

KARAKTERISASI ENZIM TRANSGLUTAMINASE ENDOGENOUS DARI HATI IKAN CUNANG (*Congresox talabon*)

Santhy Wisuda Sidauruk^{1*}, Tati Nurhayati¹, Pipih Suptijah¹, Untung Trimo Laksono²

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis, Bogor, Jawa Barat 16680
Telepon (0251) 8622909-8622907, Faks (0251) 8622907

²Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan Politeknik Negeri Pontianak, Jalan Akhmad Yani Pontianak, Kalimantan Barat 78124
Telepon (0561) 736180, Faks (0561) 740143.

*Korespondensi: *w.santhy@yahoo.co.id*

Diterima: 24 Juli 2017/ Disetujui: 24 November 2017

Cara sitasi: Sidauruk SW, Nurhayati T, Suptijah P, Laksono UT. 2017. Karakterisasi enzim transglutaminase endogenous dari hati ikan cunang (*Congresox talabon*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 582-591.

Abstrak

Transglutaminase merupakan enzim yang terdapat pada berbagai jenis makhluk hidup, misalnya mamalia, tumbuhan, mikroorganisme, dan termasuk ikan. Transglutaminase memiliki berbagai fungsi baik di bidang pangan, non pangan maupun di bidang kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi transglutaminase yang diperoleh dari bagian tubuh ikan yang tidak termanfaatkan berupa hati ikan jenis katadromous yaitu ikan cunang. Hati ikan cunang memiliki rendemen sebesar $0,88 \pm 0,11\%$. Ekstrak kasar transglutaminase dari hati ikan cunang memiliki aktivitas spesifik $1,375 \text{ U/mg}$; pH optimum 7,5; suhu optimum 50°C dan enzim transglutaminase aktivitasnya meningkat dengan adanya ion logam Mg^{2+} . Ekstrak kasar transglutaminase memiliki bobot molekul 27,48; 37,00; 69,51; 78,89; 88,18; 108,45; 134,10; dan 172,12 kDa.

Kata kunci: *crosslinking*, katalisis, cunang, transferase, transglutaminase

Characterization of Endogenous Transglutaminase Enzyme of Yellow Pike Conger's Liver (Congresox talabon)

Abstract

Transglutaminases have been found in various living organism, such as mammals, plants, microorganisms, and marine organisms including fishes. Transglutaminases have many various functions such as food or non-food application and in pharmaceuticals industries. This research was aimed to characterize transglutaminase that obtained from fisheries byproducts such as catadromous fish the yellow pike conger's liver. The yield of yellow pike conger's liver was $0.88 \pm 0.11\%$. Crude transglutaminase from liver of yellow pike conger had specific activity of 1.375 U/mg with optimum pH at 7.5 and optimum temperature at 50°C . The activity of transglutaminase were increased on Mg^{2+} ion dependent. Crude transglutaminase had molecular weight of 27.48; 37.00; 69.51; 78.89; 88.18; 108.45; 134.10; and 172.12 kDa.

Keywords: catalysis, cross linking, transferase, transglutaminase, yellow pike conger

PENDAHULUAN

Yellow pike conger (Congresox talabon) tersebar luas di Samudera Indo-Pasifik, Sri Lanka dan Teluk Benggala hingga ke Indonesia dan lebih dikenal ikan cunang di Indonesia. Ikan cunang merupakan belut tropis yang hidup secara demersal sekitar 100 m dan bermigrasi antara perairan laut

dan payau. Ikan cunang biasanya memakan ikan-ikan kecil dan krustasea serta memiliki pola hidup yang nokturnal, sehingga ikan tersebut mudah tertangkap pada malam hari (Fishbase 2017). Produksi penangkapan ikan cunang mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Produksi penangkapan ikan cunang pada tahun 2005 sebesar 264.573 ton yang

mengalami peningkatan pada tahun 2014 sebesar 391.722 ton, salah satu negara dengan penangkapan terbesar adalah Cina dengan total penangkapan 234.314 ton (FAO 2017). Peningkatan produksi penangkapan ikan cunang menyebabkan terjadinya peningkatan limbah ikan cunang, salah satunya hati ikan cunang. Hati ikan merupakan salah satu sumber enzim transglutaminase yang baik sehingga hati ikan cunang dapat dimanfaatkan kembali menjadi bernilai ekonomis tinggi.

