

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Karbohidrat

Karbohidrat adalah senyawa organik yang terdiri dari atom karbon, hidrogen, dan oksigen dengan perbandingan atom hidrogen dan oksigen 2:1. Berdasarkan jumlah unit monosakaridanya, karbohidrat dibagi menjadi monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Pati, sebagai polisakarida cadangan makanan pada tumbuhan, merupakan substrat utama bagi enzim alfa amilase. Selain pati, selulosa dan glikogen juga merupakan contoh polisakarida (Mardhatilah, 2017). Karbohidrat memiliki peran penting sebagai sumber energi dalam tubuh, menyediakan sekitar 4 kalori per gram. Karakteristik bahan pangan seperti rasa, warna, dan tekstur juga dipengaruhi oleh kandungan karbohidrat. Berdasarkan struktur molekulnya, karbohidrat dapat diklasifikasikan menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Monosakarida merupakan unit dasar karbohidrat. (Mardhatilah, 2017)

#### B. Hidrolisis Karbohidrat

Proses hidrolisis terhadap senyawa karbohidrat merupakan suatu mekanisme reaksi kimia yang melibatkan pemutusan ikatan glikosidik pada rantai polimer, seperti polisakarida, menjadi unit-unit yang lebih sederhana, yakni oligosakarida maupun monosakarida. Secara fundamental, istilah *hidrolisis* merujuk pada reaksi kimia yang melibatkan pemecahan ikatan kovalen dalam suatu molekul melalui penambahan molekul air ( $H_2O$ ). Dengan demikian, hidrolisis karbohidrat dapat dipahami sebagai reaksi antara molekul air dengan struktur rantai panjang dari polimer karbohidrat, yang menghasilkan fragmen-fragmen molekul baru dengan ukuran yang lebih kecil. (Sylvia dkk, 2015)

Menurut Sylvia dkk (2015), pelaksanaan hidrolisis karbohidrat dapat dilakukan melalui dua pendekatan utama, yaitu secara kimiawi maupun enzimatis, tergantung pada kondisi lingkungan reaksi seperti suhu, pH, dan durasi waktu yang digunakan. Metode hidrolisis secara kimia biasanya memanfaatkan senyawa asam, khususnya asam organik, yang berperan sebagai katalisator dalam mempercepat proses pemutusan ikatan kimia. Dalam hal ini, penggunaan asam kuat maupun asam lemah dinilai lebih efektif dalam mendepolimerisasi struktur polisakarida seperti pati dibandingkan dengan penggunaan senyawa basa.

Hal ini disebabkan karena senyawa basa berpotensi memicu reaksi samping yang tidak diinginkan, seperti karamelisasi, yang dapat mengubah struktur kimia dan sifat fisik polisakarida tersebut, sehingga mengganggu hasil analisis yang diinginkan. Oleh karena itu, pendekatan asam lebih disukai dalam proses hidrolisis karbohidrat, terutama dalam konteks analisis ilmiah dan penelitian yang memerlukan integritas struktur senyawa hasil hidrolisis. (Sylvia dkk, 2015)

### **C. Enzim**

Enzim adalah senyawa protein yang menangani reaksi kimia yang memungkinkan kehidupan. Karena kekuatan katalitiknya yang luar biasa dan tingkat spesifisitasnya yang tinggi terhadap substrat, enzim cocok untuk reaksi biologis dan penting untuk metabolisme sel. (Jasman & Lawa, 2017)

Reaksi biokimia dapat berlangsung lebih cepat tanpa enzim, tetapi dengan enzim, reaksi dapat berlangsung jauh lebih cepat, bahkan hingga 10<sup>7</sup> kali lebih cepat. Pada kondisi lunak, reaksi berkatalis enzim biasanya terjadi pada suhu di bawah 1000 derajat Celcius, tekanan 76 atmosfer, dan pH netral. Enzim bekerja dengan substrat dengan sangat spesifik, menghasilkan produk yang juga spesifik. Bergantung pada

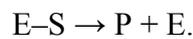
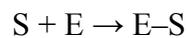
konsentrasi substrat atau molekul lain, aktivitas enzim dapat disesuaikan (Jasman & Lawa, 2017) .

