

ISOLASI PENGHAMBAT AKTIVITAS ENZIM PENGUBAH ANGIOTENSIN DARI PROTEIN SUSU

(Isolation Of Angiotensin Converting Enzyme From Milk Protein)

AMHAR ABUBAKAR

Laboratorium Pengolahan Daging dan Ikan
Fakultas Pertanian Unsyiah.

ABSTRACT

Three kinds of samples (whey protein containing caseinoglycopeptide, whey protein removed caseinoglycopeptide and cheese whey powder were digested with 7 kinds of proteases at 37°C for 24 hr (trypsin, proteinase-K, actinase-E, thermolysin, and papain) or 25°C (pepsin and chymotrypsin). Strong inhibitory activity against the angiotensin converting enzyme (ACE, EC 3.4.15.1) was generated in all samples by 5 proteases digestion (pepsin, chymotrypsin,, proteinase-K, thermolysin and papain). In whey protein removed caseinoglycopeptide digestion by thermolysin induced the highest activity (95.23%). In cheese whey powder, the highest activity was derived by thermolysin (98.25%). On the other hand, weak ACE inhibitory activity were derived by trypsin and actinase-E digestion. As no remarkable differences in inhibitory activity were observed between whey protein containing caseinoglycopeptide and whey protein removed caseinoglycopeptide samples, the bioactive peptides are considered to come mainly not from caseinoglycopeptide but from cheese whey powder components.

Key Word : Isolation, Milk Protein, Angiotensin Converting Enzyme, whey protein

PENDAHULUAN

Sejumlah peptide yang dapat menghambat kemampuan enzim pengubah angiotensin yang berasal dari kasein susu sapi dan kasein susu manusia (1-5). Maruyama et. al.(6) yang telah mengisolasi CEI₁₂ (dodekanopeptida) dan CEI₈ (heptapeptida) berturut-turut dan α_1 -kasein dan β -kasein susu sapi yang berperan sebagai penghambat enzim pengubah angiotensin.

Demikian pula Kohmura et. al. (5) menemukan bagian epitop dan penghambat enzim pengubah angiotensin dengan menggunakan peptide buatan akan mempunyai struktur yang sama seperti yang ditemukan dalam κ -kasein susu sapi. Chiba et.al. (7) juga mengisolasi kasoksin C (dekapeptida) dari κ -kasein susu sapi. Peptida mempunyai banyak fungsi sebagai penawar racun, seperti mengontrol kontraksi otot polos dan sebagai penghambat enzim pengubah angiotensin. Akan tetapi hanya

albutensin A (nonapeptida) yang berasal dari albumin serum susu sapi dikenal sebagai enzim pengubah angiotensin yang berasal dari bubuk whei keju yang dicernakan oleh enzim termolisin dan analisis strukturnya baru dilakukan melalui penelitian ini.

MATERI DAN METODA

Bahan

Bubuk whei keju, 7 jenis enzim protease yaitu : pepsin, tripsin, kimotripsin, proteinase-K, aktinase-E, termolisin dan papain, enzim pengubah angiotensin.

Isolasi protein dari whei keju

Pemisahan kaseinoglikopeptida dalam bubuk whei keju dengan melakukan ekstraksi menggunakan 12% larutan asam trikloroasetik (TCA) sambil diaduk selama 30 menit. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa CGP dapat larut dalam 12% TCA, dan juga dapat dipindahkan secara langsung dari bubuk whei keju. Setelah dilakukan sentrifusi pada kecepatan $9000 \times g$, pada 4°C selama 15 menit. Presipitat dilarutkan dengan air suling, selanjutnya dinetralkan dengan larutan 1N NaOH sampai mencapai pH netral. Sampel tersebut dilakukan analisis dengan air suling pada temperatur 4°C selama 2 hari dan dilanjutkan dengan pengeringan kering untuk mendapatkan sample protein tanpa kaseinoglikopeptida.

Bubuk whei keju dilarutkan dalam air suling. Larutan yang diperoleh dilakukan dialysis dengan air suling pada temperatur 40°C selama 2 hari untuk memindahkan laktosa dan mineral lainnya. Selanjutnya

dilakukan pengeringan kering untuk mendapatkan sample protein whei mengandung kaseinoglikopeptida.

Pencernaan sample protein whei dengan enzim protease

Tujuh jenis enzim protease yang digunakan adalah pepsin, tripsin, kimotripsin, proteinase-K, aktinase-E termolisin dan papain untuk mencerna 3 jenis sample yaitu protein whei tanpa kaseinoglikopeptida, protein whei mengandung kaseinoglikopeptida dan bubuk whei keju. Pencernaan sample dengan enzim dilakukan pada kondisi buffer, pH dan suhu yang optimal sesuai dengan yang tercantum pada Tabel 1. Pencernaan dilakukan sebagai berikut : 10 mg masing-masing sample dilarutkan kedalam 10 ml pada masing-masing buffer dan dilakukan pencernaan dengan pepsin dan kimotripsin pada suhu 25°C selama 24 jam dan kelima jenis enzim yang lain dilakukan pada suhu 37°C . Setelah dilakukan pencernaan, masing-masing sample dipanaskan pada suhu 96°C selama 10 menit untuk meng-inaktifkan enzim protease.

Penentuan kandungan protein

Penentuan kandungan protein dalam sample dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Lowry (8), dilakukan sebagai berikut : 1 ml larutan sample dilarutkan dengan 5 ml reagen kupur alkali dan fenol. Setelah larutan tersebut didiamkan selama 30 menit, lakukan pengukuran absorbansi pada 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

7. Marie, F.A., M.S. Daniel and J. Pierre. 1993. *J. Dairy Sci.* 74:301-310.
8. Gauthier, S.F., P. Paquin., Y. Pauliot and S. Turgeon. 1993. *J. Dairy Sci.* 76:321-328.
9. Saito, T., A. Yamaji and T. Itoh. 1991. *J. Dairy Sci.* 74:2831-2837.
10. Saito, T and T. Itoh. 1992. *J. Dairy Sci.* 75:1768-1774.
11. Saito, T., T. Nakamura., T. Kabuki., H. Kitazawa and T. Itoh. 1994. *Anim. Sci Tech.* 65:624-630.
12. Tadasa, K., S. Ichizo and K. Hitoshi. 1992. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56:624-630.
13. Lowry, O.H., N.J. Resebrough., A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. *J. Bio. Chem.* 93:265.
14. Yamamoto, S., I. Toida and K. Iwai. 1980. *J. Thoracis Dis.* 18:297-303.
15. Lieberman, J. 1974. *J. Am. Rev. Resp. Dis.* 109:743.