

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb).

Centella asiatica (Linn.) Urb yang memiliki sinonim *Hydrocotyle asiatica* Linn dan *Pasequinus asitica* Rumph. Pegagan mempunyai nama daerah daun kaki kuda.

Ciri-ciri umum yang dimiliki pegagan adalah terna tahunan tanpa batang yang memiliki rimpang pendek dan stolon-stolon merayap dengan panjang 10-80 cm. Daun tunggal, bertangkai memiliki panjang sekitar 5-15 cm, berbentuk ginjal, tepi bergerigi atau beringgit, tersusun dalam roset yang tediri atas 2-10 helai daun, dan berambut. Bunga berwarna putih atau merah muda, tersusun dalam karangan berupa payung, tunggal atau 3-5 bersama-sama keluar dari ketiak daun. Memiliki buah kecil, bergantung, berbentuk lonjong atau pipih, baunya wangi dan berasa pahit (Triana Rahayu dkk., 2021).

Pegagan memiliki kandungan kimia antara lain: asiatikosid, tankunisid, isotankunisid, asam brakhmid, *meso-inositol*, centeloid, karotenoid, garam-garam mineral seperti garam kalium, dan glikosida triterpenoida.

Pegagan juga memiliki khasiat serta manfaat untuk mengobati hepatoprotektor (Lotulung dkk., 2015), lepra, campak, demam, amandel (tonsilis) (Hidayatunniqmah dkk., 2022), selain itu pegagan juga dimanfaatkan sebagai anti penuaan dini (Ayu Mareta dkk., n.d.) dan anti inflamasi (Purgiyanti, Nurcahyo, 2021).

Taksonomi



Gambar 2.1 Pegagan

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivision : Spermatophyta
 Division : Magnoliophyta
 Class : Dicotyledoneae
 Subclass : Rosidae
 Ordo : Apiales
 Family : Apiaceae
 Genus : Centella
 Species : *Centella asiatica* (L.). Urb.

II.2 Antioksidan

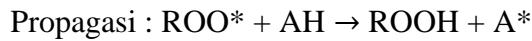
Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal dan memperlambat proses oksidasi yang diakibatkan oleh radikal bebas (Widyastuti, 2010). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan, yaitu dengan cara pengikatan oksigen dan pelepasan hidrogen. Proses ini terjadi dalam tubuh kita. Proses oksidasi sangat penting untuk metabolisme tubuh. Namun, jika molekul yang dihasilkan berlebihan, maka proses tersebut justru dapat merusak kesehatan. Hal ini disebut dengan stres oksidatif oleh karena itu dibutuhkan antioksidan yang dapat berperan untuk menghambat dan menetralisir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami dapat diisolasi tumbuhan, antara lain

Atas dasar mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) yaitu, antioksidan primer, sekunder dan tersier.

1. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena mekanismenya yang dapat mengubah radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif, dengan cara memutus reaksi berantai (polimerasi) kemudian mengubahnya menjadi molekul yang lebih stabil. Antioksidan ini juga berperan sebagai donor hidrogen atau CB-D (Chain breaking donor) dan berperan sebagai akseptor elektron atau CB-A (Chain breaking acceptor) (Winarsi, 2007).



Antioksidan primer yang ada dalam tubuh adalah enzim superoksid dismutase (SOD), katalase, dan glutation peroksidase (GSH-Px).

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder menghambat pembentukan senyawa oksigen reaktif dengan cara penghelaan metal, atau merusak pembentukannya. Prinsipnya dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau menangkap radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler lainnya. Antioksidan ini disebut dengan antioksidan nonenzimatis, dalam kelompok ini juga disebut sebagai sistem pertahanan preventif. Antioksidan ini berperan dalam melindungi lipoprotein densitas rendah (LDL) dan sangat rendah (VLDL) dari reaksi oksidasi. Sumber dari antioksidan sekunder ini adalah Vitamin E, C, betakaroten, flavanoid, antosianin, katekin, serta asam lipoat yang diperoleh dari tanaman (Winarsi dkk., 2013)

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang berperan dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas ditandai oleh rusaknya *Single* dan *Double strand* baik gugus non basa maupun basa. Yang termasuk kedalam kelompok ini biasanya adalah jenis enzim, misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA (Hery, 2007).