Enzim transglutaminase (TGase) adalah jenis enzim transferase dengan nama sistematiknya protein-glutamin γ -glutamyltransferase (EC 2.3.2.13). Enzim TGase mengkatalisis reaksi transfer asil antara gugus γ -karboksiamida pada protein, ikatan peptida dan berbagai jenis asam amino primer. Gugus ϵ -amino asam amino lisin berperan sebagai penerima asil membentuk polimer dan ikatan silang intramolekular atau intermolekular pada protein melalui pembentukan ikatan ϵ -(γ -glutamyl)-lisin. Ikatan tersebut mengakibatkan perubahan pada gugus ϵ -amino asam amino lisin dan menghasilkan amonia pada gugus karboksiamida kelompok glutamin pada molekul protein. Air dapat berperan sebagai penerima asil jika tidak ada gugus amin primer dan menghasilkan deaminasi gugus γ -karboksiamida kelompok glutamin membentuk asam glutamat (Jaros *et al.* 2006).

Enzim TGase merupakan enzim yang tersebar secara luas di alam, mulai dari hewan, tanaman hingga mikroorganisme (Shleikin *et al.* 2011), serta berperan pada beberapa proses biologis (pembekuan darah, penyembuhan luka, keratinisasi epidermis) dan aplikasi di bidang klinis misalnya penyakit neurogeneratif dan gangguan koagulasi darah, proses penyembuhan jaringan tulang dan proses diferensiasi sel, stabilitasi jaringan dan bahkan pada apoptosis (Brunner *et al.* 2002; Csoz *et al.* 2008; Lorand & Graham 2003). Enzim TGase juga dianggap bertanggung jawab atas regulasi pertumbuhan, diferensiasi, dan proliferasi sel, serta memiliki peran penting dalam pencegahan alergi (Martin *et al.* 2014). Aplikasi lain adalah pada daging ikan menunjukkan kemampuan alami untuk mengeras yang disebut

fenomena setting “suwari” dan prosesnya dipengaruhi oleh adanya TGase endogenous (Ramirez *et al.* 2006).

Enzim TGase yang diperoleh dapat diaplikasi ke berbagai produk baik dari bidang pangan, non pangan maupun kesehatan. Beberapa industri pangan memanfaatkan enzim TGase, antara lain untuk meningkatkan kekuatan gel, stabilitas, viskositas, mengurangi sineresis (kehilangan air) pada yoghurt, dan meningkatkan sifat reologi pada daging (Martins *et al.* 2014). Enzim TGase juga dimanfaatkan pada industri tekstil yaitu untuk memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh bahan kimia dan protease selama pembuatan wol dan pencucian benang wol (Cortez *et al.* 2004; Cortez *et al.* 2005). Enzim TGase juga terlibat dalam beragam proses fisiologis dan fisiopatologis yang menjadi target menarik dengan potensi penggunaan terapeutik yang tinggi. Enzim TGase memiliki beberapa fungsi fisiologis dan dikaitkan dengan kelangsungan hidup sel kanker dan resistensi obat, serta efek anti apototik (Martins *et al.* 2014).

Hemung dan Yongsatwadigul (2007) telah melakukan purifikasi enzim TGase dari hati ikan yaitu purifikasi enzim TGase dari hati kurisi (*Nemipterus sp.*) dengan nilai yield yang dihasilkan sebesar 5,12%, kelipatan kemurnian enzim 86,28 kali dan bobot molekul 95 kDa. Enzim TGase dari hati ikan cunang potensial untuk dimanfaatkan kembali agar memiliki nilai ekonomis. Analisis karakterisasi enzim TGase dari hati ikan cunang sangat penting tidak hanya pada sudut pandang enzimatis tetapi juga pada aplikasi misalnya industri pengolahan makanan, industri non makanan dan aplikasi farmakologis karena kondisi optimum dalam aplikasi ditentukan oleh karakterisasi enzim tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi enzim TGase dari hati ikan cunang.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Ikan cunang beku diperoleh dari PPI Karangsong Kabupaten Indramayu, Jawa Barat pada titik koordinat 06°18'45'' dan 06°19'45'' LS dan 108°21'30'' BB dan 108°22'30'' BT dan didistribusi menggunakan

coolbox. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi TGase dan karakterisasi enzim TGase terdiri dari NaCl PA 99.5% (Merck, Jerman), EDTA (Titriplex III PA) (Merck, Jerman), 2-Merkaptoethanol (Sigma-Aldrich, USA), Tris (hydroxymethyl PA) (Merck, Jerman), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Jerman), dan substrat enzim berupa monodansylcadaverine (MDC) (Sigma-Aldrich, US) dan N'-dimethylatedcasein (DMC) (Sigma-Aldrich, US).

Alat yang digunakan untuk *di antaranya* sentrifuse dingin (himac CR 21G, Jepang), spektrofotometer (Spectro UV-VIS 2500, Jerman), Fluorometer (BMG LABTECH, Jerman), pipet mikro (Thermo Scientific Vantaa, Finlandia), pH meter (Thermo Electron, Finlandia), alat-alat elektroforesis (TV-100 YK, SCIENPLAS, Inggris), dan inkubator (Thermoline).

Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari ekstraksi enzim TGase dan karakterisasi enzim yang meliputi aktivitas enzim, konsentrasi protein, suhu optimum, pH optimum, pengaruh ion logam, dan profil berat molekul. Penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif menggunakan *Microsoft Excel* dan disajikan dalam bentuk diagram dan tabel.

Ekstraksi enzim TGase

Hati ikan diperoleh dari ikan cunang yang memiliki panjang rata-rata 1 m, kemudian dihaluskan hingga lumat. Sampel dihomogenisasi dengan bufer (10 mM NaCl, 5 mM EDTA, 2 mM 2-merkaptoetanol, 10 mM tris-HCl, pH 7,5) (Binsi dan Shamsundar 2012) dengan perbandingan 1:4 pada kecepatan 9.000 rpm menggunakan tokebi selama 5 menit. Sampel yang telah dihomogenisasi dilakukan sentrifuse pada suhu 4°C dengan kecepatan 9.700 g selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian disentrifuse kembali pada suhu 4°C dengan kecepatan 12.000 g selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim TGase. Aktivitas enzim, konsentrasi protein, dan karakterisasi dianalisis pada ekstrak kasar enzim TGase.

Aktivitas enzim TGase

Aktivitas enzim TGase dilakukan dengan mencampurkan reaksi yang mengandung 1 mg/mL N'-dimethylatedkasein, 15 μM monodansilkadaverin, 70 mM Tris-HCl (pH 7,5), 5 mM CaCl_2 , 3 mM 2-Merkaptoetanol dan 0,1 mL enzim TGase diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 0,1 M EDTA untuk larutan sampel. Campuran kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan emisi 480 nm. Larutan standar dilakukan dengan prosedur yang sama dengan larutan sampel kecuali penambahan monodansilkadaverin dilakukan setelah EDTA. Larutan blanko dilakukan dengan menggantikan enzim TGase dengan air deionisasi dan diukur dengan spektrofotometer tanpa inkubasi. Satu unit TGase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dikatalisis 1 nmol dari dimasukkan monodansilkadaverin (MDC) dan N'-dimethylatedkasein (DMC) dalam 1 menit pada suhu 37°C (Takagi *et al.* 1986).

Konsentrasi protein

Konsentrasi protein ditentukan menggunakan metode Bradford dengan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai standar. Konsentrasi protein diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam kurva standar Bradford untuk menentukan konsentrasi protein yang terkandung dalam sampel. Larutan standar yang digunakan adalah 0,02–0,30 mg/mL. Tahap berikutnya adalah membuat kurva standar dengan absorbansi sebagai ordinat (sumbu y) dan kadar protein sebagai absis (sumbu x) (Bradford 1976).

Karakterisasi enzim TGase

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan melakukan variasi suhu inkubasi pada saat pengujian aktivitas enzim TGase dengan suhu 20, 30, 40, 50, 60, dan 70°C. Penentuan pH optimum dilakukan dengan melakukan variasi pH bufer yang digunakan yaitu pH 6-7 menggunakan 100 mM sodium asetat, pH 7,5-9 menggunakan 70 mM Tris-

HCl, pH 10-11 menggunakan 50 mM glisin. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim TGase diketahui dengan menggunakan 10 mM ion logam dalam bentuk larutan garam klorida dari kation Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , dan Zn^{2+} . Pengukuran dilakukan dengan mensubstitusi $CaCl_2$ dengan 10 mM ion logam tersebut yang direaksikan dengan 1 mg/mL DMC, 15 μ M MDC, 70 mM Tris-HCl (pH 7,5) dan 3 mM 2-Merkaptoetanol (Hemung dan Yongsatwadigul 2007).

Profil bobot molekul

Profil berat molekul dilakukan menggunakan SDS PAGE. Konsentrasi akrilamid yang digunakan dalam analisis ini adalah 15% separating gel dan 3% stacking gel. Sampel sebanyak 20 μ L dicampur dengan 5 μ L bufer sampel kemudian di-loading ke dalam sumur. Marker yang di-loading sebanyak 10 μ L. Gel dipasang dalam piranti elektroforesis dengan menuangkan bufer elektroforesis pada chamber. Proses elektroforesis berlangsung selama 65 menit pada tegangan 180 volt dan 50 mA di dalam piranti elektroforesis, setelah itu gel dilepas dari pelat kaca. Gel direndam dalam larutan *coomasie gel stain* selama 2 jam dilanjutkan dengan destaining sampai diperoleh pita-pita protein (Laemmli 1970).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen hati ikan cunang sebesar $0,88 \pm 0,11\%$ diperoleh dari ikan cunang

