

**PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE
(SOD) DARI AIR HUTAN MANGROVE MARON
EDUPARK SEMARANG**



Oleh :

**Diyah Saptarini
21154526A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIABUDI
SURAKARTA
2019**

**PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE
(SOD) DARI AIR HUTAN MANGROVE MARON
EDUPARK SEMARANG**

SKRIPSI



*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi SI-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Diyah Saptarini
21154526A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

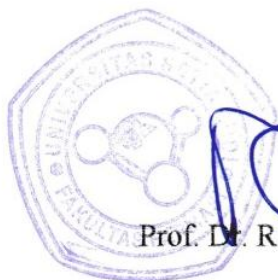
**PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA
DISMUTASE (SOD) DARI AIR HUTAN MANGROVE
MARON EDUPARK SEMARANG**

Oleh :

Diyah Saptarini
21154558A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 18 Juli 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.

Penguji :

1. Drs. Mardiyono, M.Si.
2. Reslely Harjanti, S. Farm., M.Sc., Apt.
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya hingga terselesaikan skripsi ini, kupersembahkan untuk :

- ❖ Allah SWT yang telah memberi anugrah di hidupku dan senantiasa mencurahkan nikmat serta hidayah-Nya.
- ❖ Rasulullah SAW semoga shalawat dan salam selalu tercurah kepada Beliau Nabi Muhammad SAW, keluarga serta sahabat.
- ❖ Ibu dan Bapak tercinta yang telah memberikan semuanya baik materil maupun immateril, doa, kasih sayang, cinta, pengorbanan, dukungan, serta kebahagiaan. Semoga Allah selalu melimpahkan berjuta kenikmatan yang tiada henti kepada Ibu dan Bapak.
- ❖ Kakak tercinta yang sudah menjadi pendukung dan penyemangat selama ini.
- ❖ Dosen-dosen Universitas Setia Budi yang selalu memberi ilmu yang diajarkan kepada saya dengan ikhlas.
- ❖ Untuk Iqbal yang selalu ada untuk mencurahkan isi hati dan kekesalan, menemani saat senang atau susah serta selalu mendukungku untuk menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu.
- ❖ Untuk Lestari wulandari yang merupakan teman satu tim penelitian di Hutan Mangrove, suka-duka kita jalani bersama dan selalu sabar menjalani asam, manis, kecutnya kehidupan praktikum, revisian.
- ❖ Teman-teman seperjuanganku Bu Endang, Mbak Anita, Mbak Ajeng, Rachel, Dela, Rangga yang sudah sangat banyak membantu, serta semua teman dekat yang selalu memberikan dukungan setiap saat yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
- ❖ Seluruh teman-teman KKN Kelompok 2 yang tidak dapat saya sebutkan, terima kasih atas kebersamaan dan solidaritasnya selama masa KKN.
- ❖ Pak Ely dan Bu Yuni yang telah mendukung dan menerima saya bekerja di Apotek Kaliyoso.
- ❖ Seluruh Laboran yang sudah membantu dalam mengerjakan praktikum mikrobiologi.
- ❖ Bapak Yuli selaku Laboran yang telah membantu dalam melakukan uji aktivitas SOD dan Bapak Kusnandar yang telah membantu dalam melakukan PCR.
- ❖ Almamater Universitas Setia Budi tercinta.

MOTTO

“Tiada doa yang lebih indah selain doa agar skripsi ini cepat selesai”

“Ku olah kata, ku baca makna, kuikat dalam alinea, ku bingkai dalam bab sejumlah lima, jadilah mahakarya yang membuat bangga, gelar sarjana kuterima, orangtua dan saudara pun bahagia”

“Berangkat dengan penuh keyakinan. Berjalan dengan penuh keikhlasan. Istiqomah dalam menghadapi cobaan. YAKIN, IKHLAS, ISTIQOMAH”

*“Man Jadda Wa Jadda, Barang siapa yang bersungguh-sungguh akan mendapatkannya – **Pepatah Arab**”*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 23 Juli 2019



Diyah Saptarini

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas segala rahmat dan berkatNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Syukur kepada Tuhan, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DARI AIR HUTAN MANGROVE MARON EDUPARK SEMARANG”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi.

