

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI ENZIM SUPEROKSIDA
DISMUTASE DARI BAKTERI GRAM-NEGATIF**

ARTIKEL ILMIAH

**Eky Nurhuda
11161077**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK

ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE DARI BAKTERI GRAM-NEGATIF

Oleh :

Eky Nurhuda

11161077

Superoksida Dismutase merupakan jenis enzim antioksidan dalam tubuh yang berfungsi sebagai katalisator pemusnah radikal bebas, sehingga tingkat kebutuhan enzim ini meningkat. Tujuan dari review ini adalah untuk meningkatkan pemahaman dalam mengisolasi SOD dari mikroba. Metode yang digunakan pada review artikel ini menggunakan data primer berupa data hasil penelitian yaitu data kultivasi bakteri dan data sekunder berupa data hasil studi literatur berupa data isolasi, purifikasi, karakterisasi, dan uji aktivitas SOD dengan melakukan penelusuran jurnal ilmiah terpublikasi. SOD dapat diisolasi dari bakteri Gram-NEGATIF dengan melakukan tiga tahap purifikasi meliputi, pengendapan amonium sulfat, dialisis dan kromatografi penukar ion. Bobot molekul SOD ditentukan menggunakan SDS-PAGE dengan bobot molekul antara 22-40 kDa, SOD dari bakteri Gram-negatif termasuk kedalam Superoksida Dismutase jenis FeSOD Pada review ini pH optimum yang digunakan dalam mengisolasi SOD ada pada rentang 6,0-10 sedangkan suhu optimumnya pada rentang 40°C-70°C. Pengujian aktivitas SOD dilakukan dengan menambahkan larutan H₂O₂ dengan hasil positif menghasilkan gelembung udara, serta dapat diuji menggunakan metode analisis Zimografi dengan hasil positif terbentuknya pita protein pada plat gel.

Kata kunci: bakteri Gram-negatif; karakterisasi; superoksida dismutase; purifikasi enzim

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE DARI BAKTERI GRAM-NEGATIF

ARTIKEL ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Eky nurhuda
11161077

Bandung, 20 Januari 2021
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Soni Muhsinin, M.Si.)

Pembimbing Serta,



(apt Dadih supriadi, M.Si.)

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr.wb.

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat serta Karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan *Review* Jurnal ini dengan baik. Shalawat dan salam juga senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW. Penyusunan *Review* jurnal ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan guna mencapai Kelulusan Program Strata Satu di Universitas Bhakti Kencana. Saya menyadari bahwa penulisan *Review* Jurnal ini tidak dapat terselesaikan tanpa dukungan berupa moril maupun materil dari berbagai pihak. Yang telah membantu dalam penyusunan *Review* Jurnal ini. Terima kasih untuk :

1. Kedua orang tua, ayahanda dan ibunda tercinta yang telah memberikan dukungan berupa moril dan materil serta doa yang tiada hentinya kepada saya.
2. Bapak Soni Muhsinin, M.Si. selaku pembimbing utama yang sudah berkenan memberikan ilmunya dan mengarahkan saya selama penyusunan *Review* Jurnal ini.
3. Bapak apt Dadih supriadi, M.Si. selaku pembimbing serta yang telah bersedia membimbing dan memberikan solusi pada setiap permasalahan atau kesulitan dalam penyusunan *Review* Jurnal ini
4. Segenap keluarga, teman kontrakan dan teman seperjuangan yang telah menyemangati, tanpa mereka hari-hari selama penyusunan laporan ini tak akan terasa ringan.
5. Bapak/ibu dosen Universitas Bhakti Kencana yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat selama masa perkuliahan
6. Seluruh staff dan karyawan Universitas Bhakti Kencana yang telah memberikan bantuan kepada saya

Saya menyadari bahwa penyusunan *Review* Jurnal ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, saya mengharapkan segala bentuk saran, masukan, serta kritik yang membangun dari berbagai pihak. Semoga laporan *Review* Jurnal ini dapat bermanfaat bagi para pembaca khususnya dan saya selaku penulis.

