

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



Oleh :

**Lestari Wulandari
21154558A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

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

SKRIPSI



Oleh :

**Lestari Wulandari
21154558A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

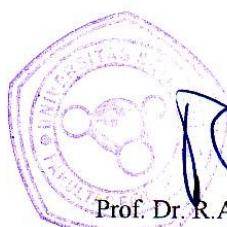
PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

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

Oleh :

Lestari Wulandari
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. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

1.....
2.....
3.....
4.....

PERSEMBAHAN



Dengan penuh syukur, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, terima kasih atas segala nikmat, kesabaran, dan keikhlasan yang telah engkau berikan.
2. Bapak, ibu, kakak dan semua kelurgaku yang selalu mendoakan dan memberikan semangat.
3. Diyah Saptarini sebagai tim penelitian saya yang telah membantu, memotivasi dan memberi semangat.
4. Sari Wulan, Muhammad Sa'id Nugroho, Ajeng Windi, Rahmida Fadhlia, Bu Endang, Nurul Triharyanti, Rahmatul A Agustia, Adinda DRW, Dela D, Padu sebagai sahabat yang telah banyak berperan dalam membantu, memotivasi dan memberi semangat serta doa.
5. Teman-teman dan dosen yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah membantu atas kelancaran skripsi saya.

MOTTO

“Barang siapa yang berjihad, maka sesungguhnya jihadnya itu adalah untuk dirinya sendiri. Sesungguhnya Allah benar-benar Maha Kaya (tidak memerlukan sesuatu) dari semesta alam (QS. Al-Ankabut : 6)”

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan(QS. Asy- Syarh 5-6) ! ”

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapatkan pahala dari kebijakan yang dikerjakannya dan dia mendapatkan siksa dari kejahatan yang diperbuatnya. (QS. Al-Baqarah : 286)”

“ La tahzan Innallaha ma’ana : Don’t be sad. Allah is with Us
(QS. At-Taubah : 40)

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

“ Man Shabara Zhafira, Barang siapa yang bersabar akan beruntung – **Pepatah Arab**”

“Jika kamu tak sanggup menahan lelahnya belajar maka kamu harus sanggup menahan perihnya kebodohan – Imam Syafi’i Rahimahullah”

“ Takkan ada kesuksesan tanpa disertai dengan doa dan usaha. Ibuku selalu mengatakan padaku tunaikanlah kewajibanmu kepada Allah, Maka segala kehidupanmu akan dibenahi oleh-Nya, tanpa harus kau benahi sendiri ”

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 yang 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, juli 2019



Lestari Wulandari

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya yang begitu besar yang selalu menyertai penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DARI TANAH HUTAN MANGROVE MARON EDUPARK SEMARANG”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini terdapat hal-hal yang kurang sempurna, sehubungan dengan keterbatasan penulis. Walaupun demikian, penulis telah berusaha semaksimal mungkin agar isi dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Penulis juga menyadari skripsi ini dapat terselesaikan tentu tidak terlepas dari bimbingan, pengarahan, saran, dan bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. D. Andang Arif Wibawa, S.P.,M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.

7. Teman kos pink serta Muhammad Sa'id Nugroho, Bu Endang, Lia, Ajeng, Ulan, Tia, Indra, Adam, Habib, Dewi, Dethi, Wawan yang selalu mendukung dan memberikan semangat kepada saya.
8. Teman satu tim Diyah Saptarini yang telah bersama-sama menyelesaikan penelitian.
9. Semua pihak yang yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat peneliti sebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan memberikan limpahan berkat kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kekurangan serta kesalahan yang tidak disadari penulis. Penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca, demi perbaikan penulisan selanjutnya dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kefarmasian.

Lestari Wulandari

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBERAHAN.....	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	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Hutan Mangrove	4
1. Defini.....	4
2. Ekosistem hutan mangrove.....	4
3. Tanah hutan mangrove	6
4. Jenis mikroba hutan mangrove	7
5. Enzim dari bakteri hutan mangrove	7
B. Bakteri	8
1. Definisi	8
2. Bakteri penghasil SOD.....	9
3. Identifikasi bakteri	9
3.1 Pemeriksaan mikroskopis.....	9
3.2 Pembibitan bakteri.....	9
C. Antioksidan.....	10