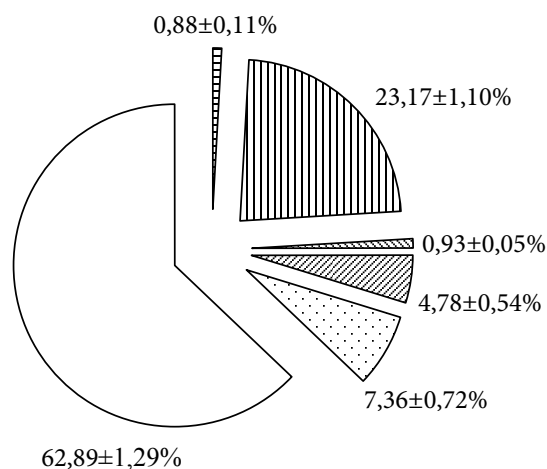
yang memiliki panjang tubuh $116 \pm 3,56$ cm (Gambar 1).

Rendemen hati ikan cunang merupakan rendemen yang terkecil dibandingkan dengan rendemen bagian tubuh ikan cunang lainnya. Hati ikan merupakan organ vital yang besar terdapat pada semua jenis ikan dan memiliki berbagai fungsi, mulai dari detoksifikasi, sintesis protein, dan produksi biokimia yang dibutuhkan untuk pencernaan ketika ikan masih hidup. Ketika ikan sudah mati, hati ikan merupakan salah satu bagian tubuh ikan yang tidak dimanfaatkan dan berpotensi sebagai salah satu sumber enzim TGase.

Enzim TGase dari hati ikan *red sea bream* menunjukkan bahwa enzim tersebut dapat mengkatalisis ikatan silang rantai berat ikan *Allasca pollack* (Yasueda *et al.* 1994). Enzim TGase dari hati ikan memiliki potensi dalam meningkatkan sifat tekstur gel protein. Kuraishi *et al.* (2001) menyatakan bahwa penambahan enzim TGase ke dalam daging ikan memiliki batas optimal untuk menghasilkan nilai sensori yang disukai panelis karena penambahan enzim yang berlebihan menyebabkan tekstur menjadi keras, kurang lembut, dan biasanya kurang disukai.

Karakterisasi ekstrak kasar enzim TGase

Ekstrak kasar enzim TGase diperoleh dari hasil ekstraksi hati ikan cunang seberat 10 gram menggunakan bufer Tris-



Gambar 1 Rendemen ikan remang. Daging (□), kulit (▤), jeroan (▨), gelembung renang (▩), kepala dan tulang (▧), hati (▦).

HCl yang mengandung NaCl, EDTA dan 2-merkaptotanol. EDTA berfungsi untuk menghambat reaksi protease dan 2-merkaptotanol berfungsi untuk menjaga enzim dari pengaruh lingkungan. Ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang memiliki nilai aktivitas enzim sebesar $0,187 \pm 0,01$ U/mL dan konsentrasi protein $0,136 \pm 0,02$ mg/mL dengan nilai total aktivitas sebesar 4,114 U dan total protein sebesar 2,992 mg.

Nilai aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang adalah 1,375 U/mL, lebih tinggi dari ikan laut yaitu ikan kakap (*Priacanthus hamrur*) 0,95 U/mg (Nozawa dan Seki 2001) dan ikan air tawar. Aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim TGase ikan tawar berupa ikan nila (*Oreochromis mossambicus*) sebesar 1,28 U/mg dan ikan mas (*Cyprinus carpio*) sebesar 1,01 U/mg. Ikan tertentu yang telah memiliki jumlah enzim TGase tinggi dapat gagal dalam pembentukan gelasi yang baik pada proses pemanasan (Binsi dan Shamasundar 2012).

pH optimum

Penentuan pH optimum dilakukan menggunakan variasi bufer yaitu bufer sodium asetat (pH 6-7), bufer Tris-HCl (pH 7,5-9) dan bufer glisin (pH 10-11). Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang pada berbagai pH berbeda disajikan pada Gambar 2.

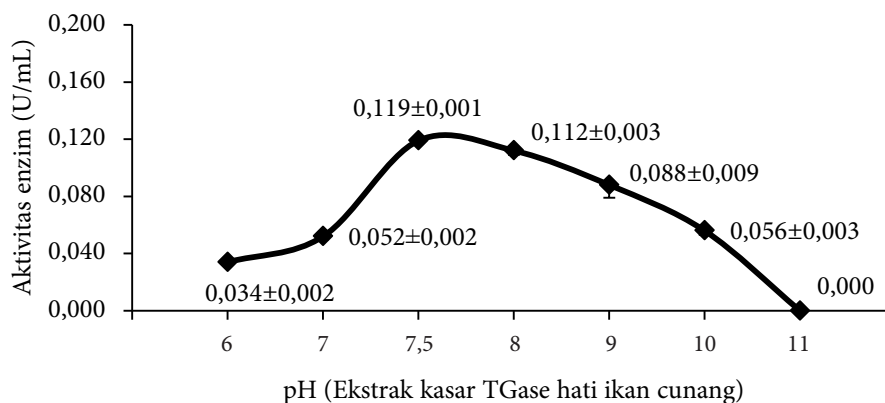
Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak kasar enzim TGase yang dihasilkan dari hati ikan cunang bekerja pada lingkungan yang netral. Hal ini tidak berbeda dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa enzim TGase

