

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Katalase dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)”**. Penulisan Skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai syarat kelulusan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan hingga pada penyusunan, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan Skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, yang selalu mendukung, mendoakan, memberikan bantuan baik moril maupun materiil serta memberi dukungan secara penuh hingga penulis dapat terus menyusun Skripsi ini hingga selesai;
2. Dr. Apt. Entris Sutrisno, M.H.Kes selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana;
3. Apt. Aris Suhardiman, M.Si., selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Universitas Bhakti Kencana, yang telah memberikan dukungan kepada Mahasiswa Farmasi Universitas Bhakti Kencana;
4. Rahma Ziska, M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang dengan sabar memberikan bimbingan, motivasi, dan ilmu yang bermanfaat serta menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Skripsi;
5. Vina Juliana Anggraeni, M.Si., selaku dosen pembimbing serta atas bimbingan, saran dan dukungan kepada penulis selama penyusunan Skripsi;
6. Dosen dan staff Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang telah banyak membantu dan membimbing penulis selama masa pendidikan hingga penyusunan Skripsi.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhir kata, semoga Skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Bandung, 7 Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	2
1.3.1 Tujuan	2
1.3.2 Manfaat penelitian	3
1.4 Tempat dan Waktu Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lam.)	4
2.2 Radikal Bebas	5
2.2.1 Superoksida ($O_2^{\bullet -}$)	6
2.2.2 Hidrogen Peroksida (H_2O_2)	6
2.2.3 Radikal Hidroksil ($OH^{\bullet}$)	6
2.3 Antioksidan	7
2.3.1 Antioksidan Non-Enzimatis	8
2.3.2 Antioksidan Enzimatis	8
2.4 Enzim Katalase	9
2.4.1 Katalase Monofungsional	10
2.4.2 Katalase-peroksidase	10
2.4.3 Pseudokatalase (Mn-katalase)	10
2.4.4 Katalase Minor	11
2.5 Isolasi Enzim	12
2.5.1 <i>Osmotic Shock</i>	12
2.5.2 <i>The Waring Blender</i> dan <i>Virtis Homogenizer</i>	13
2.5.3 Sonikasi	13

2.6	Purifikasi Enzim	14
2.6.1	Presipitasi dengan Amonium Sulfat	14
2.6.2	Dialisis	16
2.7	Uji Aktivitas Enzim	17
2.7.1	Uji Aktivitas Enzim secara Kualitatif.....	18
2.7.2	Uji Aktivitas Enzim secara Kuantitatif.....	18
2.8	Karakterisasi Enzim	19
2.8.1	Bobot Molekul Katalase	19
2.8.2	Suhu dan pH Optimum Katalase	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		22
BAB IV PROSEDUR PENELITIAN.....		23
4.1	Penyiapan Alat dan Bahan	23
4.1.1	Alat	23
4.1.2	Bahan	23
4.2	Determinasi Tanaman	23
4.3	Isolasi Enzim.....	23
4.4	Karakterisasi Awal Enzim	23
4.5	Purifikasi Enzim	25
4.5.1	Presipitasi Amonium Sulfat.....	25
4.5.2	Dialisis	25
4.6	Uji Aktivitas Enzim	26
4.6.1	Uji Aktivitas Enzim secara Kualitatif.....	26
4.6.2	Uji Aktivitas Enzim secara Kuantitatif.....	26
4.7	Karakterisasi Enzim	26
4.7.1	Penentuan Bobot Molekul Katalase dengan Metode SDS-PAGE.....	26
4.7.2	Penentuan Suhu Optimum Katalase	27
4.7.3	Penentuan pH Optimum Katalase.....	27
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		28
5.1	Determinasi Tanaman	28
5.2	Isolasi Enzim.....	28
5.3	Karakterisasi Awal Enzim	30
5.4	Purifikasi Enzim	32
5.4.1	Presipitasi Amonium Sulfat	32