Menurut (Wahyuni, 2017), enzim dikelompokkan dalam 6 klas utama secara internasional yaitu:

1. *Oksidoreduktase*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi (transfer elektron).
2. *Transferase*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus dari satu molekul ke molekul lain seperti amina, karboksil, karbonil, metil, asil, glikosil atau fosforil.
3. *Hidrolase*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis (transfer gugus fungsional ke molekul air).
4. *Liase*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi penambahan gugus ke ikatan rangkap (pemutusan ikatan C-C, C-O, C-N dan ikatan lain untuk membentuk ikatan ganda).
5. *Isomerase*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi isomerase (perubahan struktur dan geometrik dalam molekul tunggal/substrat tanpa merubah komposisi substrat).
6. *Ligase (sintetase)*: Kelompok enzim yang mengkatalisis reaksi pembentukan ikatan kovalen.

Mekanisme kerja enzim bergantung pada reaksi kimia, di mana enzim mengikat ke substrat dan akhirnya membentuk kompleks enzim substrat. Tempat enzim melakukan reaksi ini disebut situs aktif atau katalitik. Sifat interaksi enzim dengan substrat menentukan mekanisme kerja enzim, yang menjelaskan sifat unik reaksi katalisis. Beberapa asam amino asam yang terletak pada jarak tertentu satu sama lain dalam rantai peptida membentuk tempat enzim yang aktif atau katalitik.

Struktur sekunder dan tersier enzim membuat asam amino ini berdekatan dengan ikatan. Rantai samping residu asam amino pada situs katalitik memberikan kelompok untuk mengikat dengan kelompok tertentu dari substrat. Kofaktor berkontribusi pada proses katalisis. Substrat dan residu asam amino mengikat domain dari situs aktif. Reaksi dihasilkan oleh pengikatan. Enzim katalisis reaksi dalam dua langkah. Pada tahap pertama, molekul enzim (E) dan molekul substrat atau molekul (S) bertabrakan dan bereaksi, membentuk senyawa yang disebut kompleks enzim-substrat (E-S). Langkah ini reversibel karena kompleks dapat terpecah menjadi substrat asli atau substrat dan enzim bebas. Setelah pembentukan kompleks E-S, enzim memiliki kemampuan untuk mengatalisis pembentukan produk (P), yang kemudian dilepaskan dari enzim permukaan (Hikmah dkk., 2022):



Ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik lainnya mencegah enzim dan substrat terikat satu sama lain dalam kompleks. Ciri-ciri struktural atau gugus fungsi enzim yang berpartisipasi dalam interaksi ini ditemukan di celah atau saku di permukaan enzim. Kantong ini disebut tempat enzim bergabung dengan substrat dan menghasilkan produk (Hikmah dkk, 2022).

#### **D. Enzim alfa-amilase**

Enzim amilase merupakan kelompok enzim hidrolitik yang berperan penting dalam katalisis pemutusan ikatan glikosidik yang terdapat dalam polimer pati, yaitu rantai panjang glukosa. Aktivitas utama enzim ini adalah mendepolimerisasi molekul pati menjadi unit-unit gula yang lebih kecil dan mudah diserap. Seiring

berkembangnya kebutuhan industri pangan, farmasi, dan bioteknologi, pemanfaatan enzim amilase mengalami peningkatan yang signifikan setiap tahunnya. Berdasarkan laporan dari Nangin dan Sutrisno (2015), enzim amilase menyumbang tidak kurang dari 25% dari total penggunaan enzim secara global, menjadikannya salah satu enzim paling banyak digunakan dalam aplikasi industri.

Amilase terdiri atas beberapa jenis yang diklasifikasikan berdasarkan mekanisme spesifiknya dalam memutus ikatan glikosidik pada molekul substrat. Penemuan berbagai jenis baru dari enzim ini telah memperkaya klasifikasi amilase dan memperluas potensi penggunaannya di berbagai bidang. Beberapa tipe utama amilase yang telah banyak dikaji meliputi  $\alpha$ -amilase (alfa-amilase),  $\beta$ -amilase (beta-amilase), dan  $\gamma$ -amilase (gamma-amilase). Masing-masing dari enzim ini menunjukkan aktivitas yang khas tergantung pada posisi dan jenis ikatan glikosidik yang menjadi target hidrolisisnya (Nangin & Sutrisno, 2015).