dari ikan nila memiliki pH optimum sekitar 7-7,5 (Worratoa dan Yongsatwadigul 2005). Enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal. Profil aktivitas pH enzim menggambarkan pH pada saat gugus pemberi atau penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan. Nilai pH optimum tidak perlu sama dengan pH lingkungan normalnya, dengan pH yang mungkin sedikit berada di atas atau di bawah optimum. Aktivitas katalitik enzim di dalam sel diatur sebagian oleh perubahan pada pH medium lingkungan (Lehninger 2008).

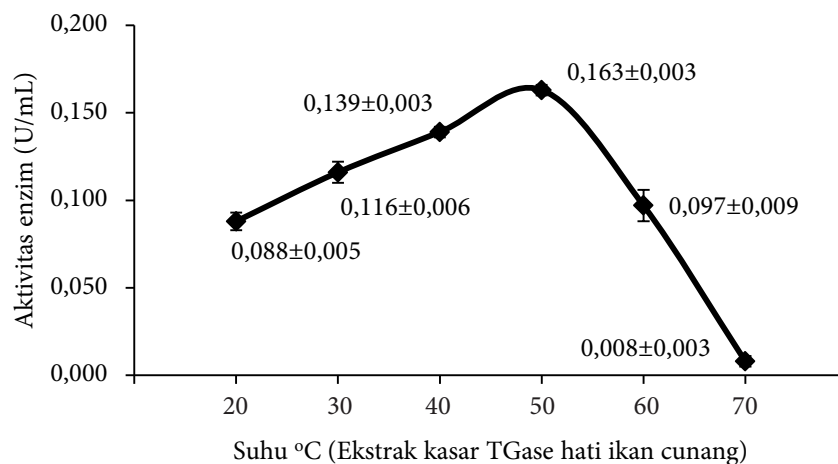
Aktivitas enzim ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang optimum pada pH 7,5 sebesar 0,119 U/mL. Ekstrak kasar enzim TGase dari hati ikan cunang memiliki aktivitas enzim yang rendah pada pH yang terlalu asam yaitu 0,034 U/mL dan bahkan pada pH terlalu basa, aktivitas enzim TGase tidak terdeteksi. Hal ini menunjukkan bahwa enzim tersebut tidak stabil pada pH sangat asam dan alkali akibat terjadinya denaturasi enzim pada kondisi pH yang ekstrim. Benjakul *et al.* (2005) menyatakan bahwa pada suasana ekstrim asam maupun ekstrim basa terjadi penurunan ikatan elektrostatis yang menyebabkan terjadinya kehilangan aktivitas.

Suhu optimum

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan cara mereaksi enzim pada pH optimalnya dengan substrat monodansyl cadaverine dan N'N-dimethylated casein pada berbagai variasi suhu antara 20°C sampai 70°C. Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase



Gambar 2 Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase hati ikan remang pada pH berbeda



Gambar 3 Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase hati ikan remang pada suhu berbeda

hati ikan cunang pada suhu berbeda disajikan pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan aktivitas enzim ekstrak kasar enzim TGase sampai pada titik tertentu. Aktivitas enzim ekstrak kasar enzim TGase dari hati ikan cunang mencapai optimum pada suhu 50°C dalam bufer Tris-HCl pH 7,5 dengan nilai sebesar 0,163 U/mL. Hal ini didukung dengan hasil penelitian lain yang menyatakan bahwa suhu optimum aktivitas enzim TGase dari hati ikan kurisi mencapai optimum pada suhu 50°C (Hemung dan Yongsatwadigul 2007).