Bandung, 21 januari 2021

Penulis,

DAFTAR ISI

| | |
|--|-----|
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | iv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian | 2 |
| 1.4 Tempat dan waktu Penelitian | 2 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| II.1 SOD | 3 |
| II.2 Jenis SOD | 4 |
| BAB III. METODOLOGI PENELITIAN | 5 |
| BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN | 7 |
| 4.1. Prosedur Penelitian | 7 |
| 4.1.1. Pemilihan Tema | 7 |
| 4.1.2. Mencari Literatur yang Berkaitan dengan Tema | 7 |
| 4.1.3. Mengevaluasi Literatur | 7 |
| 4.1.4. Mengkaji dan Menganalisis Literatur | 7 |
| 4.1.5. Mengutip Literatur dengan Benar | 8 |
| 4.1.6. Membuat Tabel Ringkasan | 8 |
| 4.1.7. Menginterpretasikan Tabel Ringkasan | 8 |
| 4.1.8. Pengecekan Plagiarisme | 8 |
| 4.2. Analisis Data | 8 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN | 9 |
| 5.1 Purifikasi SOD dari Kultur Bakteri Gram-Negatif | 10 |
| 5.2 Presipitasi Fraksi (Pengendapan Amonium Sulfat) | 11 |
| 5.3 Dialisis | 12 |
| 5.4 Kromatografi Penukar Ion | 12 |
| 5.5 Karakterisasi SOD dari Kultur Bakteri Gram-Negatif | 14 |
| 5.6 Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) | 14 |
| 5.7 pH dan Suhu Optimum | 17 |
| 5.8 Uji Aktivitas SOD dari Kultur Bakteri Gram-negatif | 20 |
| BAB VI KESIMPULAN | 21 |
| DAFTAR PUSTAKA | 22 |

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Bakteri adalah organisme golongan prokariotik. Berbeda dengan organisme eukariotik seperti manusia, organisme ini tidak memiliki membran inti sehingga informasi genetik berupa DNA yang dimiliki, tidak terlokalisasi dalam nukleus, (Jean B et al., 2017) Bakteri dapat diklasifikasikan dengan berbagai cara. Salah satu klasifikasi yang paling umum digunakan adalah dengan menggunakan hasil pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram adalah prosedur mikrobiologi dasar untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri. Pewarnaan Gram dimulai dengan pemberian pewarna basa, kristal violet. Larutan iodine yang kemudian ditambahkan menyebabkan semua bakteri terwarnai biru pada fase ini. Sediaan kemudian diberi alkohol. Sel Gram negatif akan tetap mengikat senyawa kristal violet-iodine sehingga bewarna biru, sedangkan Gram negatif akan hilang warnanya oleh alkohol dan bakteri negatif juga memiliki peptidoglikan lebih tipis di bandingkan dengan bakteri gram negatif, (Jawetz, Melnick, 2007). Ciri lain yang dimiliki oleh bakteri adalah bentuk dari bakteri yang beragam contoh nya bentuk seperti batang pendek yang dimiliki oleh bakteri *Escherichia coli*. *E.coli* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif, bakteri gram negatif yang juga berbentuk batang pendek dimiliki oleh *Anoxybacillus gonensis*, (Rahman, Kartawinata, & Julianti, 2012) dan masih bakteri Gram negative yang memiliki bentuk seperti batang pendek juga dimiliki oleh *Desulfovibrio gigas*, (Morais-Silva et al., 2014) berbeda sedikit dengan bakteri negative yang lainya *Marinomonas sp* yang memiliki bentuk seperti batang panjang, (Lucena et al., 2016). Pada beberapa penelitian *Escherichia coli* dapat tidak ditemukan spora pada bakteri ini dan selnya terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, *Escherichia coli* biasanya membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus, bakteri ini termasuk Superoksida dismutase positif dimana bakteri ini dapat menghasilkan enzim SOD sendiri (Rahman et al., 2012).

Superoxide Dismutase (SOD) adalah metalloenzymes yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria, cara kerjanya dengan mengkatalisis dismutasi pada superoxide menjadi hydrogen peroxide dan oksigen (Goutam Brahmachari, 2013).

Enzim SOD dapat digunakan di berbagai bidang, diantaranya bidang kosmetik sebagai anti penuaan dini, (Goutam Brahmachari, 2013) di bidang medis digunakan untuk mengeliminasi H₂O₂ setelah proses sterilisasi atau desinfektan bahan dan wadah (Kuddus, 2009), di bidang tekstil digunakan untuk sterilisasi (Jawetz, Melnick, 2007), Karena enzim SOD banyak digunakan dalam berbagai bidang industri, maka tingkat kebutuhan enzim ini menjadi tinggi. Pada review ini akan didiskusikan tentang metode isolasi, purifikasi dan karakterisasi SOD dari mikroba yaitu pada bakteri. Review ini bertujuan untuk meningkatkan pemahaman dalam mengisolasi SOD dari mikroba dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri.

