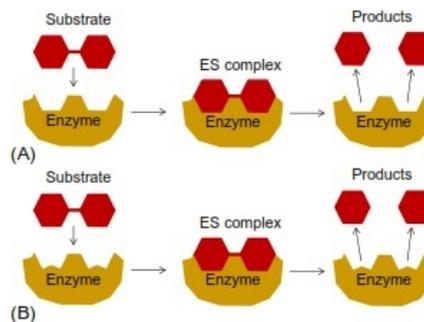
Gambar 1. Struktur Enzim Fisin
(Sumber : Zheng *et al.*, 2019)

Fisin telah diaplikasikan dalam bidang pangan maupun non pangan. Fisin bisa digunakan dalam pengempukan daging (Ramezani *et al.*, 2003 ; Miller *et al.*, 1988 ; Cormier *et al.*, 1989), penggumpalan susu (Siar *et al.*, 2019), pembuatan keju (Mazri *et al.*, 2018 ; Ben Amira *et al.*, 2017 ; Nouani *et al.*, 2009 ; Akar dan Sibel, 1999 ; El-Shibiny *et al.*, 1973 ; Rifaat *et al.*, 1970), pembuatan teleme (Oner dan Akbar, 1993), pembuatan VCO (Safriani, Rini dan Bakhtiar, 2011), dan pada industri non pangan seperti pada bidang kesehatan yaitu pengobatan pada penyakit asam urat, bisul dan kutil (Oliviera *et al.*, 2010), pendeteksi senyawa antibody (Bruneton, 2009), pendeteksi senyawa glukosa (Zheng, Liu, Yi, Pan, Long, dan Zheng, 2020), pendeteksi senyawa biothiol (Zheng *et al.*, 2019), aktivasi dan nonaktivasi dari faktor x manusia (Richter *et al.*, 2002).

Secara umum mekanisme kerja enzim terjadi dengan beberapa tahap, pertama molekul substrat akan berkontak dengan sisi aktif enzim oleh ikatan non kovalen, kemudian pada tahap kedua substrat dan enzim akan membentuk enzim substrat kompleks, selanjutnya pada tahap ketiga pemecahan enzim substrat kompleks akan menghasilkan produk yang dilepaskan dari sisi aktif enzim, dan terakhir enzim yang sudah melepas produk tidak akan berubah dan dapat mengkatalisasi reaksi baru (Kuddus, 2019).

Mekanisme kerja enzim dalam membentuk produk dijelaskan dalam 2 model, yaitu menurut *Lock and Key Model* dan *Induced-Fit Model*, sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2. Pada tahun 1894, Emil Fischer mengusulkan teori *Lock and Key* yang menjelaskan bahwa substrat dan enzim memiliki bentuk geometris tertentu yang bisa cocok satu sama lain, kemudian pada tahun 1958 ilmuwan yang bernama Daniel Koshland mengajukan beberapa modifikasi dari teori sebelumnya yang menjelaskan hipotesis *Lock and Key*. Daniel menyatakan bahwa enzim bersifat sangat fleksibel sehingga ketika molekul substrat berikatadengan enzim maka substrat akan menginduksi sisi aktif enzim untuk

pengikatan substrat dan katalisasi.



Gambar 2. (A) *Lock and Key Model*. (B) *Induced-Fit Model*.

(Sumber : Kuddus, 2019)

