

**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE WATER
SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1)**



Diajukan oleh :

**Fitriana Novita Sari
25195911A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE WATER
SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1)**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Fitriana Novita Sari
25195078A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :
**UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK
DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE
WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1(WST-1)**

Oleh:
Fitriana Novita Sari
25195911A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi Fakultas
Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 11 Januari 2023

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Ref. Dr. apt. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Penguji :

1. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si.
2. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.Si., Ph.D
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si..
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping

apt. Dra. Pudiastuti RSP, M. M.

1.....

3.....

4.....

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

Surakarta, 27 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Fitriana Novita Sari', written over a horizontal line.

Fitriana Novita Sari

PERSEMBAHAN



“SKRIPSI YANG BAIK ADALAH SKRIPSI YANG SELESAI”

Kupersembahkan skripsi ini untuk semua orang yang kusayangi terimakasih atas doa, bantuan dan motivasi yang telah diberikan kepada saya:

Kepada Allah SWT terima kasih atas segala nikmat, kesehatan, kebarokahan, dan keikhlasan yang telah engkau berikan.

Kepada Ibu (Sri Hartini, S.P) dan Bapak (Samino) Tercinta sebagai tanda bukti bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan tugas akhir ini kepada Ibu dan Bapak yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dalam kata persembahan. Semoga ini menjadi Langkah awal untuk membuat Ibu dan Bapak Bahagia karna kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih. Untuk Ibu dan Bapak yang selalu membuatku termotivasi dan selalu memberikan kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku menjadi orang yang lebih baik lagi.

Kepada Dr. Ana Indrayati, M.Si dan apt. Dra. Pudiastuti RSP, MM, selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan pengarahan, masukan, dan motivasi sehingga tercapai skripsi ini. Ucapan terimakasih yang tak terhingga atas ilmu yang telah diberikan sangatlah bermanfaat bagi saya.

Kepada lovely “Syaiful Islam” aku persembahkan karya ini buatmu. Terima kasih atas kasih sayang, perhatian, dan kesabaranmu yang telah menunggu serta memberikanku semangat dan motivasi dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini, semoga engkau pilihan yang terbaik buatku di masa depan. Buat kamu semangat terus untuk berjuang.

Kepada sahabat-sahabat saya Annita Fitri Wulandari, Annisa Rahmawati, Alfina Damayanti, Dewi Istikawati terimakasih atas saran, masukan, dukungan, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan penuh kesabaran. Terima kasih telah menyediakan pundak untuk menangis dan memberi bantuan saat aku membutuhkannya.

Kepada Mitha Oktavia Mandasari sebagai tim peneliti saya yang telah membantu dan memberikan motivasi dalam menyelesaikan Tugas Akhir saya.

Terimakasih buat semuanya

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Puji syukur kehadiran Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “**Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Metode *Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (WST-1)***”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari hambatan dan tantangan, namun berkat kerja keras, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak sehingga dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Dr. Djoni Taringan, MBA. Selaku rector Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. Apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta nasehat dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. apt. Dra. Pudiasuti RSP, MM, selaku pembimbing pendamping yang memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta nasehat dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Segenap karyawan laboratorium yang telah membimbing dan membantu selama proses praktikum skripsi ini.
6. Selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan kritik untuk perbaikan skripsi ini.
7. Dosen dan karyawan serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis
8. Teman-teman S-1 Farmasi angkatan 2019 dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat dan bantuannya dalam proses menyelesaikan skripsi ini.

9. Bapak dan Ibu yang telah memberikan doa, kasih sayang, cinta, semangat, dukungan baik material maupun spiritual.
10. Keluarga besarku yang telah memberikan doa, semangat, dan dukungan selama proses penulisan skripsi.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan kelemahan. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya, pembaca, dan perkembangan ilmu farmasi.

Surakarta, 27 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Fitriana Novita Sari', written in a cursive style.