1.2 . Rumusan Masalah

1. bagaimana karakterisasi SOD dari bakteri Gram-Negatif
2. bagaimna aktivitas SOD dari bakteri Gram-Negatif

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan dari review jurnal ini adalah untuk mengetahui metode yang efektif dan memiliki nilai ke akuratan yang tinggi di dalam menganalisis SOD pada bakteri.

Manfaat dari penelitian ini, diantaranya :

1. Sebagai informasi ilmiah dan rujukan bagi peneliti selanjutnya.
2. Sebagai sumber informasi analisis SOD pada bakteri dengan menggunakan metode yang tepat.
3. Serta memperluas wawasan terkait faktor penggunaan SOD didalam kehidupan sehari-hari.

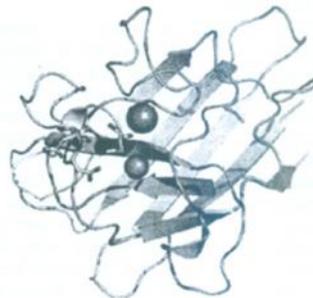
1.4 Tempat dan waktu Penelitian

Dilakukan di Universitas Bhakti Kencana Fakultas Farmasi Bandung

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 SOD

Superoksida dismutase (SOD) adalah kelompok enzim yang berfungsi mengkatalisasi pembuangan anion superoksida secara efisien (Zelko, Mariani, & Folz, 2002). Superoxide Dismutase (SOD) adalah metalloenzymes yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria, cara kerjanya dengan mengkatalisis dismutasi pada superoxide menjadi hidrogen peroksida dan oksigen, hidrogen peroksida mudah untuk berdifusi melewati membran plasma. Selanjutnya hidrogen peroksida diubah menjadi molekul air oleh enzim katalase dan glutation peroksidase (Kim et al., 2014)



Gambar 1. Struktur representatif tiga dimensi SOD.



Gambar 2.1 Perubahan enzim SOD menjadi oksigen dan hydrogen peroksida (Siti Nurhayati, 2011)

Pada manusia, ditemukan tiga bentuk SOD, yaitu cytosolic Cu,Zn-SOD, mitochondrial Mn-SOD, dan extracellular SOD (WRESDIYATI, ASTAWAN, & HASTANTI, 2006). SOD merupakan enzim antioksidan yang berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas. Keberadaan SOD dapat ditemukan di otak, hati, sel darah merah, ginjal, tiroid, testis, otot jantung, mukosa lambung, kelenjar pituitari, pankreas dan paru. SOD ditemukan pada seluruh makhluk hidup yang penting bagi perlindungan sistem aerobik untuk mencegah keracunan oksigen. Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun (Vyas & Kumar, 2005).

II.2 Jenis SOD

a) Cu, Zn SOD

Copper Zink Superoxide dismutase adalah protein dimerik dengan dua subunit yang identik diikat secara non kovalen. Cu, Zn SOD berperan penting sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Terletak dalam sitoplasma dan organel dengan ukuran 32.000 kDA.

2) Mn SOD

Bekerja sebagai antioksidan utama dalam menghambat kerja superoxide dismutase didalam mitokondria. Mn SOD berukuran 40.000 kDA yang terdiri dari 4 subunit dengan atom mangan. Tipe ini disintesis terbanyak di cairan ekstraseluler oleh beberapa sel saja, contohnya sel endotel dan fibroblast.

3) Fe SOD

Enzim yang banyak ditemukan pada prokariot, tumbuhan dan bakteri. Terdiri dari tiga ion besi yang berikatan dengan tiga histidin, satu aspartat, dan satu molekul air.

Untuk bakteri Gram-negatif termasuk kedalam jenis Fe SOD karena banyak ditemukan pada prokariot, tumbuhan dan bakteri. Fe SOD Terdiri dari tiga ion besi yang berikatan dengan tiga asam amino yaitu histidin, satu aspartat, dan satu molekul air. (WRESDIYATI et al., 2006)

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

- A. Lokasi dan Waktu Penelitian : Dilakukan di Universitas Bhakti Kencana Fakultas Farmasi Bandung.
- B. Subyek Penelitian: Perbandingan metode
- C. Metode Pengumpulan Data : Metode yang digunakan adalah kajian sistematis (*systematic review*) dari hasil penelusuran secara online pada *database Google Scholar, IOSR Journals, Science Direct* dan *PubMed*. Metode Pengumpulan Data :