II.3 Catalase (CAT)

Katalase adalah salah satu komponen sentral dari jalur detoksifikasi yang mencegah pembentukan radikal hidroksil yang sangat reaktif dengan mengkatalisis penguraian hidrogen peroksid menjadi air dan oksigen melalui dua transfer elektron (Shin dkk., 2008).

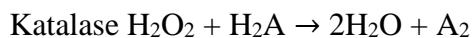
Reaksi katalase sangat sederhana dalam mendekomposisi hidrogen peroksid menjadi air dan oksigen, dengan reaksi sebagai berikut:



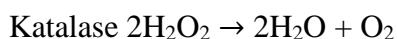
Berdasarkan sifat enzimologisnya, katalase telah diklasifikasikan menjadi tiga jenis: katalase monofungsional yang mengandung heme, katalase peroksidase bifungsional

yang mengandung heme, dan katalase yang tidak mengandung heme (Chelikani dkk., 2004).

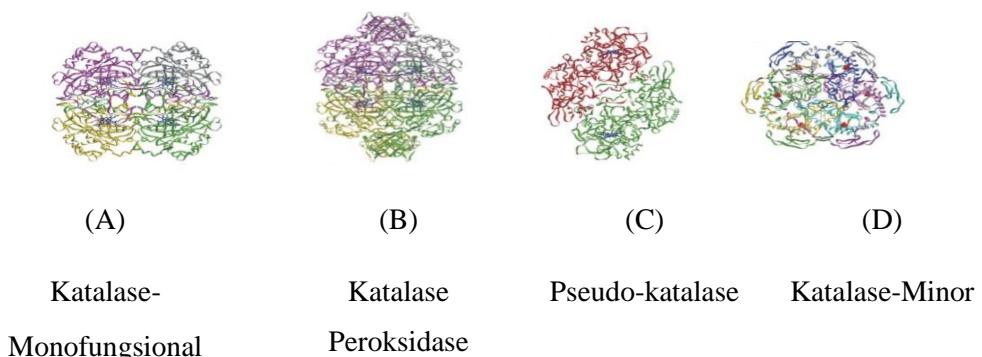
Enzim Katalase merupakan enzim yang tersusun dari 500 atau lebih asam amino serta memiliki gugus forfirin atau yang dikenal dengan hemoprotein atau protein dengan kandungan heme yang terdapat pada hampir seluruh makhluk hidup. Enzim katalase bersifat sebagai antioksidan ditemukan pada sebagian besar sel (Nagwa dkk., 2012). Katalase dapat mengkatalisis reaksi penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) secara dua mekanisme kerja antara lain katalitik dan peroksidatik. Mekanisme katalitik yang terjadi pada katalase adalah mengaktifkan peroksidase dan mengoksidasi senyawa yg analog dengan substrat.



Mekanisme peroksidatik menggunakan satu molekul H_2O_2 sebagai substrat atau donor elektron dan molekul H_2O_2 lainnya sebagai oksidan atau akseptor elektron (Silvia, 2009).



Didalam organel sel katalase terletak pada organel peroksisom. Menurut Haliwell dan Gutteridge (2000), aktivitas CAT optimal pada pH 7,0. CAT dapat mendetoksifikasi senyawa formaldehid, fenol dan alkohol. Beberapa katalase telah ditemukan pada tanaman antara lain pada daun cabai (Katiyar & Kumar, 2020), daun kubis (Linn dkk., 2020),daun chard (Dhvcer & Aydemir, 2001) dan pada labu siam (Takio dkk., 2021). Berdasarkan struktur dan urutannya, katalase terbagi menjadi empat kelas (Gambar 2.2) yaitu:



Gambar 2.2. Klasifikasi katalase (Sumber: Chelikani, Fita and Loewen, 2004)

1. Katalase Monofungsional

Katalase monofungsional merupakan kelompok katalase terbesar dan terbukti secara aktif sebagai tetramer. Katalase ini dikategorikan berdasarkan ukuran subunit yang mengandung *heme* dan terbagi menjadi dua, yaitu katalase subunit kecil dengan bobot molekul 50-70 kDa yang mengandung *heme b* dan katalase subunit besar dengan bobot molekul 75-80 kDa yang mengandung *heme d*.