1.	Definisi	10
2.	Jenis antioksidan	10
2.1	Antioksidan enzimatis	10
2.2	Antioksidan non-enzimatis.....	11
D.	Superokksida Dismutase (SOD)	11
1.	Klasifikasi SOD	11
1.1	Cu-Zn SOD (<i>Copper Zink Superoxide Dismutase</i>)....	11
1.2	Mn SOD (<i>Manganase Superoxide Dismtase</i>).	12
1.3	Fe SOD (<i>Iron Superoxide Dismutase</i>).	12
2.	Peran SOD dibidang farmasi	12
E.	Isolasi Protein	13
F.	Media.....	13
1.	Media umum.....	14
2.	Media pengaya.....	14
3.	Media diferensial	14
G.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	14
H.	Uji Aktivitas SOD	15
I.	Identifikasi molekuler bakteri dengan PCR 16S rDNA	16
J.	Landasan Teori.....	17
K.	Hipotesis	19
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN	21
A.	Populasi dan Sampel	20
1.	Populasi	20
2.	Sampel.....	20
B.	Variabel Penelitian	20
1.	Identifikasi variabel utama	20
2.	Klasifikasi variabel utama	20
3.	Definisi operasional variabel utama.....	21
C.	Alat dan Bahan.....	21
1.	Alat	21
2.	Bahan.....	21
1.1	Bahan utama.	21
1.2	Bahan kimia.....	22
1.3	Media.....	22
D.	Jalannya Penelitian.....	22
1.	Sterilisasi	22
2.	Teknik sampling tanah hutan mangrove	22
3.	Pembuatan media nutrient agar	22
4.	Isolasi bakteri dari tanah hutan mangrove.....	22
5.	Isolasi SOD dari bakteri.....	23
6.	Identifikasi bakteri tanah hutan mangrove	23
6.1	Identifikasi secara makroskopis.....	23
6.2	Identifikasi secara mikroskopis.	23
7.	Uji aktivitas enzimSOD pada bakteri tanah hutan mangrove dengan WST-1	24

8. Identifikasi bakteri dengan PCR 16S rDNA	25
E. Skema Penelitian.....	26
F. Skema Teknik Sampling Tanah Hutan Mangrove.....	27
G. Skema Isolasi Bakteri.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
1. Pengambilan sampel tanah hutan mangrove	28
2. Isolasi dan identifikasi bakteri tanah hutan mangrove	28
3. Uji aktivitas bakteri tanah hutan mangrove	29
4. Hasil identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram	31
5. Identifikasi molekuler bakteri dengan PCR 16S rDNA	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
A. Kesimpulan.....	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Skema penelitian	26
Gambar 2. Skema teknik sampling dari tanah hutan mangrove	27
Gambar 3. Skema isolasi bakteri dari tanah hutan mangrove	27
Gambar 4. Hasil penentuan tumpang tindih.....	33
Gambar 5. Hasil penentuan daerah tumpang tindih (bagian yang diblok biru)	33
Gambar 6. Urutan basa nukleutida 16S rDNA isolat THM1	36
Gambar 7. Pohon filogenetik.....	36
Gambar 8. Hasil identifikasi dengan aplikasi UniProt.....	38

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri penghasil superoksida dismutase secara makroskopis dari tanah hutan mangrove.....	28
Tabel 2. Persen aktivitas SOD	30
Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri penghasil SOD dengan pewarnaan Gram dari bakteri tanah hutan mangrove	31
Tabel 4. Ukuran gen THM1	32
Tabel 5. Penentuan polaritas rantai sense / antisense	34
Tabel 6. Analisis parameter Blast	34
Tabel 7. Informasi identitas bakteri	35

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Sampel tanah hutan mangrove maron edupark semarang	46
Lampiran 2.	Suspensi.....	46
Lampiran 3.	Hasil isolasi bakteri.....	46
Lampiran 4.	Hasil identifikasi bakteri.....	47
Lampiran 5.	Isolat bakteri yang dikirim ke macrogen.....	48
Lampiran 6.	Hasil identifikasi molekuler dengan 16S rDNA	48
Lampiran 7.	Karakteristik bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	49
Lampiran 8.	Bakteri yang memiliki sekuen homolog dengan sequen nukleutida 16S rDNA isolat THM1	49
Lampiran 9.	Sampel THM1 dengan primer forward	50
Lampiran 10.	Sampel THM1 dengan primer reverse	51
Lampiran 11.	Hasil uji aktivitas SOD di Universitas Gadjah Mada.....	52
Lampiran 12.	Hasil persen inhibisi SOD	53
Lampiran 13.	Hasil absorbansi uji aktivitas SOD	54
Lampiran 14.	Contoh prosedur sekuensing dari macrogen.....	55
Lampiran 15.	Alat yang digunakan untuk praktikum	56
Lampiran 16.	Perhitungan persen SOD	61
Lampiran 17.	Komposisi dan pembuatan media	62