Akhir-akhir ini para peneliti telah banyak melakukan penelitian untuk mengekstrak, memurnikan dan mengkarakterisasi enzim fisin dengan berbagai metode yang mudah dan tidak memakan waktu serta biaya yang banyak. Enzim fisin dapat diekstraksi dari getah pada batang, buah dan daun tumbuhan ara. Ekstraksi enzim fisin bisa diekstrak dengan menggunakan air dan buffer sebagai pelarut tambahan, akan tetapi enzim fisin bisa juga langsung disentrifugasi, sehingga nanti supernatan yang mengandung enzim fisin bisa diaplikasikan dalam bidang pangan. Pengendapan dengan menggunakan garam merupakan salah satu metode pemurnian enzim pada tahap awal yang paling sering digunakan seperti dengan menggunakan garam ammonium sulfat dan sodium sulfat. Metode ini terbilang sederhana dan ekonomis, akan tetapi metode ini masih belum efisien dalam pemurnian enzim dikarenakan masih menyisakan garam-garam yang tertinggal selama proses pengendapan, maka dari itu enzim perlu dimurnikan dengan tahap lebih lanjut untuk memperoleh hasil yang lebih maksimum. Metode kromatografi merupakan metode yang telah digunakan dari dahulu dan paling sering digunakan dalam pemurnian enzim dengan menggunakan kolom kromatografi serta mampu memurnikan enzim dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Akan tetapi metode ini membutuhkan biaya yang besar dan waktu yang lama, sehingga membuat para peneliti tertarik untuk menciptakan metode-metode pemurnian enzim lainnya dengan biaya yang murah, simpel dan tidak memakan waktu yang lama. Penelitian tersebut antara lain Gagaoua *et al.* (2014) yang mengekstrak enzim fisin dengan menggunakan pelarut air dan memurnikan enzim fisin dengan metode *Three Phase Partitioning* (TPP). Pemurnian enzim fisin juga

telah dilakukan dengan metode *Aqueous Two-Phase System* (ATPS) (Cai *et al.*, 2015 ; Feng dan Ma, 2010). Devaraj *et al.* (2008) juga melakukan ekstraksi dan pemurnian fisin dengan metode pengendapan menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan kromatografi. Penelitian lain dilakukan oleh Lu *et al.* (2008) yaitu ekstraksi enzim fisin dengan menggunakan buffer fosfat dan memurnikan enzim fisin dengan metode kromatografi dan oleh Mnif *et al.* (2014) yang memurnikan fisin dengan metode pengendapan aseton 20-40% dan kromatografi. Pada tahun 2017 ekstraksi dan purifikasi enzim fisin juga dilakukan oleh Homaei *et al.* dengan metode pengendapan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan metode kromatografi. Karakterisasi enzim fisin telah dilakukan juga oleh para peneliti sebelumnya, seperti penentuan pH optimum enzim fisin, penentuan suhu optimum enzim fisin, penentuan termostabilitas enzim fisin, penentuan berat molekul enzim fisin (Daffri *et al.*, 2019 ; Homaei *et al.*, 2017 ; Baeyens-Volant *et al.*, 2015 ; Raskovic *et al.*, 2014 ; Gagaoua *et al.*, 2014 ; Mnif *et al.*, 2014 ; Devaraj *et al.*, 2008 ; Lu *et al.*, 2008 ; Sugiura *et al.*, 1974 ; Krott *et al.*, 1974 ; Englund *et al.*, 1968 ; Williams *et al.*, 1969).

Ekstraksi, purifikasi dan karakterisasi enzim fisin telah dilakukan dengan menggunakan metode dan teknik yang berbeda-beda, oleh karena itu perlu dibuat suatu kajian yang membandingkan ekstraksi, purifikasi dan karakterisasi enzim fisin dari masing-masing metode sehingga diperolehnya metode yang paling efektif dan efisien sesuai dengan kebutuhan. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan studi literatur dengan judul **“Metode Ekstraksi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Fisin”**.

1.2 Tujuan Penulisan

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk mengetahui metode ekstraksi, purifikasi dan karakterisasi enzim fisin yang paling efektif dalam aplikasi bidang pangan dan non pangan.

1.3 Manfaat Penulisan

Penulisan skripsi ini dapat dijadikan rujukan dalam memilih metode yang efektif untuk ekstraksi, purifikasi dan karakterisasi enzim fisin dalam aplikasi bidang pangan dan non pangan