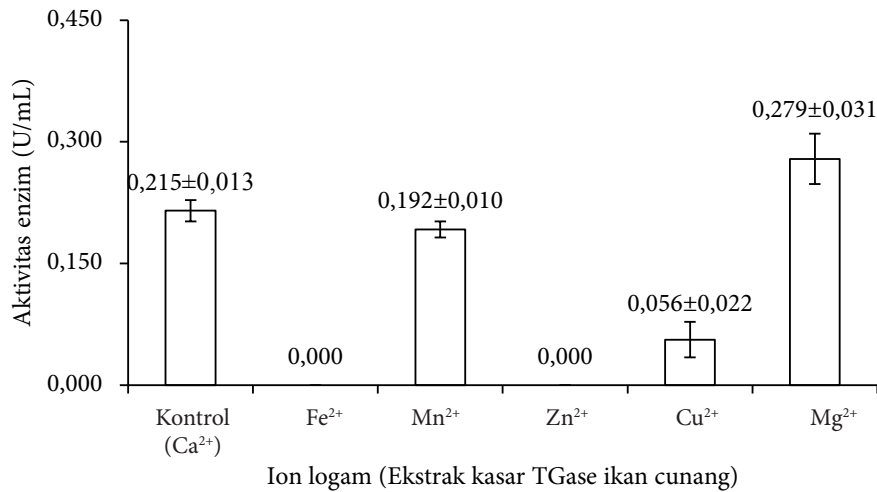
Peningkatan suhu lebih lanjut akan membuat aktivitas enzim menjadi menurun. Suhu yang lebih tinggi akan membuat molekul lebih sering bertabrakan. Konsep ini berlaku juga untuk tumbukan antar molekul substrat dengan enzim. Hal ini disebabkan suhu yang tinggi akan mengkatalisis reaksi enzimatik, namun ketika kenaikan suhu melebihi titik tertentu akan menyebabkan gangguan terhadap struktur tersier enzim. Perubahan struktur tersier pada sisi aktif akan menghambat aktivitas katalitik enzim (Stoker 2010).

Fenomena suhu “*setting*” pada surimi terjadi pada suhu 40°C yang dikatalisis oleh enzim TGase endogenous. Enzim TGase endogenous akan mengkatalisis *cross linking* protein daging pada suhu yang lebih tinggi 40°C daripada pada suhu rendah, yang menyebabkan *cross linking* lebih kovalen

(Worratoa dan Yongsatwadigul 2005). Aktivitas enzim TGase sangat lemah pada suhu 70°C yang menunjukkan bahwa terjadi perubahan atau denaturasi konformasi pada suhu yang lebih tinggi. Perbedaan suhu optimum untuk aktivitas enzim TGase dari berbagai spesies ikan berhubungan dengan suhu habitat dan tingkat kemurnian enzimnya (Binsi & Shamsundar 2012).

Pengaruh ion logam

Ion logam mempunyai peranan penting dalam menjaga kestabilan enzim. logam biasanya berperan sebagai pengatur aktivitas enzim. Ion logam dapat mengaktifkan enzim melalui berbagai kemungkinan, misalnya menjaga bagian internal enzim, menghubungkan enzim dengan substrat, mengubah konstanta keseimbangan reaksi enzim, mengubah tegangan permukaan protein enzim, menghilangkan inhibitor, menggantikan ion logam yang tidak efektif pada sisi aktif enzim maupun substrat, dan mengubah konformasi enzim menjadi konformasi yang lebih aktif (Belitz *et al.* 2009). Enzim TGase endogenous dapat bekerja tergantung pada ion logam terutama ion logam Ca^{2+} , berbeda halnya dengan enzim TGase eksogenous misalnya microbial transglutaminase tidak tergantung pada ion logam Ca^{2+} . Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase dari hati ikan cunang pada penambahan ion logam berbeda (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , dan Mg^{2+}) disajikan pada Gambar 4.

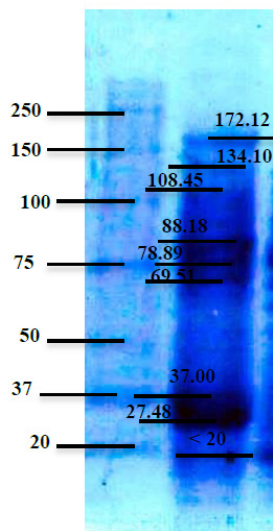


Gambar 4 Aktivitas ekstrak kasar enzim TGase dari hati ikan remang pada penambahan ion logam berbeda

Gambar 4 menunjukkan bahwa ion logam Mg²⁺ memberikan peningkatan aktivitas enzim ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang dengan nilai aktivitas relatif sebesar 129,54%. Lin *et al.* (2008) menyatakan bahwa ion logam seperti Mg²⁺ dapat memberikan peningkatan aktivitas enzim dikarenakan enzim tersebut memiliki kebutuhan ion logam yang masih terpenuhi dari lingkungannya. Penurunan aktivitas relatif enzim TGase dari hati ikan cunang terjadi pada penambahan ion logam Mn²⁺ dengan nilai aktivitas relatif berturut adalah sebesar 89.30%. Penambahan ion logam Fe²⁺ dan Zn²⁺ pada ekstrak kasar TGase dari hati ikan cunang dapat menginaktivkan aktivitas enzim TGase dengan nilai aktivitas

relatif 0%. Hemung dan Yongsawatdigul (2007) menyatakan bahwa aktivitas enzim TGase dapat diinhibisi oleh Mn²⁺ dengan nilai aktivitas relatif sebesar 76,77% dan inaktif pada penambahan ion logam Fe²⁺ dengan nilai aktivitas relatif 0%.