2. Katalase-Peroksidase

Katalase peroksidase ini memiliki aktivitas peroksidasi yang signifikan selain aktivitas katalitiknya. Katalase ini aktif sebagai dimer maupun tetramer. Kelompok katalase-peroksidase ini mengandung *heme b* dan memiliki subunit dengan bobot molekul > 80 kDa.

3. Katalase *Non-heme*

Katalase *non-heme* merupakan kelompok terkecil dan ada tiga katalase *non-heme* yang dikarakterisasi dengan jumlah yang sama. Sisi aktif dari ketiga enzim ini memiliki domain yang kaya mangan (Mn) dibandingkan dengan kelompok *heme*, karena kekurangan *heme*, maka kelompok ini disebut pseudokatalase. Enzim ini memiliki bobot molekul 28,3 kDa. Contoh organisme yang memiliki katalase jenis ini adalah (*Lactobacillus plantarum*, *album Thermoleophilum*, dan *Thermus thermophilus*). Katalase *non-heme* memiliki bobot molekul 170 – 210 kDa (Sooch dkk., 2017).

4. Katalase Minor

Beberapa protein yang mengandung *heme*, termasuk sebagian besar peroksidase memiliki aktivitas katalitik yang rendah dengan kloroperoksidase (CPO) atau enzim yang mengkatalisis klorinasi senyawa organik. Enzim ini memiliki bobot molekul 42 kDa dan aktif sebagai monomer.

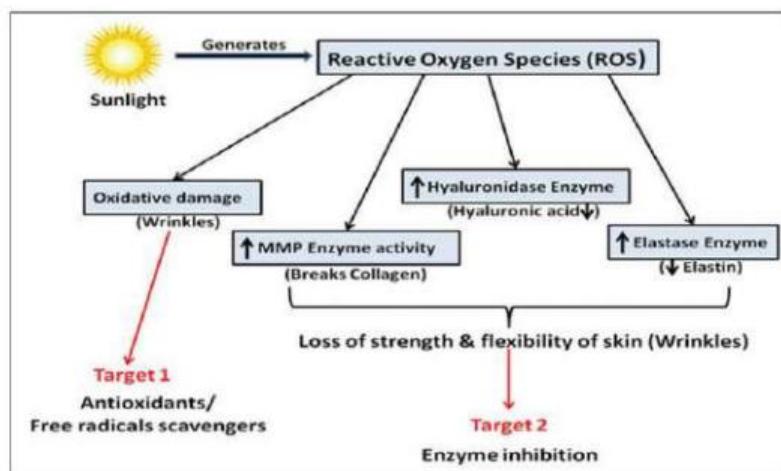
Manfaat Katalase

Katalase banyak diaplikasikan pada industri makanan untuk menghilangkan hidrogen peroksid dari susu sebelum memproduksi keju. Katalase juga digunakan dalam industri tekstil, untuk menghilangkan residu hidrogen peroksid seingga kain akan terbebas dari peroksid (Kuddus, 2018). Industri kosmetik memanfaatkan enzim ini sebagai pembersih lensa kontak, sisa hidrogen peroksid setelah desinfeksi lensa

kontak dapat dihilangkan dengan enzim katalase yang mengandung *heme* sehingga dapat menurunkan hidrogen peroksida (Brahmachari, Demain & Adrio, 2017). Katalase juga dapat diaplikasikan menjadi masker kecantikan dengan khasiat sebagai *antiaging* (Indrayati dkk., 2016).