Secara lebih rinci,  $\alpha$ -amilase merupakan jenis amilase yang memiliki kemampuan untuk memutus ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik secara acak di sepanjang rantai glukosa. Hasil hidrolisis dari aktivitas  $\alpha$ -amilase berupa dekstrin, oligosakarida, serta monosakarida. Karena cara kerjanya yang menyerang ikatan di tengah rantai,  $\alpha$ -amilase dikategorikan sebagai endo-amilase. Sebaliknya, exo-amilase, seperti  $\beta$ -amilase, hanya dapat menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik dari ujung non-reducing dari rantai polisakarida secara berurutan, sehingga menghasilkan maltosa secara progresif (Ariandi, 2016).

Dari sudut pandang struktur biokimia, enzim  $\alpha$ -amilase memiliki situs aktif yang mengandung gugus-gugus penting, yaitu gugus karboksil dan nitrogen, yang berperan dalam proses pengkatalisan reaksi hidrolisis. Substrat yang berikatan dengan enzim akan membentuk kompleks enzim-substrat, di mana bagian substrat yang

mengandung ikatan glikosidik akan berada dalam posisi yang strategis terhadap gugus karboksil dan kelompok imidazol di dalam sisi aktif. Dalam mekanisme reaksi ini, gugus karboksilat bertindak sebagai nukleofil, menyerang atom karbon nomor satu (C1) pada gugus glikosidik substrat, yang bertujuan untuk menetralkan muatan positif yang terdapat dalam sistem rantai imidazol. Selanjutnya, selama proses deglukosilasi, gugus imidazol bertindak sebagai agen katalitik yang membantu dalam eliminasi molekul air dari posisi C1, sehingga memfasilitasi pembentukan produk akhir hidrolisis (Ariandi, 2016).

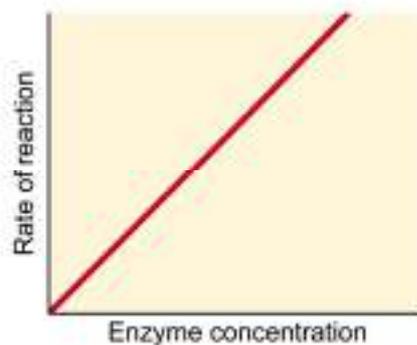
Mekanisme kerja  $\alpha$ -amilase berlangsung dalam dua tahap utama. Tahap pertama merupakan proses hidrolisis awal yang terjadi dengan cepat dan secara acak pada molekul amilosa, menghasilkan produk antara berupa maltosa dan maltotriosa. Reaksi ini disertai dengan penurunan viskositas sistem reaksi, yang merupakan indikator pemecahan struktur polimerik pati. Tahap kedua melibatkan reaksi lanjutan yang lebih spesifik, di mana enzim menghasilkan glukosa dan maltosa sebagai produk akhir. Pada tahap ini, pemutusan ikatan glikosidik tidak terjadi secara acak, melainkan mengikuti pola kerja tertentu dari enzim.

Ketika substrat yang dihidrolisis berupa amilopektin, yaitu polisakarida bercabang yang mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik selain  $\alpha$ -1,4-glikosidik,  $\alpha$ -amilase mampu menghasilkan berbagai produk seperti glukosa, maltosa, dan  $\alpha$ -limit dextrins. Produk  $\alpha$ -limit dextrin merupakan oligosakarida bercabang yang terbentuk akibat keterbatasan  $\alpha$ -amilase dalam memutuskan ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik. Selain itu, juga dihasilkan oligosakarida kompleks yang terdiri atas empat atau lebih satuan glukosa. Aktivitas ini menunjukkan bahwa  $\alpha$ -amilase lebih aktif pada ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik dan memerlukan kerja sama dengan enzim lain, seperti amiloglukoidase atau enzim debranching, untuk degradasi sempurna amilopektin (Ariandi, 2016).