Penyusunan Skripsi ini tidak bisa lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
5. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
8. Orang tuaku tercinta, kakakku, semua saudara, keluarga dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan Skripsi ini. Penulis menyadari ada kekurangan, oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta, 23 Juli 2019

Diyah Saptarini

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Hutan Mangrove	4
1. Definisi Hutan Mangrove	4
2. Air Hutan Mangrove	4
3. Ekosistem Hutan Mangrove.....	5
4. Jenis Bakteri.....	6
B. Bakteri	7
1. Definisi	7
2. Identifikasi Bakteri	7
3. Bakteri Penghasil SOD.....	8
4. Uji Aktivitas SOD	9
C. Antioksidan.....	9
1. Antioksidan Enzimatis.....	10
2. Antioksidan Non-Enzimatis.....	10

D.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	10
E.	Superoksida Dismutase	11
F.	Isolasi Enzim	12
1.	Pemurnian Protein	13
1.1	Isolasi Protein Intraseluler.	13
1.2	Isolasi Protein Ekstraseluler.....	13
G.	Identifikasi Molekuler Bakteri dengan PCR 16S rDNA	14
H.	Identifikasi Bakteri dengan Aplikasi Uniprot.....	14
I.	Peran Superoksida Dismutase dalam Bidang Farmasi.....	15
J.	Landasan Teori.....	16
K.	Hipotesis	18
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN		19
A.	Populasi dan Sampel	19
B.	Variabel Penelitian	19
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	19
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	19
3.	Definisi Operasional Variabel Utama	20
C.	Bahan dan Alat.....	20
1.	Bahan.....	20
1.1.	Bahan Utama.	20
1.2.	Bahan Kimia.....	20
1.3.	Media.	20
2.	Alat	20
D.	Jalannya Penelitian.....	21
1.	Sterilisasi.....	21
2.	Teknik Pengambilan Sampel Air dari Hutan Mangrove	21
3.	Pembuatan Media Nutrient Agar	21
4.	Pembuatan Media BHI	22
5.	Isolasi Bakteri dari Air Hutan Mangrove	22
6.	Isolasi Enzim dari Bakteri	22
7.	Ekstraksi Enzim SOD dari Bakteri.....	22
8.	Uji Aktivitas Enzim SOD Pada Bakteri Asal Air Hutan Mangrove.....	23
9.	Identifikasi Bakteri dari Air Hutan Mangrove.....	24
9.1	Identifikasi secara Makroskopis.....	24
9.2	Identifikasi secara Mikroskopis.	24
10.	Identifikasi Bakteri dengan PCR 16S rDNA	25
E.	Skema penelitian.....	26
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		27
1.	Pengambilan Sampel Air Hutan Mangrove	27
1.1	Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Sampel Air Hutan Mangrove.	27
2.	Uji Aktivitas Superoksida Dismutase Isolat Bakteri Air Hutan Mangrove.....	28

3.	Hasil Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram	30
4.	Hasil Identifikasi Molekuler Bakteri dengan PCR 16S rDNA	31
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	36
A.	Kesimpulan	36
B.	Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema penelitian	26
Gambar 2. Hasil Penentuan Daerah Tumpang Tindih Isolat Bakteri AHM4	32
Gambar 3. Daerah Tumpang Tindih	32
Gambar 5. Data Sekuensing 16S rDNA Isolat AHM4	33
Gambar 6. Pohon Filogenetik.....	34
Gambar 7. Hasil Identifikasi dengan Uniprot	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Kit WST-1	23
Tabel 2. Hasil Identifikasi Bakteri.....	27
Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas SOD Bakteri Air Hutan Mangrove	28
Tabel 4. Penentuan Polaritas Rantai Sense / Antisense	32
Tabel 5. Analisis Parameter Blast.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sampel Air Hutan Mangrove.....	42
Lampiran 2. Hasil Isolasi Bakteri	42
Lampiran 3. Foto Hasil Identifikasi Bakteri secara Makroskopis	43
Lampiran 4. Isolat AHM4 yang Dikirim ke Macrogen	44
Lampiran 5. Foto Identifikasi dengan Pewarnaan Gram	44
Lampiran 6. Hasil Identifikasi Molekuler dengan PCR 16S rDNA	45
Lampiran 7. Hasil Identifikasi Bakteri Penghasil SOD dengan Uji Sekuensing 16S rDNA	46
Lampiran 8. Sampel AHM4 dengan Forward	46
Lampiran 9. Sampel AHM4 dengan Reverse.....	48
Lampiran 10. Tanda Bukti Uji Aktivitas Superoksida Dismutase	50
Lampiran 11. Hasil Uji Aktivitas Superoksida Dismutase	51
Lampiran 12. Alat Praktikum.....	52
Lampiran 13. Perhitungan Persentase SOD	56
Lampiran 14. Komposisi dan Pembuatan Media.....	57
Lampiran 15. Informasi PCR 16S rDNA dari Macrogen	58