II.4 Mekanisme *Photoaging*

Paparan UV berlebih pada kulit manusia dapat menginduksi reaksi biokimia yang kompleks. Produksi ROS yang berlebihan merupakan penyebab utama kerusakan kulit yang diakibatkan oleh radiasi UV. Paparan radiasi sinar UV secara terus menerus dapat menyebabkan berkurangnya antioksidan seluler dan mengurangi aktivitas sistem enzim antioksidan sehingga dapat memicu rusaknya DNA. Kerusakan oksidatif pada protein seluler, lipid, dan karbohidrat disebabkan oleh ROS. Hal ini terjadi karena molekul-molekul tersebut menumpuk pada lapisan kulit dan berkontribusi terhadap terjadinya *photoaging* (Rabe dkk., 2006).



Gambar 2.3 Skema Mekanisme Photoaging (Garg dkk, 2017)

Radiasi UV dapat menurunkan produksi prokolagen dan meningkatkan ekspresi *matrix metalloproteinase* (MMP). MMP merupakan bagian dari enzim pengurai yang berfungsi mendegradasi kolagen. ROS berperan sebagai *secondary messenger* yang memicu peningkatan regulasi *activator protein-1* (AP-1) yang menghasilkan degradasi kolagen dan inhibisi sintesis prokolagen. Meningkatnya regulasi AP-1 dapat menghambat tranduksi sinyal *transforming growth factor* β (TGF- β) sehingga dapat menurunkan jumlah kolagen tipe 1. Defisiensi kolagen dapat menimbulkan munculnya tanda-tanda penuaan dini seperti berkurangnya kekenyalan kulit, timbul

garis-garis halus, dan keriput pada kulit. Oleh karena itu peran katalase sangat dibutuhkan untuk menghambat mekanisme penuaan dini.

Dalam tubuh terdapat mekanisme pertahanan alami dalam mereduksi ROS, seperti enzim superdioksida dismutase(SOD), katalase, glutation peroksidase. Namun, ketidakseimbangan akibat pembentukan ROS yang berlebih menyebabkan biomolekul ini tidak bekerja secara maksimal sehingga terjadi stress oksidatif yang memicu terjadinya kerusakan sel .

Kerusakan sel dapat diminimalisir dengan adanya penambahan enzim seperti, SOD yang merupakan salah satu enzim antioksidan utama yang menangkal radikal bebas. Bertindak sebagai sistem pertahanan endogen seluler yang mengubah O_2 menjadi H_2O_2 dan oksigen, yang selanjutnya didetoksifikasi oleh katalase (CAT) dan *glutathion peroxidase* (GPx) (Rabe dkk., 2006).

II.5 Isolasi Enzim Dari Tanaman

Tujuan dari isolasi enzim adalah untuk memisahkan protein dari protein lain yang tidak diperlukan untuk dapat melakukan isolasi enzim, sel harus dilisis terlebih dahulu. Pemecahan sel ini bertujuan supaya protein yang terdapat pada sel inang dapat terpisah dan berubah menjadi bentuk terlarut (Nasution dkk, 2018).pemecahan sel dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu secara kimiawi, fisika, dan enzimatis. Metode kimiawi menggunakan bahan kimia dengan pengeringan mikroorganisme dan persiapan bubuk aseton sebagai prosedur standar yang akan mengubah struktur dinding sel. Kelebihan metode ini adalah bahan kimia yang mudah diperoleh. Meskipun demikian, hasil sampingan berupa limbah membutuhkan penanganan yang tepat. Metode enzimatis dilakukan dengan cara menambahkan suatu enzim yang dapat memecah dinding sel, seperti protoase dan lisosom. Hasil yang diperoleh lebih banyak dibandingkan dengan dua metode lainnya, namun harga enzim yang dibutuhkan relatif mahal. Metode fisika dapat dilakukan menggunakan *ultrasound* atau sonikator. Metode ini relatif sederhana, efisien dan hanya menggunakan sedikit bahan kimia. Kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan suhu optimum untuk menghasilkan panas sehingga kondisi suspensi sel perlu dipertahankan (Aehle, 2004).