Fitriana Novita Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	7
1. Klasifikasi Tanaman	7
2. Morfologi	7
3. Kandungan senyawa kimia	8
4. Manfaat tanaman.....	8
B. Antioksidan	8
1. Definisi.....	8
2. Peran antioksidan	9
3. Pembagian antioksidan	10
3.1. Antioksidan alami.....	10
3.2. Antioksidan sintetik.....	11
C. Superoksida Dismutase	12
D. Radikal Bebas	12
E. Metode <i>Water Soluble Tetrazolium Salt-1</i>	14
F. Mekanisme Uji Aktivitas SOD	14
G. Metode Uji Aktivitas SOD.....	15
1. Enzim	15
2. Metode Ekstraksi Enzim	15

2.1.	Ekstraksi Enzim.....	15
2.2.	Filtrasi.....	16
2.3.	Sentrifugasi.....	16
3.	Pemurnian Enzim.....	16
3.1.	Kromatografi Penukar Ion.....	17
3.2.	Filtrasi Gel.....	17
3.3.	Kromatografi Afinitas	17
3.4.	Presipitasi	17
4.	Penetapan Kadar Protein.....	18
4.1.	Metode Kjeldahl.	18
4.2.	Metode <i>Lowry</i>	18
4.3.	Metode Biuret.....	18
4.4.	Metode Bradford	18
5.	Pengujian aktivitas SOD.....	18
5.1.	<i>Water soluble tetrazolium salt-1.</i>	19
5.2.	<i>Nitroblue tetrazolium.</i>	19
5.3.	<i>Micro tetrazolium</i>	19
5.4.	<i>Water soluble tetrazolium salt-1.</i>	19
H.	Landasan Teori.....	19
I.	Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN		22
A.	Populasi dan Sampel	22
1.	Populasi.....	22
2.	Sampel	22
B.	Variabel Penelitian.....	22
1.	Identifikasi variabel utama.....	22
2.	Klasifikasi variabel utama	22
3.	Definisi operasional variabel utama	23
C.	Alat dan Bahan.....	23
1.	Alat.....	23
2.	Bahan	23
D.	Jalannya Penelitian.....	23
1.	Determinasi dan Pengambilan Sampel	23
2.	Ekstraksi Enzim SOD Daun Salam	24
3.	Pemurnian Ekstrak Enzim SOD Daun Salam.....	24
4.	Penetapan Kadar Protein dengan Metode <i>Lowry</i>	24
4.1	Pembuatan reagen <i>Lowry.</i>	24

4.2	Pembuatan larutan induk. Membuat konsentrasi 1000 ppm untuk larutan induk BSA	25
4.3	Penentuan panjang gelombang maksimum.	25
4.4	Penentuan operating time (OT).	25
4.5	Pembuatan pada kurva baku.	25
4.6	Pengukuran pada kadar protein.	25
5.	Uji aktivitas enzim SOD daun salam	26
5.1.	Penyiapan WST	26
5.2.	Penyiapan	26
5.3.	Pembuatan kontrol positif dan negatif.....	26
5.4.	Penyiapan sampel uji.....	26
E.	Analisis Data.....	27
F.	Skema Penelitian.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		32
A.	Determinasi Tanaman	32
B.	Pengambilan Sampel.....	32
C.	Ekstraksi SOD Daun Salam	33
D.	Pemurnian Ekstrak SOD	33
E.	Penetapan Kadar Protein dengan Metode <i>Lowry</i>	36
F.	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak SOD Daun Salam.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		44
A.	Kesimpulan	44
B.	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA.....		45
LAMPIRAN		56

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi larutan sampel, control positif dan negative, serta blanko.....	26
2. Bobot pelet ekstrak kasar enzim dari hasil pemurnian	34
3. Nilai absorbansi konsentrasi larutan induk (BSA) sebagai pembanding.....	36
4. Kadar protein sampel menggunakan metode <i>Lowry</i>	37
5. Nilai absorbansi pada blanko WST-1	40
6. Hasil nilai absorbansi sampel menggunakan WST-1	40
7. Uji aktivitas enzim SOD daun salam.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman salam	7
2. Skema <i>plate</i> 96 <i>well</i> (Qwele <i>et al.</i> , 2013).....	27
3. Alur Penelitian.....	28
4. Skema alur penelitian uji aktivitas SOD ekstrak daun salam	29
5. Skema pemurnian ekstrak SOD.....	30
6. Skema pengukuran kadar protein dengan metode <i>Lowry</i>	30
7. Skema uji aktivitas SOD.....	31
8. Kurva dan persamaan kalibrasi konsentrasi absorbansi BSA	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi daun salam	57
2. Ekstraksi enzim SOD	58
3. Pembuatan larutan PBS pH 7,2	59
4. Penimbangan amonium sulfat	60
5. Foto hasil pelet dan supernatan variasi konsentrasi presipitasi amonium sulfat	61
6. Pembuatan reagen Lowry	62
7. Pembuatan larutan induk	63
8. Hasil panjang gelombang maksimum.....	64
9. Hasil <i>operating time</i>	65
10. Hasil <i>operating time</i>	67
11. Absorbansi kurva baku BSA	69
12. Hasil absorbansi ekstrak kasar enzim SOD daun salam.....	70
13. Perhitungan protein total ekstrak kasar enzim SOD daun salam....	71
14. Hasil SPSS protein total	75
15. Tanda bukti uji aktivitas SOD	77
16. Hasil uji aktivitas SOD	78
17. Perhitungan persen inhibisi daun salam	79
18. Hasil SPSS uji aktivitas SOD	82