## E. Faktor faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim

### 1. Konsentrasi Enzim

Sebagaimana prinsip dasar dalam kinetika enzimatik, kecepatan atau laju suatu reaksi biokimia yang melibatkan enzim sangat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yang tersedia dalam sistem reaksi. Sama halnya dengan katalis pada umumnya, semakin tinggi jumlah enzim yang tersedia untuk berinteraksi dengan substrat, maka semakin besar pula kemungkinan terjadinya pembentukan kompleks enzim-substrat, yang pada akhirnya akan meningkatkan laju reaksi.



Gambar 2.1 : Pengaruh konsentrasi enzim

(Amaduzzi, Alberto.,2021)

Pada kondisi di mana konsentrasi substrat dijaga tetap dalam jumlah tertentu dan cukup berlebih, peningkatan konsentrasi enzim secara proporsional akan menyebabkan percepatan reaksi hingga mencapai suatu titik tertentu. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan linier antara konsentrasi enzim dan laju reaksi pada tahap awal reaksi, sebelum terjadi kejenuhan substrat. Fenomena ini ditunjukkan secara grafis pada Gambar 2.1, yang menggambarkan hubungan antara peningkatan konsentrasi enzim dengan kecepatan reaksi ( $V$ ), yang dalam hal ini direpresentasikan sebagai aktivitas enzimatik (Amaduzzi, Alberto.,2021)

Data yang digunakan untuk menyusun grafik tersebut diperoleh melalui pengukuran jumlah miligram gula reduksi yang terbentuk dalam rentang waktu

tertentu, sebagai hasil dari reaksi hidrolisis pati yang dikatalisis oleh enzim amilase. Dalam percobaan ini, konsentrasi substrat dijaga tetap pada kondisi optimum dan digunakan dalam jumlah berlebih untuk memastikan bahwa perubahan laju reaksi yang diamati semata-mata disebabkan oleh variasi konsentrasi enzim, bukan karena keterbatasan substrat. Selain itu, kondisi reaksi dikendalikan pada pH optimum, yaitu nilai pH di mana enzim amilase menunjukkan aktivitas maksimalnya (Ischack, dkk 2017).

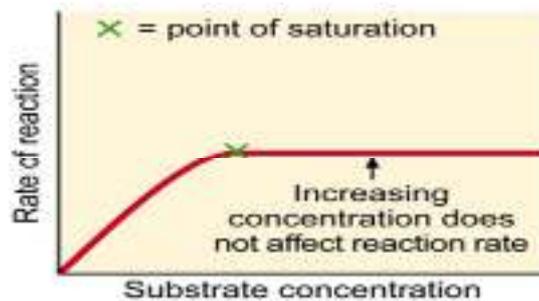
Peningkatan konsentrasi enzim dalam sistem reaksi akan meningkatkan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan substrat, sehingga memperbesar kemungkinan terbentuknya kompleks enzim-substrat. Namun, apabila konsentrasi substrat sudah habis atau berada dalam jumlah terbatas, maka peningkatan konsentrasi enzim selanjutnya tidak akan memberikan pengaruh signifikan terhadap laju reaksi, dan sistem akan mencapai fase jenuh (saturasi), di mana semua molekul substrat telah terikat dengan enzim yang tersedia.

## 2. Konsentrasi substrat

Berdasarkan hasil penelitian eksperimental, diketahui bahwa peningkatan konsentrasi substrat pada sistem reaksi enzimatik yang mengandung konsentrasi enzim tetap akan menyebabkan peningkatan laju reaksi biokatalitik. Peningkatan ini berlangsung hingga titik tertentu, di mana semua molekul enzim telah membentuk kompleks dengan substratnya. Setelah titik jenuh tersebut tercapai, penambahan substrat lebih lanjut tidak akan memberikan dampak yang signifikan terhadap peningkatan kecepatan reaksi. Fenomena ini divisualisasikan secara grafis pada Gambar 2.2, yang memperlihatkan kurva hubungan antara konsentrasi substrat dan laju reaksi (Ischack, dkk 2017)

