

## DAFTAR ISI

|                                                                     |             |
|---------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>LEMBAR PENGESAHAN.....</b>                                       | <b>ii</b>   |
| <b>SURAT PERNYATAAN.....</b>                                        | <b>iii</b>  |
| <b>ABSTRAK.....</b>                                                 | <b>v</b>    |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                | <b>vi</b>   |
| <b>KATA PENGANTAR .....</b>                                         | <b>vii</b>  |
| <b>DAFTAR ISI .....</b>                                             | <b>viii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI.....</b>                             | <b>xi</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL.....</b>                                            | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                        | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....</b>                            | <b>xiv</b>  |
| <b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>                                      | <b>1</b>    |
| 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           |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                 | <b>4</b>    |
| 2.1 Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) .....                | 4           |
| 2.2 Radikal Bebas .....                                             | 5           |
| 2.2.1 Superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ).....                           | 6           |
| 2.2.2 Hidrogen Peroksida ( $H_2O_2$ ) .....                         | 6           |
| 2.2.3 Radikal Hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ) .....                      | 6           |
| 2.3 Antioksidan.....                                                | 7           |
| 2.3.1 Antioksidan Non-Enzimatik.....                                | 8           |
| 2.3.2 Antioksidan Enzimatik .....                                   | 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        |
| <b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b> |                                                              | <b>22</b> |
| <b>BAB IV PROSEDUR PENELITIAN.....</b>    |                                                              | <b>23</b> |
| 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        |
| <b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>   |                                                              | <b>28</b> |
| 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        |
| <b>BAB VI</b>               | <b>SIMPULAN DAN SARAN.....</b>               | <b>45</b> |
| 6.1                         | Simpulan .....                               | 45        |
| 6.2                         | Saran .....                                  | 45        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b> |                                              | <b>46</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>       |                                              | <b>55</b> |

## 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 ( $H_2O_2$ ) 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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                   | Hidrogen Peroksida                                                 |
| O <sub>2</sub>                                  | Oksigen                                                            |
| H <sub>2</sub> O                                | Air                                                                |
| U/mg                                            | Unit per miligram                                                  |
| U/mL                                            | Unit per mililiter                                                 |
| ROS                                             | <i>Reactive Oxygen Species</i>                                     |
| OH <sup>•</sup>                                 | Radikal hidroksil                                                  |
| O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>                    | Radikal superoksida                                                |
| NO <sup>•</sup>                                 | Radikal oksida nitrat                                              |
| RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>                    | Radikal peroksil                                                   |
| HOCl                                            | Asam hipoklorat                                                    |
| ONOO-                                           | Peroksinitrit                                                      |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                   | Hidrogen peroksida                                                 |
| 1O <sub>2</sub>                                 | Oksigen singlet                                                    |
| O <sub>3</sub>                                  | Ozon                                                               |
| DNA                                             | <i>Deoxyribonucleic Acid</i>                                       |
| kDa                                             | Kilodalton                                                         |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 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 <sub>2</sub>                               | Barium klorida                                                     |
| BaSO <sub>4</sub>                               | 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                                                |
| <b>LAMBANG</b>                                  | <b>NAMA</b>                                                        |
| λ                                               | Panjang gelombang                                                  |
| °C                                              | Derajat <i>celcius</i>                                             |