II.6 Purifikasi Enzim

Purifikasi adalah proses penambahan senyawa yang dapat memisahkan dan menggumpalkan protein dari bahan lainnya untuk mendapatkan protein yang (Aehle, 2004). Tujuan dilakukan purifikasi enzim adalah untuk memperbanyak hasil protein yang digunakan dengan menghilangkan sebagian besar protein lain. Purifikasi enzim dapat dilakukan dengan mengkombinasikan beberapa teknik seperti presipitasi, dialisis, dan kromatografi kolom (Punekar, 2018).

Presipitasi Amonium Sulfat

Presipitasi dilakukan untuk memisahkan konsentrasi protein dari komponen molekul lainnya, misalnya lipid, karbohidrat dan asam nukleat. Pengendapan merupakan prosedur yang sederhana dan mudah, yang paling banyak digunakan untuk pengendapan protein. Metode pengendapan yang umum digunakan adalah dengan menambahkan garam dan pelarut organik. Presipitasi menggunakan garam (natrium sulfat, natrium klorida, atau amonium sulfat) lebih sering digunakan dari pada menggunakan pelarut organik (aseton dan etanol). Pelarut organik dapat mendenaturasi protein harganya relatif mahal, dan mudah terbakar (Aehle, 2004).

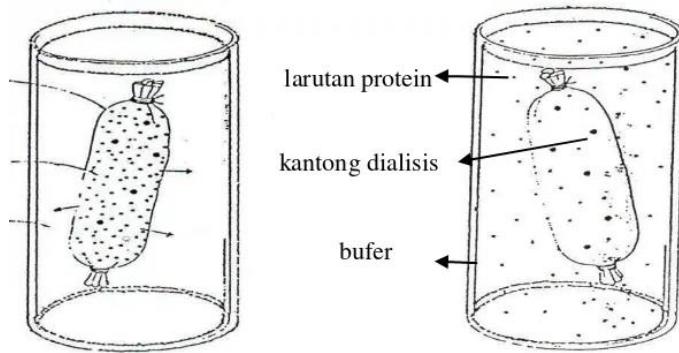
Presipitasi amonium sulfat paling sering digunakan untuk pemurnian enzim karena mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan garam lainnya, yaitu memiliki kelarutan tinggi, daya pengendapan yang efektif, tidak mempengaruhi aktivitas enzim, dan memiliki stabilitas yang tinggi pada kebanyakan enzim. Prinsip kerja pada prosedur ini adalah proses pengendapan protein yang disebabkan karena adanya interaksi hidrofobik molekul protein pada suasana ionik yang tinggi. Kelarutan protein pada pH dan suhu tertentu akan meningkat saat konsentrasi garam meningkat sampai pada konsentrasi tertentu (*salting in*). Kemudian ditambahkannya garam dengan konsentrasi tertentu, kelarutan protein akan menurun (*salting out*). Hal ini terjadi karena adanya peningkatan muatan listrik pada protein yang dapat menarik protein dan molekul air (Scopes, 1994).

Meskipun demikian, metode ini juga memiliki beberapa kelemahan karena menghasilkan protein yang mengandung kadar garam tinggi, sehingga diperlukan proses dialisis dalam larutan dapar untuk menghilangkan amonium sulfat yang

tersisa (Romualdo dkk., 2010). Selain itu amonium sulfat juga kurang efisien dalam menghilangkan *impuritis* (pengotor), juga tidak bersifat dapar sehingga dengan mudah membebaskan amonia yang dapat menyebabkan peningkatan nilai pH. (Suhartono dkk, 1989).