DAFTAR SINGKATAN

SOD	Superoksida Dismutase
WST-1	<i>Water Soluble Tetrazolium Salt-1</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
CBB	<i>Coomassie Brilliant Blue</i>
O ₂	Radikal anion superoksida
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene</i>
BHA	<i>Butylated hidroksianisol</i>
tBHQ	<i>tert-Butylhydroquinone</i>
GSH	Glutathione
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i>
CAT	Katalase
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
PG	<i>Propyl gallate</i>
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida

ABSTRAK

FITRIANA NOVITA S., 2022, UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) DENGAN METODE WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1). PROGRAM STUDI S1 FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman yang memiliki aktivitas SOD salah satunya adalah daun salam. Daun salam memiliki aktivitas SOD cukup tinggi sehingga dapat menangkal radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel didalam tubuh manusia menyebabkan beberapa penyakit. Tujuan dilakukannya riset guna mengerti kadar protein total serta pemurnian amonium sulfat serta persenan inhibisi ekstrak kasar enzim superoksida dismutase daun salam dengan konsentrasi amonium sulfat 25, 50, 75% dan nilai persenan inhibisi yang optimum dari konsentrasi amonium sulfat.

Riset ini menggunakan daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang di ekstraksi dengan buffer fosfat dan disentrifugasi. Pemurnian enzim SOD dengan amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75%. Diukurnya kadar protein yang memakai metode *Lowry* serta uji aktivitas SOD menggunakan metode WST-1 untuk menghitung persen inhibisi. Hasil dilakukan analisa dengan cara statistik memakai *one way ANOVA*.

Hasil riset membuktikan ekstraksi SOD didapatkan ekstrak kasar 175 ml. Bobot pelet pemurnian amonium sulfat konsentrasi 25, 50, dan 75% berturut-turut sebesar 0,1252; 0,1860; 1,4687. Kadar protein total ekstrak kasar serta presipitasi amonium sulfat 25, 50, dan 75% secara berturut-turut sebesar 9,377; 6,356; 8,501; dan 11,6 mg/mL. Setelah itu nilai persen inhibisi dengan cara berurutan yakni 73,133; 34,327; 65,671; dan 80,590% dengan konsentrasi yang optimum adalah konsentrasi 75%.

Kata kunci : *Syzygium polyanthum*, radikal bebas, SOD, WST-1

ABSTRACT

FITRIANA NOVITA S., TEST ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) ENZYME EXTRACT OF SALAM LEAF (*Syzygium Polyanthum*) WITH WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1) METHOD, THESIS, BACHELOR OF PHARMACY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITAS, SURAKARTA.

Antioxidants are substances that can destroy free radicals. One of the antioxidant enzymes is SOD. One of the plants that have SOD activity is bay leaf because it has high enough SOD activity so it can ward off free radicals that damage cells in the human body causing several diseases. The aim of the research was to determine the total protein content and purification of ammonium sulfate and the percent inhibition of the crude extract of the superoxide dismutase enzyme of bay leaves with ammonium sulfate concentrations of 25, 50, 75% and the optimum inhibition value of the ammonium sulfate concentration.

This study used bay leaves (*Syzygium polyanthum*) extracted with phosphate buffer and centrifuged. SOD enzyme purification with ammonium sulfate concentrations of 25, 50, 75%. Measuring protein levels with the Lowry method and SOD activity test using the WST-1 method to calculate the percent inhibition. The results were statistically analyzed using one way ANOVA.

The results showed that the SOD extraction obtained 175 ml of crude extract. The weight of ammonium sulfate refining pellets with concentrations of 25, 50, and 75% were 0.1252; 0.1860; 1.4687. The total protein content of the crude extract and the ammonium sulfate precipitation of 25, 50, and 75% respectively were 9.377; 6.356; 8,501; and 11.6 mg/mL. Then the percentage inhibition values were 73.133; 34,327; 65,671; and 80.590% with the optimum concentration being 75%.