Penambahan ion logam Cu²⁺ dapat menginhibisi aktivitas enzim ekstrak kasar TGase dari hati ikan cunang dengan nilai aktivitas relatif masing-masingnya dibawah 30%. Zhang *et al.* (2017) menyatakan bahwa aktivitas enzim TGase dari udang kril (*Euphausia superba*) dapat diinhibisi dengan penambahan ion logam Zn²⁺ dan Cu²⁺ dengan nilai aktivitas relatif berturut-turut adalah sebesar 20,12% dan 19,78%. Li Cui *et al.* (2007)



Gambar 5 Profil bobot molekul enzim TGase dari hati ikan remang

Tabel 1 Bobot molekul dan pendugaan jenis protein

Pita ke-	Hati ikan remang (BM kDa)	Pendugaan jenis protein
1	172,12	<i>Myosin</i>
2	134,10	<i>Myosin</i>
3	108,45	<i>Sodium/pottasium transporting ATPase subunit alpha</i>
4	88,18	<i>Gelsolin</i>
5	78,89	<i>Transglutaminase-like enzyme</i>
6	69,51	<i>NaDH-ubiniquinone oxidoreductase chain 5</i>
7	64,10	<i>Uncharacterized protein</i>
8	37,00	<i>Uncharacterized protein</i>
9	27,48	<i>Myosin light chain</i>
10	< 20,00	<i>Troponin</i>

menyatakan bahwa penambahan ion logam Zn^{2+} mampu menghambat aktivitas enzim TGase sampai 4,5%. Hal ini disebabkan ikatan logam tersebut dengan enzim dapat mengubah kemampuan enzim untuk mengikat substrat sehingga mengubah daya katalis enzim. Yokoyama *et al.* (2004) menyatakan bahwa ion logam seperti ion Zn^{2+} dan Cu^{2+} dapat menghambat aktivitas enzim TGase karena ion logam tersebut dapat mengikat gugus tiol dari residu sistein yang merupakan bagian sisi aktif dari enzim TGase.

Profil bobot molekul enzim TGase

Penentuan profil berat molekul enzim TGase dari hati ikan cunang dilakukan dengan menggunakan *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide* (SDS-PAGE). Bobot molekul ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa ekstrak kasar enzim TGase dari hati ikan cunang memiliki banyak pita protein pada bobot molekul 27,48; 37,00; 69,51; 78,89; 88,18; 108,45; 134,10; dan 172,12 kDa. Pendugaan jenis protein pada pita-pita protein ekstrak kasar enzim TGase dapat dilihat pada Tabel 1.

Pendugaan protein pada Tabel 1 dilakukan berdasarkan literatur dan pencarian database melalui Uni Prot. Hasil pendugaan jenis protein ekstrak kasar enzim hati ikan cunang terdapat miosin. Miosin merupakan protein yang berperan dalam enzim TGase yang banyak terdapat surimi yang dapat meningkatkan kualitas gel dari makanan

berbasis protein. Peningkatan kualitas gel tersebut merupakan hasil dari ikatan peptida pada formasi ikatan ϵ -(γ -glutamil)-lisin.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa enzim TGase dari hati ikan kurisi memiliki tiga pita dengan bobot molekul berturut-turut adalah 95, 63 dan 43 kDa (Hemung dan Yongsatwadigul 2007). Bobot molekul dari ekstrak kasar enzim TGase hati ikan cunang masih terdeteksi banyak pita protein dikarenakan masih terdapat molekul protein yang berasal dari sel maupun protein pengotor lainnya sehingga diperlukan tahap purifikasi untuk menghasilkan enzim TGase yang lebih murni.

KESIMPULAN

Enzim TGase telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari hati ikan cunang yang tidak memiliki nilai ekonomis. Karakterisasi enzim TGase memiliki pH optimum pada pH 7,5; suhu optimum pada 50°C, dan enzim TGase endogenous dari hati ikan cunang merupakan enzim yang aktif dengan bergantung pada ketersediaan ion logam Mg^{2+} .