Dialisis

Teknik dialisis ini digunakan untuk menghilangkan garam dan zat terlarut lainnya yang memiliki bobot molekul lebih rendah dibandingkan dengan protein. Prinsip dialisis adalah dengan menggunakan membran semipermeabel agar molekul yang lebih besar dapat terpisah dari molekul yang lebih kecil. Dialisis dilakukan dengan menggunakan kantong dialisis (selofan) yang memiliki ukuran pori lebih kecil dibandingkan dengan protein sehingga protein dapat keluar dari kantong selofan (Dennison, 2002). Dialisis ini terjadi karena perpindahan garam amonium sulfat yang memiliki bobot molekul yang lebih kecil dibandingkan dengan sampel dan digantikan dengan larutan dapar. Garam bergerak melewati pori-pori membran karena adanya gradien konsentrasi. Proses ini juga dipengaruhi oleh adanya tekanan osmotik (Dennison, 2002; Arjita, 2009). Dialisis dihentikan jika sudah tercapai keadaan setimbang, yaitu ketika konsentrasi larutan di luar dan di dalam kantong dialisis mencapai kesetaraan (sama).



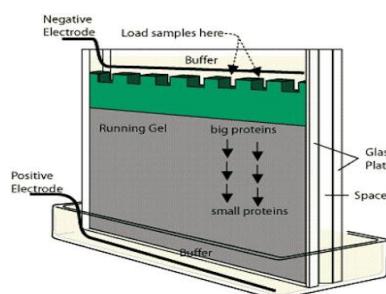
Gambar 2.4. Purifikasi enzim dengan metode dialisis (Stryer, 1995)

II.7 Karakterisasi Enzim

Tahap penentuan karakterisasi enzim katalase meliputi penetapan bobot molekul dengan metode SDS-PAGE, penetapan pH optimum dan penetapan suhu optimum menggunakan spektrofotometri UV visibel.

Penetapan Bobot Molekul

SDS-PAGE merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui berat molekul dari suatu protein. Prinsip kerja dari SDS-PAGE adalah memisahkan protein berdasarkan berat molekul dengan menggunakan matriks penyangga akrilamid. Fungsi SDS pada metode ini adalah untuk memberikan muatan negatif pada protein, SDS juga mendenaturasi protein dan menyederhanakan protein sehingga muatan negatif SDS akan menghancurkan struktur kompleks dan secara kuat tertarik kearah anoda bila ditempatkan pada suatu medan listrik (Anam, 2009). Akrilamid pada metode ini berfungsi untuk mencegah difusi akibat timbulnya panas pada arus listrik, konsentrasi akrilamid dalam gel dapat mempengaruhi migrasi protein, Semakin tinggi konsentrasi akrilamid maka diameter pori-pori di dalam gel akan semakin kecil, sebaliknya jika konsentrasi akrilamid rendah maka diameter pori-pori di dalam gel akan semakin besar. Dalam metode ini diperlukan persiapan sampel sebelum melakukan analisis. Merkaptetoetanol pada persiapan sampel berfungsi untuk mereduksi ikatan disulfida yang terdapat pada protein sehingga protein tidak memiliki struktur tersier maupun sekunder dan akan lebih mudah untuk dipisahkan dalam analisis elektroforesis. Reagen yang berfungsi untuk mempolimerisasi gel yaitu APS (*Amonium persulfat*) dan TEMED (*Tetra Ethyl Methyl Ethilene Diamine*). APS berfungsi sebagai inisiator yang mengaktifkan akrilamid agar dapat bereaksi dengan poliakrilamid lain membentuk rantai polimer yang panjang. Sedangkan TEMED berfungsi sebagai katalisator reaksi polimerisasi akrilamid menjadi gel poliakrilamid sehingga dapat digunakan dalam pemisahan protein. Adapun proses pemanasan sampel protein dalam metode ini berfungsi untuk mendenaturasi protein yang akan dianalisis. Dengan demikian pemisahan akan lebih cepat. (Magdeldin, 2012). Fungsi pewarnaan gel pada elektroforesis yaitu untuk membantu memonitor jalannya elektroforesis (Laemmli, 1970).