INTISARI

WULANDARI, L., 2019, PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) DARI TANAH HUTAN MANGROVE MARON EDUPARK SEMARANG. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Enzim Superoxida Dismutase (SOD) dikenal sebagai antioksidan yang mampu meminimalisir kerusakan jaringan akibat radikal bebas. SOD dapat dihasilkan dari bakteri pada tanah hutan mangrove. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengetahui isolat yang menghasilkan aktivitas SOD, serta mengukur aktivitas SOD tertinggi dan identifikasi isolat bahwa penghasil SOD tertinggi.

Sampel yang digunakan yaitu 5 isolat bakteri yang telah dipilih berdasarkan karakter yang berbeda secara makroskopis. Kelima isolat bakteri diuji aktivitas antioksidan dengan SOD assay kit WST-1 dan menghasilkan nilai persentase inhibisi reduksi. Aktivitas SOD tertinggi ditunjukkan dengan persentase inhibisi yang besar, selanjutnya dilakukan identifikasi.

Hasil persen inhibisi menunjukkan semua isolat bakteri memiliki aktivitas SOD dimana aktivitas SOD tertinggi yaitu THM1 dengan nilai persen inhibisi 74,51%. Sampel THM1 diuji secara konvensional dengan hasil Gram positif . Uji molekuler dengan PCR 16S rDNA menunjukkan identitas isolat THM1 yakni *Bacillus altitudinis* dengan homologi 99%. Berdasarkan pencarian dengan program UniProt terbukti terdaftar SOD jenis Cu-Zn SOD.

Kata kunci: radikal bebas, bakteri, mangrove, SOD

ABSTRACT

WULANDARI, L., 2019, SCREENING BACTERIA PRODUCING ENZYME SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) MANGROVE FOREST LAND OF MARON EDUPARK SEMARANG. ESSAY, FACULTY OF PHARMACY OF UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.

Superoxida Dismutase (SOD) enzyme is known as an antioxidant that can minimize tissue damage due to free radicals. SOD can be produced from bacteria on mangrove forest land. This study aims to isolate and find out the isolates that produce SOD activity, and measure the highest SOD activity and identify the isolates that are the highest SOD producers.

The samples used were 5 isolates that have been based on a different character macroscopically. Fifth bacterial isolates tested SOD activity with the WST-1 assay kit and produce a percentage inhibition value reduction. The highest SOD activity was shown with a large percentage of inhibition, then identified.

The percent inhibition results showed that all bacterial isolates had SOD activity where the highest SOD activity was THM1 with an inhibitory percent value of 74.51%. THM1 samples were tested conventionally with Gram positive results. Molecular test with PCR 16S rDNA showed the identity of THM1 isolates namely *Bacillus altitudinis* with 99% homology. Based on the search with the UniProt program it was proven that Cu-Zn SOD type SOD was registered.

Keywords: free radicals, bacteria, mangrove, SOD

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati flora dan fauna yang mengundang perhatian dan kekaguman berbagai pihak baik didalam maupun di luar negeri. Kekayaan hayati terbesar banyak ditemukan di hutan-hutan di daerah tropis. Hutan mangrove adalah salah satu jenis tumbuhan yang tumbuh di sepanjang garis pantai tropis. Mangrove memiliki fungsi istimewa di suatu lingkungan yang mengandung garam dan bentuk lahan berupa pantai (Tjandra & Yosua, 2011).

Hutan mangrove berfungsi sebagai batas ekosistem darat dan laut dan salah satu tempat perkembangbiakan untuk berbagai kelompok mikroorganisme seperti bakteri. Keberadaan bakteri penting karena mempengaruhi sifat fisika, kimiawi, dan biologis tanah tersebut, misalnya dalam proses pembusukan yang sebagian besar disebabkan oleh aktivitas bakteri. Keberadaan bakteri-bakteri ini dapat ditemukan di sekitar perakaran (bakteri rizosfer) (islamiah *et al.*, 2017).