Fenomena tersebut dijelaskan secara teoritis oleh Michaelis dan Menten melalui model kinetika enzim yang mereka usulkan. Dalam model tersebut, dinyatakan bahwa pembentukan kompleks enzim-substrat (ES) merupakan tahap awal yang esensial dalam proses katalisis enzimatis. Pembentukan kompleks ini hanya dapat terjadi apabila terdapat interaksi langsung antara molekul substrat dengan sisi aktif (active site) dari enzim. Sisi aktif merupakan suatu lokasi spesifik pada struktur tiga dimensi enzim yang memiliki konfigurasi dan afinitas tinggi terhadap substrat tertentu. Pada kondisi konsentrasi substrat rendah, hanya sebagian kecil dari sisi aktif enzim yang dapat berikatan dengan molekul substrat. Hal ini menyebabkan pembentukan kompleks enzim-substrat berlangsung secara terbatas, sehingga laju reaksi masih relatif rendah. Namun, seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat dalam sistem, semakin banyak molekul substrat yang dapat berinteraksi dan berikatan dengan sisi aktif enzim, sehingga jumlah kompleks ES meningkat secara proporsional. Akibatnya, laju reaksi mengalami peningkatan yang signifikan, karena lebih banyak substrat dikonversi menjadi produk setiap satuan waktu. Akan tetapi, peningkatan ini tidak berlangsung secara tak terbatas. Ketika semua sisi aktif dari molekul enzim telah terisi penuh oleh substrat—suatu kondisi yang disebut kejenuhan enzimatis (enzyme saturation) maka pembentukan kompleks ES mencapai maksimum. Dalam kondisi ini, seluruh molekul enzim telah berpartisipasi dalam reaksi dan tidak tersedia lagi sisi aktif yang bebas untuk substrat tambahan. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi substrat terus ditingkatkan, kecepatan reaksi akan mendatar dan tidak mengalami kenaikan lebih lanjut, karena laju pembentukan produk tidak lagi ditentukan oleh jumlah substrat, melainkan oleh jumlah enzim aktif yang tersedia (Ischack,dkk 2017)

Kondisi ini secara matematis dijelaskan dalam persamaan Michaelis-Menten, yang merumuskan hubungan antara kecepatan reaksi, konsentrasi substrat, dan konstanta afinitas enzim terhadap substratnya. Model ini menjadi dasar dari studi kinetika enzim dan sangat penting dalam memahami batas-batas efisiensi enzim dalam berbagai sistem biologis dan aplikasi industri.



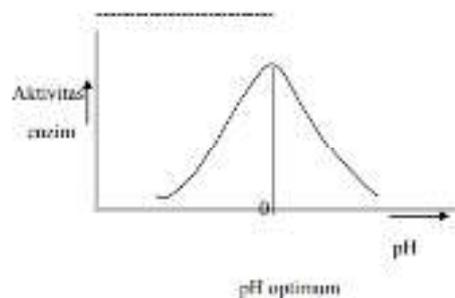
Gambar: 2.2 Pengaruh Konsentrasi Substrat

(Amaduzzi, Alberto.,2021)

### 3. pH

Sebagai makromolekul protein yang bersifat sensitif terhadap lingkungan, struktur ionik enzim sangat dipengaruhi oleh tingkat keasaman (pH) medium tempat terjadinya reaksi biokatalitik. Sama seperti protein pada umumnya, enzim dapat mengalami perubahan bentuk ionik tergantung pada nilai pH lingkungan, yang menyebabkan enzim dapat berwujud dalam bentuk ion bermuatan positif, ion bermuatan negatif, maupun ion bermuatan ganda (zwitterion). Perubahan dalam bentuk muatan ini secara langsung memengaruhi konfigurasi sisi aktif enzim, yakni bagian dari struktur enzim yang bertanggung jawab terhadap pengikatan substrat dan pembentukan kompleks enzim-substrat. Variasi nilai pH lingkungan dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada distribusi muatan listrik di sisi aktif enzim, sehingga afinitas enzim terhadap substrat pun mengalami fluktuasi. Akibatnya, efisiensi reaksi enzimatik dapat meningkat atau

menurun tergantung pada seberapa ideal kondisi pH tersebut terhadap kestabilan dan bentuk aktif enzim. Dalam kondisi ekstrem baik pH yang terlalu rendah (bersifat asam) maupun pH yang terlalu tinggi (bersifat basa) struktur tiga dimensi enzim dapat terganggu melalui proses denaturasi, yaitu peristiwa di mana struktur sekunder, tersier, atau kuartener protein mengalami kerusakan permanen. Denaturasi ini mengakibatkan hilangnya fungsi katalitik enzim dan menurunnya aktivitas enzimatis secara drastis (Ischack,dkk 2017)