INTISARI

SAPTARINI, D., 2019 PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DARI AIR HUTAN MANGROVE MARON EDUPARK SEMARANG, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI

Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan yang dihasilkan tubuh. Berperan menghambat reaktivitas radikal bebas yang merusak struktur dan fungsi sel. Enzim SOD dapat diperoleh dari mikroba berasal dari air hutan mangrove. Ekosistem mangrove merupakan sumber berbagai mikroba yang mampu menghasilkan enzim dan molekul yang bermanfaat. Penelitian ini bertujuan mengetahui bakteri yang menghasilkan enzim SOD dan mengetahui jenis spesies penghasil SOD tertinggi.

Pemilihan 5 isolat bakteri dengan karakteristik berbeda secara makroskopis dilakukan sebelum uji aktivitas SOD. Pengukuran aktivitas menggunakan *assay kit* WST-1. Prinsip mengetahui kemampuan SOD mengkatalisis dismutase dari anion superoksida menjadi molekul hidrogen peroksida dan oksigen. Aktivitas SOD diketahui dari nilai persentase SOD. Isolat bakteri yang memiliki aktivitas SOD tertinggi dilakukan pewarnaan Gram dan PCR 16S rDNA.

Hasil uji aktivitas SOD yaitu isolat AHM5 (45,10%), AHM2 (49,02%), AHM1 (56,86%), AHM3 (66,67%), dan AHM4 (80,39%). Isolat bakteri AHM4 dilakukan identifikasi pewarnaan Gram dan PCR 16S rDNA. Hasil identifikasi dengan pewarnaan Gram isolat AHM4 merupakan bakteri Gram positif. Hasil penentuan urutan nukleotida isolat bakteri AHM4 didapatkan identitas yakni *Bacillus cereus* dengan homologi 99%. Berdasarkan pencarian laman Uniprot *Bacillus cereus* diketahui terdaftar sebagai penghasil protein SOD.

Kata Kunci : Aktivitas SOD, *Bacillus cereus*, Hutan Mangrove, Superoksida Dismutase

ABSTRACT

SAPTARINI, D., 2019 SCREENING OF SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) PRODUCING BACTERIA FROM FOREST WATER MANGROVE MARON EDUPARK SEMARANG, ESSAY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Superoxide dismutase (SOD) is one of the body's produced antioxidant enzymes. The role of inhibiting free radical reactivity that damages the structure and function of cells. SOD enzymes can be obtained from microbes derived from mangrove forest water. The mangrove ecosystem is a source of various microbes capable of producing useful enzymes and molecules. This research aims to find out which bacteria produce SOD enzymes and know the highest type of SOD producing species.

The selection of 5 isolates of bacteria with different characteristics macroscopic performed before the test of SOD activity. Measuring activity using an assay kit WST-1. The principle of knowing SOD's ability catalyzes the dismutase of the superoxide anions into hydrogen peroxide and oxygen molecules. SOD's activity is known from the percentage value SOD. The isolates of bacteria that have the highest SOD activity performed Gram and PCR 16S rDNA coloration.

The results of SOD activity test are isolates AHM5 (45.10%), AHM2 (49.02%), AHM1 (56.86%), AHM3 (66.67%), and AHM4 (80.39%). Bacterial isolates AHM4 carried out identification of Gram staining and PCR 16S rDNA. The result of identification by coloration of Gram isolates AHM4 is Gram-positive bacteria. The result of determining the order of nucleotide isolates of bacteria AHM4 obtained the identity of *Bacillus Cereus* with a homology of 99%. Based on the search for the Uniprot site *Bacillus Cereus* is known to be registered as a protein producer SOD.