Gambar 2.5. Alat SDS-PAGE (Kurien & Scofield, 2012)

Menentukan bobot molekul secara akurat adalah dengan cara memilih kondisi pemisahan yang dapat menghasilkan hubungan linier antara logaritma dari bobot molekul dan migrasi protein. migrasi protein pada gel poliakrilamida ditentukan oleh muatan molekul dan dipengaruhi oleh ukuran molekul. Protein yang dipisahkan dengan SDS-PAGE dapat dikarakterisasi berdasarkan berat molekulnya dengan satuan Kilo Dalton (kDa).satu dalton sama dengan sati hidrogen molekul (Kurien & Scofield, 2012).

Analisis menggunakan SDS-PAGE terdiri dari dua jenis gel poliakrilamid, yaitu *stacking gel* dan *resolving gel* atau *separating gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel dengan beberapa *well*, sedangkan *resolving gel* merupakan tempat dimana protein akan bergerak atau berpindah menuju anoda yang bermuatan positif (+). *Stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komposisi yang sama, yang membedakannya hanya konsentrasi gel poliakrilamid pembentuknya, dengan konsentrasi *stacking gel* lebih rendah daripada *resolving gel* (Rachmania dkk., 2017).

Pita terbentuk karena adanya perbedaan berat molekul. Selain itu pita-pita bisa terbentuk atau nampak disebabkan karena adanya sejumlah partikel sampel yang tersangkut pada titik-titik tertentu dalam gel akibat adanya muatan listrik pada sampel yang bergerak menuju katoda. Partikel yang memiliki berat molekul sama akan terakumulasi di titik yang sama, sehingga membentuk beberapa pita dengan panjang berbeda yang terpisah berdasarkan berat molekulnya (Laemmli, 1970).

Bobot molekul katalase dari tanaman antara lain, tanaman labu siam 52,5 kDa (Takio dkk., 2021), tanaman chard 58,5 kDa (Dhvcer dan Aydemir, 2001), dan juga ditemukan pada daun cabai 59 kDa (Katiyar dan Kumar, 2020)

pH Optimum

Menurut penelitian yang sebelumnya pernah dilakukan, pH optimum diuji dengan perlakuan larutan dapar yaitu dengan cara digunakan pada rentang pH yang berbeda-beda. Katalase yang diisolasi dari berbagai jenis tanaman memiliki pH optimum yang berbeda. Katalase yang diisolasi dari tanaman kubis memiliki pH optimum 7,5 (Linn dkk., n.d.), pada tanaman yang diisolasi dari Chard memiliki pH optimum 6,0-8,0 (Dhvcer dan Aydemir, 2001), sedangkan tanaman cabai memiliki pH 7,2 (Katiyar dan Kumar, 2020) dan tanaman labu siam (Takio dkk., 2021) memiliki pH 7,2.

Suhu Optimum

Suhu Optimum menunjukan kestabilan aktivitas enzim dan tingkat inaktivasi yang mengarah kepada kurva maksimum. Suhu optimum pada enzim dapat bervariasi hal ini terjadi tergantung pada zat penstabil, pH , dan lain-lain (Punekar, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, katalase memiliki suhu optimum yang berbeda-beda tergantung dari jenis tanaman yang memproduksi enzim tersebut. Hasil isolasi dari tanaman Kubis memiliki suhu optimum 35°C (Linn dkk., n.d.), hasil dari isolasi tanaman Cabai memiliki suhu optimum suhu 30°C (Katiyar dan Kumar, 2020), hasil isolasi dari tanaman Chard memiliki suhu optimum 30°C (Dhvcer dan Aydemir, 2001), pada suhu 24°C adalah suhu optimum hasil isolasi dari tanaman Labu Siam (Takio dkk., 2021),dan hasil isolasi dari tanaman Vigna Mungo memiliki suhu optimum 40°C dan 70°C (Kandukuri dkk., 2012).

II.8 Uji Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim adalah salah satu parameter tetap yang harus dikontrol selama purifikasi agar diperoleh informasi tentang aktivitas spesifik enzim supaya peningkatan kemurnian pada setiap tahap dapat diketahui.Uji aktivitas enzim dilakukan secara kualitatif .