Gambar 2.3 : Hubungan Antara Aktivitas Enzim dengan pH (Ischack.dkk 2017)

menyajikan hubungan antara nilai pH lingkungan dengan aktivitas enzim, yang digambarkan dalam bentuk kurva. Dari kurva tersebut tampak bahwa terdapat rentang pH tertentu, yang disebut sebagai pH optimum, di mana enzim menunjukkan aktivitas tertingginya, yaitu kondisi di mana kecepatan reaksi berada pada titik maksimal. Di luar rentang pH ini, baik ke arah asam maupun basa, aktivitas enzim menurun secara signifikan akibat terganggunya interaksi enzim dan substrat maupun terjadinya perubahan konformasi protein. Untuk enzim amilase, misalnya, nilai pH optimum dapat ditentukan melalui eksperimen dengan cara mengukur jumlah gula reduksi (dalam satuan miligram) yang dihasilkan dari serangkaian reaksi enzimatis. Dalam percobaan tersebut, enzim

amilase diinkubasi bersama substrat berupa amilum (pati) dalam berbagai kondisi pH yang berbeda. Aktivitas enzim kemudian dievaluasi berdasarkan jumlah produk gula yang terbentuk dalam kurun waktu tertentu. Melalui pendekatan ini, akan diperoleh data yang memungkinkan identifikasi (Ischack.dkk 2017).

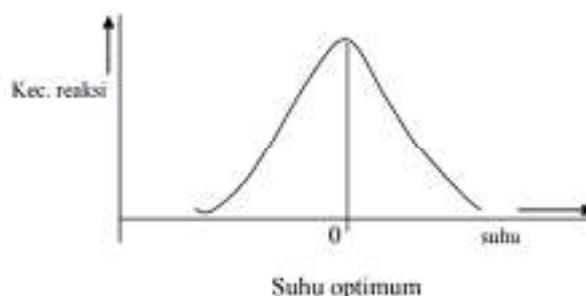
#### 4. Pengaruh Suhu

Dalam proses-proses biokimia, suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang memiliki pengaruh signifikan terhadap kecepatan reaksi enzimatik. Secara umum, pada suhu rendah, energi kinetik dari molekul-molekul reaktan berada pada tingkat yang minimal, sehingga frekuensi tumbukan antar molekul menjadi rendah. Akibatnya, laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim berlangsung dengan sangat lambat. Sebaliknya, peningkatan suhu dalam batas tertentu akan meningkatkan energi kinetik dari molekul-molekul substrat, sehingga memperbesar kemungkinan terbentuknya kompleks enzim-substrat, yang pada akhirnya meningkatkan kecepatan reaksi (Ischack dkk., 2017).

Namun demikian, perlu dicatat bahwa enzim merupakan molekul protein globular yang memiliki struktur tiga dimensi yang spesifik dan rentan terhadap perubahan suhu. Jika suhu lingkungan dinaikkan melebihi ambang batas tertentu, maka struktur konformasi enzim akan mengalami gangguan melalui proses . Denaturasi ini ditandai dengan rusaknya ikatan hidrogen, ikatan disulfida, dan interaksi hidrofobik yang mempertahankan struktur tersier enzim. Akibatnya, situs aktif enzim yaitu bagian dari enzim yang berperan dalam pengikatan substrat—akan mengalami deformasi atau kehilangan bentuk fungsionalnya. Hal ini menyebabkan penurunan drastis dalam kemampuan enzim untuk mengikat substrat, sehingga konsentrasi efektif enzim menurun dan kecepatan reaksi berkurang secara signifikan. Sebelum terjadi denaturasi, peningkatan suhu dapat