Saran pada penelitian ini yaitu perlu dilakukan tahap pemurnian selanjutnya dan perlu dilakukan penelitian mengenai aplikasi enzim TGase pada berbagai produk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Hibah Penelitian Kerjasama antar Perguruan Tinggi (Pekerti) antara Politeknik Negeri Pontianak dan Institut Pertanian Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. Ed ke-4. Heidelberg (DE): Springer-Verlag.
- Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. 2005. Properties of phenoloxidase isolated from the cephalothorax of kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). *Food Biochemistry*. 29(5): 470–485.
- Binsi PK, Shamsundar BA. 2012. Purification and characterisation of transglutaminase from four fish species: Effect of added transglutaminase on the viscoelastic behaviour of fish mince. *Food Chemistry*. 1322: 1922-1929.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*. 72: 234-254.
- Brunner F, Rosahl S, Lee J, Rudd JJ, Geiler C, Kauppinen S, Rasmussen G, Scheel D, Nurnberger T. 2002. A plant defense-inducing pathogen-associated pattern from Phytophthora transglutaminases. *Embo Journal*. 21(24): 6681–6688.
- Cortez J, Bonner PLR, Griffin M. 2004. Application of transglutaminase in the modification of wool textiles. *Enzyme and Microbial Technology*. 34: 64-72.
- Cortez J, Bonner PLR, Griffin M. 2005. Transglutaminase treatment of wool fabrics leads to resistance to detergent damage. *Journal of Biotechnology*. 116: 379-386.
- Csoz E, Bagossi P, Nagy Z, Dosztanyi Z, Simon I, Fesus L. 2008. Substrate preference of transglutaminase 2 revealed by logistic regression analysis and intrinsic disorder examination. *Journal of Molecular Biology*. 383 (2): 390 – 402.
- FAO. 2017. Species Fact Sheets *Muraenesox cinereus* (Forsskal, 1775), <http://www.fao.org/fishery/species/2205/en>, July 15th 2017.
- Fishbase. 2017. *Congresox talabon* (Cuvier, 1829), <http://www.fishbase.org/summary/Congresox-talabon.html>, July 15th 2017.
- Hemung BO, Yongsatwadigul J. 2007. Partial purification and characterization of transglutaminase from threadfin bream (*Nemipterus* sp.) liver. *Journal of Food Biochemistry*. 32: 182-200.
- Jaros D, Partschfeld C, Henle T, Rohm H. 2006. Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, applications. *Journal of Texture Studies*. 37: 113-155.
- Kuraishi C, Yamazaki K, Susa Y. 2001. Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Review International*. 17(2): 221–246.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- Lehninger AL. 2008. Principle of Biochemistry. Edisi ke-5. Di dalam: Nelson DL, Cox MM, editor. New York (US): WH Freeman and Company.
- Li Ciu, Du G, Zhang D, Liu H, Chen J. 2007. Purification and characterization of transglutaminase from a newly isolated *Streptomyces hygroscopicus*. *Food Chem*. 105:612-618.
- Licata P, Trombetta D, Cristani M, Naccari C, Martino D, Calo M, Naccari F. 2005. Heavy metals in liver and muscle of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught in the straits of Messina (Sicily, Italy). *Environ Monit Assess*. 107:239-248.
- Lin SJ, Hsieh YF, Lai LA, Chao ML, Chu WS. 2008. Characterization of transglutaminase from a newly isolated *Streptomyces hygroscopicus*. *Food Chem*. 105: 612-618.
- Lorand L, Graham RM. 2003. Transglutaminase: crosslinking enzyme with pleiotropic functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 4(2): 1147–1172.
- Martins IM, Matos M, Costa R, Silva F, Pascoal A, Estevinho LM., Choupina AB. 2014. Transglutaminases: recent achievement and new sources. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98: 6957-6964.
- Nozawa H, Seki N. 2001. Purification of transglutaminase from scallop striated adductor muscle and NaCl-induced inactivation. *Fisheries Science*. 67: 493–499.
- Ramirez JA, Angel AD, Velazquez G, Vazquez M. 2006. Production of low-salt restructured fish products from Mexican

- flounder (*Cyclopsetta chittendeni*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as binders. *European Food Research and Technology*. 223: 341–345.
- Shleikin AG, Danilov NP, Ternovskoy GV. 2011. Modification of food products properties by use of transglutaminase. *Journal of Food Science*. 2011: 1568–1572.
- Stoker HS. 2010. General, Organic, and Biological Chemistry. US: Cengage Learning.
- Takagi J, Saito Y, Kikuchi T, Inada Y. 1986. Modification of transglutaminase assay: Use of ammonium sulfate to stop the reaction. *Analytical Biochemistry*. 153: 295-298.
- Worratoa A, Yongsatwadigul J. 2005. Purification and characterization of transglutaminase from tropical tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chemistry*. 93: 651-658.
- Yasueda H, Kumazawa Y, Motoki M. 1994. Purification and characterization of tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pagrus major*). *Biosci. Biotech. and Biochem.* 58: 2041-2045.
- Yokoyama K, Nio N, Kikuchi Y. 2004. Properties and applications of microbial transglutaminase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 64:447-454.
- Zhang Y, He S, Simpson BK. 2017. A cold active transglutaminase from Antarctic krill (*Euphausia superba*): Purification, characterization and application in the modification of cold-set gelatin gel. *Food Chem.* 232: 155-162.