Sebaran hutan mangrove di Jawa Tengah salah satunya adalah hutan mangrove Maron Edupark Semarang. Maron Mangrove Edu Park atau yang lebih dikenal dengan sebutan MMEP. MMEP merupakan salah satu contoh destinasi wisata alam mangrove yang terdapat di Tlogorejo, kota Semarang, Jawa Tengah. MMEP dikembangkan dan dikelola secara resmi pada tahun 2016 dalam pengawasan PT. Phaphros, Tbk. (RNI Group) yang merupakan sebuah perusahaan bidang farmasi dan telah melakukan penanaman sekitar 15.000 bibit mangrove dari genus Rhizophora. MMEP yang terletak di Pantai Maron dan ujung run way Bandara Ahmad Yani Semarang menjadikan kawasan ini memiliki daya tarik wisata tersendiri (Tarigan *et al.*, 2017).

Secara geografis hutan mangrove Maron Edupark terletak di $6^{\circ}57'30.03''$ LS dan $110^{\circ}21'38.65''$ LU dengan suhu udara kawasan ini berkisar antara 30°C - 37°C serta ketinggian antara 0-15 m diatas permukaan laut. Kondisi kualitas perairan di MMEP adalah suhu dengan nilai rata-rata yaitu $33\text{-}34^{\circ}\text{C}$,

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. Kelembaban tanah hutan mangrove sangat basah dan sebagian titik lokasi tanahnya berlumpur. Kondisi tanah yang lembab dan basah ini adalah salah satu ciri dari habitat tanaman mangrove. Tanah mangrove yang berlumpur ini menimbulkan serasah, sehingga serasah akan mengalami dekomposisi oleh berbagai jasad renik (Diana, 2018). Kondisi dari hutan mangrove tersebut menunjukkan bahwa mikroorganisme yang terdapat pada tanah hutan mangrove memiliki keunikan dengan keadaan lingkungan salinitas yang tinggi (Sinaga, 2017).

Ekosistem mangrove merupakan sumber berbagai bakteri yang mampu menghasilkan enzim dan molekul-molekul yang bermanfaat bagi kehidupan manusia (subagiyo, 2017). Diketahui beberapa bakteri fotosintesis memainkan peranan dalam ekosistem mangrove melalui proses fotosintesis, fiksasi nitrogen, metanogenesis, produksi enzim dan penghasil antibiotik. Enzim yang dapat diisolasi dari hutan mangrove salah satunya superoksid dismutase (Yahya *et al.*, 2014).

Superoksid dismutase merupakan enzim antioksidan terbanyak di dalam tubuh, yang sebagian besar terletak di organ hati. Enzim ini termasuk dalam golongan metaloenzim (Siburian, 2011). SOD berperanan penting dalam melindungi sel terhadap gangguan oksidasi yang dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit dan proses degenerasi seperti penuaan dan karsinogenesis (Tutik *et al.*, 2004). SOD mempunyai banyak manfaat selain dibidang kosmetik sebagai antifotoaging juga untuk pengobatan pada beberapa penyakit seperti, penyakit parkinson, alzheimer, demam berdarah dan beberapa gangguan neurologis (Noor *et al.*, 2002).

Menurut penelitian yang dilakukan Pitayu (2007) tentang penapisan aktivitas SOD terhadap 14 bakteri laut dan tanah, didapat bakteri – bakteri yang memiliki aktivitas SOD tinggi. Aktivitas diketahui melalui nilai persen inhibisi reduksi, yakni perbandingan absorbansi sampel yang mengandung ekstrak protein dan absorbansi pembanding yang mengandung NBT. Dari hasil penentuan urutan

nukleotida diketahui empat bakteri sebagai penghasil enzim superokksida dismutase yakni *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella boydii* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik melakukan penapisan terhadap isolat bakteri sebagai penghasil SOD dari tanah yang diambil dari hutan mangrove Maron Edupark Semarang yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan dan pencegahan suatu penyakit.

B. Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, apakah terdapat isolat bakteri penghasil enzim SOD dari tanah 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

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

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

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

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah penerapan SOD dibidang farmasi dan memberikan informasi tentang sumber obat dari bakteri tanah hutan mangrove Maron Edupark Semarang Jawa Tengah yang mempunyai aktivitas SOD