memberikan efek akseleratif terhadap reaksi enzimatik. Fenomena ini dijelaskan oleh koefisien suhu, yang dikenal dengan simbol  $Q_{10}$ , yaitu rasio peningkatan laju reaksi akibat peningkatan suhu sebesar  $10^{\circ}\text{C}$ . Dalam reaksi enzimatik, nilai  $Q_{10}$  umumnya berkisar antara 1,1 hingga 3,0, yang berarti bahwa setiap kenaikan suhu sebesar  $10^{\circ}\text{C}$  dapat meningkatkan kecepatan reaksi sebesar 1,1 hingga 3 kali lipat, tergantung pada jenis enzim dan kondisi sistem yang digunakan. Namun, seiring dengan semakin meningkatnya suhu mendekati titik kritis, proses denaturasi mulai terjadi, dan efek negatif dari suhu tinggi mulai mengimbangi atau bahkan melampaui efek positif dari peningkatan energi kinetik. Karena adanya dua pengaruh yang saling bertentangan yaitu percepatan kinetik dan kerusakan struktural protein—maka akan terdapat suatu titik maksimum pada grafik hubungan antara suhu dan laju reaksi. Titik ini disebut sebagai suhu optimum, yaitu suhu spesifik di mana suatu enzim menunjukkan aktivitas katalitik tertinggi sebelum aktivitasnya mulai menurun akibat denaturasi (Ischack, dkk 2017).

Hubungan ini dapat diamati pada Gambar 2.4, yang menggambarkan hubungan antara suhu (dalam derajat Celsius) dan kecepatan reaksi ( $V$ ). Pada kurva tersebut, titik O merepresentasikan suhu optimum, yakni suhu pada mana reaksi kimia berlangsung dengan efisiensi dan kecepatan maksimal.



Gambar 2.4: Hubungan Antara Suhu dengan Kecepatan Reaksi (Ischack, N.dkk 2017)

Setiap jenis enzim memiliki suhu optimum yang berbeda, tergantung pada asal organisme dan lingkungan fisiologis tempat enzim tersebut berfungsi. Umumnya, enzim yang berasal dari hewan memiliki suhu optimum berkisar antara 40°C hingga 50°C, sedangkan enzim yang berasal dari tumbuhan cenderung memiliki suhu optimum yang lebih tinggi, yaitu antara 50°C hingga 60°C. Di luar kisaran tersebut, khususnya pada suhu di atas 60°C, sebagian besar enzim mulai mengalami denaturasi struktural secara permanen, yang menyebabkan hilangnya kemampuan katalitiknya secara keseluruhan (Ischack, dkk 2017).

#### 5. Pengaruh inhibitor

Telah diketahui bahwa mekanisme kerja enzim dalam suatu reaksi kimia melibatkan pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Oleh karena itu, proses inhibisi atau penghambatan terhadap reaksi yang dikatalisis oleh enzim dapat terjadi apabila terjadi gangguan dalam interaksi antara substrat dan sisi aktif enzim. Senyawa kimia atau ion yang mampu menghambat aktivitas enzim ini disebut sebagai inhibitor (Ischack, dkk 2017).

Inhibisi terhadap aktivitas enzimatik memiliki signifikansi fisiologis yang penting, karena berperan dalam regulasi metabolisme dan kontrol jalur biokimia dalam sistem biologis. Selain itu, studi mengenai mekanisme inhibisi dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai cara kerja enzim secara molekuler. Secara umum, inhibisi enzim dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu inhibisi reversibel dan irreversibel. (Ischack, dkk 2017).

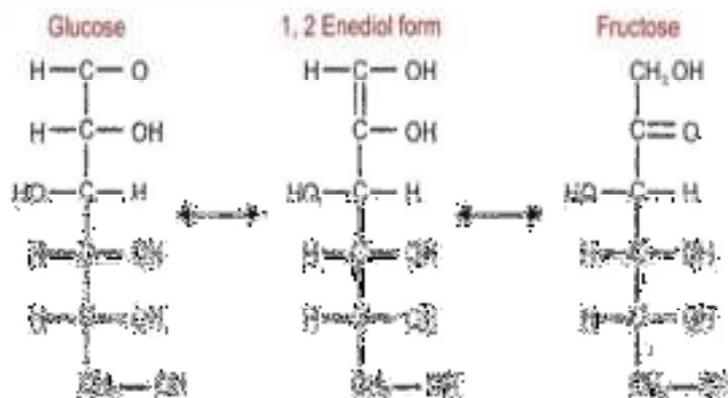
Inhibisi irreversibel umumnya disebabkan oleh modifikasi kimia atau kerusakan permanen pada gugus fungsi esensial dalam struktur enzim, yang mengakibatkan hilangnya aktivitas katalitik. Sebaliknya, inhibisi reversibel

terjadi ketika molekul inhibitor berinteraksi dengan enzim melalui ikatan nonkovalen tanpa menginduksi perubahan konformasi permanen pada struktur enzim (Ischack, dkk 2017).