5.4.2	Dialisis	35
5.5	Uji Aktivitas Enzim	37
5.5.1	Uji Aktivitas Enzim secara Kualitatif	37
5.5.2	Uji Aktivitas Enzim secara Kuantitatif	38
5.6	Karakterisasi Enzim	38
5.6.1	Bobot Molekul Katalase dengan SDS-PAGE	38
5.6.2	Suhu Optimum Katalase	42
5.6.3	pH Optimum Katalase	43
BAB VI	SIMPULAN DAN SARAN.....	45
6.1	Simpulan	45
6.2	Saran	45
DAFTAR PUSTAKA		46
LAMPIRAN		55

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	4
Gambar 2.2 Generasi ROS dan RNS pada Spesies Hidup	5
Gambar 2.3 Mekanisme Detoksifikasi Radikal Bebas oleh Enzim Antioksidan	9
Gambar 2.4 Tahapan Dekomposisi Hidrogen Peroksida (H ₂ O ₂) oleh Katalase.....	10
Gambar 2.5 Tipe Katalase	11
Gambar 2.6 Tabel Fraksinasi Amonium Sulfat	16
Gambar 2.7 Proses Dialisis.....	17
Gambar 2.8 Ilustrasi Komponen dan Prinsip Kerja SDS-PAGE	20
Gambar 5.1 Proses Penyaringan Ekstrak Daun Kelor untuk Mendapatkan Filtrat	30
Gambar 5.2 Hasil Sentrifugasi Filtrat.....	30
Gambar 5.3 Pemisahan Pita Protein Hasil SDS-PAGE.....	31
Gambar 5.4 Aktivitas Katalase Hasil Presipitasi Amonium Sulfat.....	34
Gambar 5.5 Hasil SDS-PAGE Enzim Katalase dari Daun Kelor	41
Gambar 5.6 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Katalase.....	43
Gambar 5.7 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Katalase	44

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Komposisi <i>Separating Gel</i> dan <i>Stacking Gel</i> SDS-PAGE	25
Tabel 5.1 Aktivitas Katalase Sebelum dan Sesudah Dialisis	36
Tabel 5.2 Hasil Pengujian Aktivitas Katalase secara Kualitatif	37
Tabel 5.3 Aktivitas Katalase dari Ekstrak Kasar, Fraksi 60% dan Dialisat	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Hasil Determinasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	55
Lampiran 2 Hasil Isolasi Enzim Katalase dari Daun Kelor.....	56
Lampiran 3 Hasil Purifikasi Enzim dengan Presipitasi menggunakan Amonium Sulfat.....	57
Lampiran 4 Hasil Purifikasi Enzim dengan Dialisis	59
Lampiran 5 Hasil Uji Aktivitas Kualitatif Katalase	60
Lampiran 6 Hasil Uji Aktivitas Kuantitatif Katalase	61
Lampiran 7 Hasil Karakterisasi Suhu Optimum Katalase.....	63
Lampiran 8 Hasil Karakterisasi pH Optimum Katalase	65
Lampiran 9 Hasil Cek Plagiarisme	67

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
POD	Peroksidase
CAT	Katalase
SOD	Superoksida Dismutase
GPx	Glutation Peroksidase
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
O ₂	Oksigen
H ₂ O	Air
U/mg	Unit per miligram
U/mL	Unit per mililiter
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
OH [•]	Radikal hidroksil
O ₂ ^{•-}	Radikal superoksida
NO [•]	Radikal oksida nitrat
RO ₂ [•]	Radikal peroksil
HOCl	Asam hipoklorat
ONOO ⁻	Peroksinitrit
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
1O ₂	Oksigen singlet
O ₃	Ozon
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
kDa	Kilodalton
(NH ₄) ₂ SO ₄	Amonium sulfat
U	Unit
IU	Internasional Units
IU/mg	Internasional unit per miligram
U/mg	Unit per miligram
U/mL	Unit per mililiter
EDTA	<i>Ethylen Diamine Tetraacetid Acid</i>
BaCl ₂	Barium klorida
BaSO ₄	Barium sulfat
μM	Mikromolar
mM	Milimolar
mL	Mililiter
nm	Nanometer
μg	Mikrogram
μL	Mikroliter
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis</i>
APS	Amonium Persulfat
TEMED	Tetramethylethylenediamine
b/v	Bobot per volume
UV-Vis	Ultraviolet-Visibel
LAMBANG	NAMA
λ	Panjang gelombang
°C	Derajat <i>celcius</i>