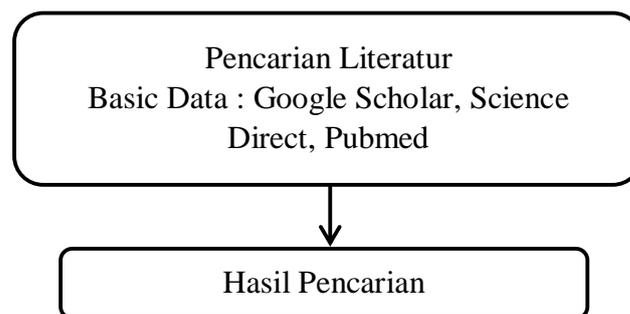
1. Rancangan Strategi Pencarian Literatur Review

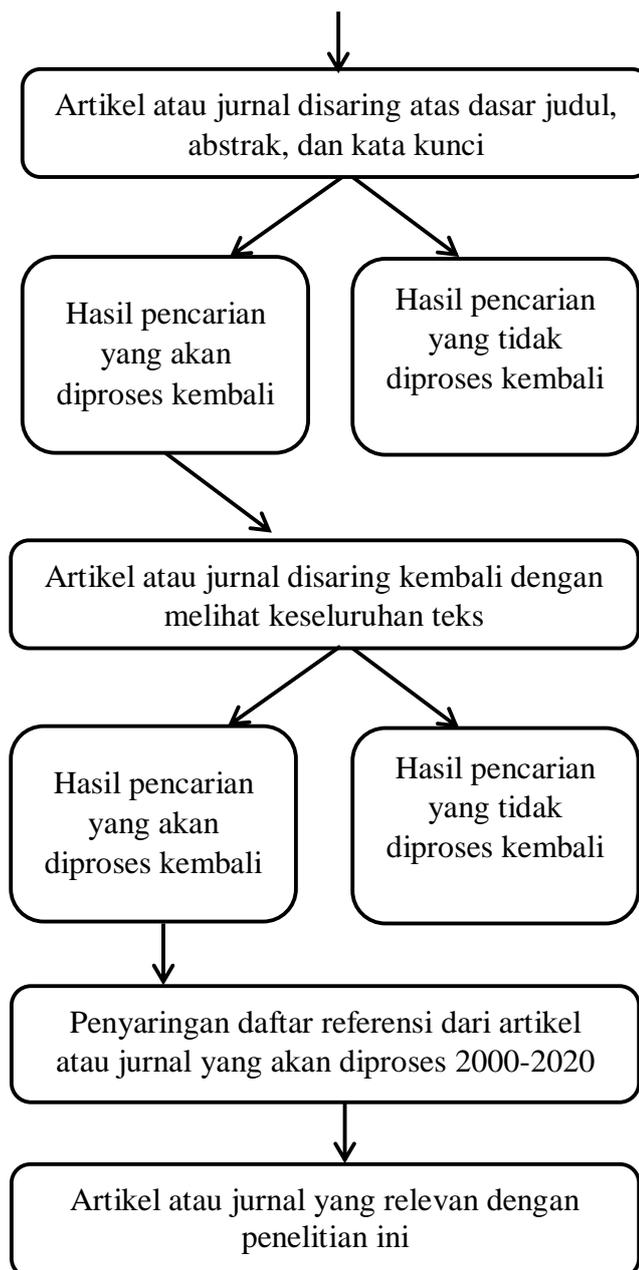
Penelitian ini menggunakan pendekatan literatur review yang berfokus pada evaluasi beberapa hasil penelitian sebelumnya dari berbagai referensi jurnal baik nasional maupun internasional dengan rentang waktu pada tahun 2000-2020 melalui search engine berupa *google scholar, science direct, dan PubMed*.

2. Kriteria Literatur Review

Penelusuran literatur review artikel ini dilakukan berdasarkan artikel ilmiah dengan rentang waktu pada tahun 2000-2020. Pada penelusuran artikel ilmiah yang disaring berdasarkan judul literatur, abstrak dan kata kunci atau keyword.

3. Tahapan Artikel Ilmiah





- A. Bahan: Science direct, google scholar, pubmed, dan ebook
- B. Analisis Data: Data yang diperoleh dikaji dan dibandingkan berdasarkan hasil penelitian dari jurnal atau artikel yang diperoleh.