Keywords: SOD activity, *Bacillus Cereus*, Mangrove Forest, superoxide Dismutase

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia sebagai salah satu Negara tropis yang memiliki kekayaan hutan mangrove yang sangat luas. Hutan mangrove memiliki berbagai macam kekayaan. Kekayaan hutan mangrove adalah kekayaan flora, fauna, dan kekayaan mikrobiologi yang digunakan dalam bidang bioteknologi yang saat ini mulai dikembangkan. Penelitian tentang potensi mikrobiologi mangrove dan pemanfaatan dalam bidang mikrobiologi belum banyak dilakukan. Mangrove memiliki peranan ekologis sebagai daerah pembibitan dan habitat dari berbagai macam jenis ikan, udang, kepiting, kerang, dan memiliki keanekaragaman dalam mikrobiologi bakteri (Sulistyowati, 2009).

Kawasan mangrove Maron Edupark Semarang memiliki beberapa jenis tumbuhan mangrove tetapi yang paling dominan yaitu Rizhophora. Kondisi kualitas perairan di Maroon Edupark Semarang adalah suhu dengan nilai rata-rata yaitu 33- 34 °C, nilai pH dengan nilai rata-rata 6, salinitas air berkisar antara 25 – 26 0/00, kandungan Nitrat berkisar antar 0,8 – 1,6 mg/L dan kandungan Fosfat berkisar antara 0,034 – 0,051 mg/L. Ciri-ciri tersebut menunjukkan bahwa mikroorganisme yang tumbuh dalam air hutan mangrove memiliki keunikan dengan keadaan lingkungan suhu yang ekstrim dengan adanya pasang surut dan merupakan pertemuan antara air sungai dan air laut. (Sinaga, 2017).

Menurut Das *et al* (2006) terdapat berbagai macam jenis bakteri yang dapat diisolasi dari ekosistem mangrove yang menghasilkan variasi aktivitas yang beraneka ragam. Aktivitas bakteri yang berasal dari mangrove berupa bakteri fotosintesis, bakteri pendaur ulang nitrogen, metanogenesis, agarolisis, dan bakteri penghasil enzim. Enzim yang dapat diisolasi dari mangrove diantaranya adalah enzim superoksida dismutase. Salah satu bakteri yang bermanfaat dalam bidang bioteknologi adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim superoksida dismutase.

Enzim superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan enzimatik yang dihasilkan oleh tubuh sebagai pertahanan primer dalam mengatasi stres oksidatif yang mengakibatkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Superoksida dismutase (SOD) telah diteliti dan diketahui terdapat dalam beberapa organisme hidup, termasuk pada beberapa jenis bakteri dan jamur. Isolasi enzim superoksida dismutase pada mikroorganisme tersebut sekarang mulai dikembangkan dalam dunia kesehatan. Lingkungan sekitar yang memiliki keanekaragaman mikroorganisme yang stabil bisa terdapat dalam lingkungan hutan mangrove (Winarsi, 2007).

Penelitian Pitayu (2007) tentang penapisan aktivitas SOD terhadap 14 bakteri laut dan tanah yang diisolasi dari Indonesia yang belum diidentifikasi. Bakteri yang sudah diketahui sebagai penghasil enzim superoksida dismutase yaitu *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella boydii* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan pada pengujian sebelumnya, dilakukan penelitian tentang penapisan bakteri penghasil superoksida dismutase (SOD) dari air hutan mangrove yang diambil di Hutan Mangrove Maron Edupark, Semarang, Jawa Tengah yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif untuk isolasi bakteri, uji aktivitas, identifikasi molekuler 16S rDNA dan pencegahan suatu penyakit dan dapat dikembangkan dalam kosmetik.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini sebagai berikut:

Pertama, apakah terdapat isolat bakteri penghasil enzim SOD dari air hutan mangrove Maron Edupark Semarang ?

Kedua, isolat bakteri apa yang menghasilkan aktivitas enzim SOD tertinggi?

Ketiga, apakah nama spesies isolat bakteri yang menghasilkan enzim SOD tertinggi?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui apakah terdapat isolat bakteri dari sampel air hutan mangrove Maron Edupark Semarang yang menghasilkan enzim SOD.

Kedua, untuk mengetahui isolat bakteri yang menghasilkan aktivitas enzim SOD.

Ketiga, untuk mengetahui nama spesies isolat bakteri yang menghasilkan aktivitas enzim SOD tertinggi.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi tentang isolasi dan identifikasi bakteri dari air hutan mangrove Maron Edupark, Semarang, Jawa Tengah yang terdapat bakteri yang menghasilkan SOD dan mengetahui aktivitas SOD paling tinggi dari isolat bakteri yang di dapatkan.