## F. Uji Benedict

Tes Benedict bersifat semi kuantitatif dan merupakan tes yang sensitif untuk semua jenis gula pereduksi atau semua monosakarida dan disakarida kecuali sukrosa dan trehalosa. Reaksi yang terjadi adalah reduksi-oksidasi (Wahyuni, 2022)

Prinsip : Karbohidrat yang mengandung gugus aldehyd atau keton bebas memiliki kemampuan untuk mereduksi ion logam tertentu. Dalam kondisi basa, gula pereduksi mengalami proses tautomerisasi yang menghasilkan senyawa enediol, suatu agen pereduksi kuat. Pada uji ini, enediol yang terbentuk akan mereduksi ion tembaga(II) ( $\text{Cu}^{2+}$ ) menjadi tembaga(I) oksida ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) berwarna merah bata dalam media basa yang disediakan oleh reagen Benedict. Selama proses reaksi berlangsung, kupri hidroksida yang terbentuk tetap larut dalam larutan berkat keberadaan agen pengkelat seperti natrium sitrat (atau natrium tartrat dalam reagen Fehling) yang mencegah presipitasi dini ion logam (Wahyuni, 2022).



Gambar 2.5 Reaksi Uji Benedict (Nurprialdi dkk 2023).

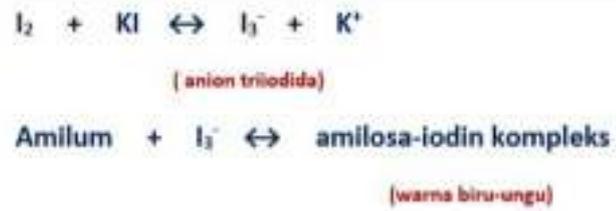
Reagen :

Reagen Benedict mengandung:

1. Tembaga sulfat  $\text{CuSO}_4$ : terdisosiasi sebagai penyedia ion tembaga yang cukup ( $\text{Cu}^{2+}$ ) Natrium sitrat: berperan sebagai stabilizing agent. Mencegah pengendapan ion tembaga sebagai tembaga hidroksida dengan membentuk kompleks tembaga-natrium sitrat yang terikat longgar yang pada disosiasi memberikan pasokan ion tembaga secara terus menerus sehingga mencegah terbentuknya  $\text{CuO}$  berwarna hitam. (Wahyuni, 2022).
2. Natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ): membuat pH menjadi basa atau alkali yang mengubah gugus karbonil bebas dari gula menjadi bentuk enol yang reaktif. Enol yang reaktif mereduksi  $\text{Cu}^{2+}$  dari senyawa kompleks dengan sitrat menjadi  $\text{Cu}^+$ .  $\text{Cu}^+$  bersama  $\text{OH}^-$  membentuk  $\text{CuOH}$  (berwarna kuning), yang dengan pemanasan akan berubah menjadi endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang berwarna merah. Warna yang terbentuk bervariasi mulai dari hijau, kuning, orange, merah sampai endapan merah bata, tergantung jumlah  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang terbentuk (Wahyuni, 2022).

### G. Uji Iodium

**Prinsip:** Uji iodium merupakan metode spesifik yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan pati (amilum), yang tergolong polisakarida. Ketika larutan pati direaksikan dengan larutan iodium, akan terbentuk kompleks antara iodium dan rantai amilosa yang menghasilkan warna biru khas. Sementara itu, interaksi antara iodium dan amilopektin, yang merupakan komponen bercabang dari pati, menghasilkan warna ungu atau merah keunguan (lavender) (Wahyuni, 2022).



Gambar 2.6 Uji Reaksi Iodium (Nurprialdi dkk 2023).

Reagen:

1. Pereaksi Iodium (larutan KI-KIO<sub>3</sub>)
2. Komposisi: 5,0 g KI; 0,375 g KIO<sub>3</sub>; 2 ml NaOH diadd-kan dalam 1 liter aquades
3. Larutan HCl 0,05 N