Keywords: *Syzygium polyanthum*, free radicals, SOD, WST-1

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Berkembang dan majunya teknologi yang pesat membuat kehidupan khalayak seketika menjadi praktis. Akibatnya, jumlah kendaraan terus bertambah akibat perubahan perilaku makan dan istirahat serta bertambahnya kawasan industri yang berkontribusi terhadap mobilisasi, kerusakan, polusi, dan polusi udara yang cepat. Ditambah dengan gaya hidup instan dan stres yang dialami orang, mereka bisa terkena radikal bebas. Sistem imun diperlukan untuk melindungi tubuh dari potensi bahaya berbagai zat di lingkungan. Limfosit adalah bagian dari sistem kekebalan. Limfosit adalah sistem kekebalan spesifik yang dapat mengenali benda asing bagi limfosit, seperti radikal bebas (Agus, 2016).

Radikal bebas adalah aspek yang menyebabkan bermacam-macam penyakit pada tubuh khalayak. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel-sel dalam tubuh, sehingga tubuh kita memerlukan anti oksidan guna melawan radikal bebas. Anti oksidan merupakan zat yang mampu mensirnakan radikal bebas. Kehadiran anti oksidan yang terdapat didalam tubuh mampu melindungi oleh ancaman radikal bebas. Anti oksidan mampu menghilangkan radikal bebas didalam tubuh tanpa menimbulkan penyakit. Antioksidan alami ditemukan dalam banyak makanan, semacam makanan yang memiliki kandungan vitamin A, C, E, dan lainnya. Di sisi lain, terdapat sejumlah senyawa dalam tanaman yang dapat berperan selaku anti oksidan, contohnya yaitu senyawa fenolik yang terdapat pada sayuran, buah-buahan, rempah-rempah, serta lainnya (Munte, 2015). Beberapa penyakit yang menyebabkan kematian yang merusak tubuh dikarenakan adanya radikal bebas. Dengan jangka waktu tahunan, ahli kimia sudah mengerti jika aktivitas oksidatif radikal bebas mampu diambil kendalinya ataupun dilakukan pencegahan dengan bermacam-macam bahan anti oksidan (Mitayani, 2010).

Penanggulan bahaya radikal bebas di dalam tubuh dengan pemberian antioksidan yang cukup dapat mencegah masuknya radikal bebas. Antioksidan bermanfaat pada saat menangkal radikal bebas serta memperbaiki rusaknya oksidatif pada tubuh. Stres oksidatif kondisi dimana ketidakseimbangan radikal bebas serta anti oksidan yang

memiliki fungsi untuk menstabilkan keadaan dimana adanya hal yang rusak pada jaringan. Stress oksidatif diakibatkan karena 2 keadaan secara umumnya, yakni kekurangan anti oksidan serta produksi radikal bebas yang berlebih (Rush *et al.*, 2005). Bagian dari cara memegang kendali berlangsungnya stress oksidatif yang berlebih yakni melalui konsumsi anti oksidan dari makanan, minuman, maupun suplemen (anti oksidan eksogen). Tumbuhan daun salam dapat dimanfaatkan sebagai minuman yang dapat memberi pengaruh untuk tubuh. Bagian dari contohnya melalui konsumsi selaku anti oksidan eksogen untuk tubuh (Rochmah, 2017).

Daun salam bermanfaat dalam bidang kesehatan. Berlandaskan atas riset sebelumnya yang dilaksanakan Bahriul (2014) mengatakan bahwa daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin dan alkaloid. Senyawa pokok yang dikandung didalam daun salam yakni flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berkhasiat yaitu selaku anti oksidan, selaku system pertahanan bagi tubuh (Harismah dan Chusniatun, 2016). Flavonoid sanggup dalam bertindak selaku anti oksidan yang fungsinya guna menangkal radikal bebas alhasil meminimumkan pengaruh rusaknya sel pada molekul-molekul tubuh semacam DNA, protein, serta lemak dikarenakan menjadi golongan polifenol yang mampu memiliki peranan selaku anti oksidan (Dungir *et al.*, 2012; Sie, 2013).

Dalam farmasi SOD dapat digunakan sebagai obat dalam industri farmasi, dapat digunakan sebagai suplemen untuk pencegahan atau pembalikan beberapa penyakit kronis. Enzim SOD bermanfaat untuk perbaikan dan peremajaan yang disebabkan oleh radikal bebas reaktif seperti menghalangi pembentukan kerutan meningkatkan penyembuhan luka dan mengurangi bekas luka (Islam *et al.*, 2021). Superoksida dismutase yang sudah dipakai pada riset biomedis secara in vivo ataupun in vitro sebagai pencegahan ataupun pengobatan penyakit khusus. Penyakit tersebut dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat berperan penting dalam patofisiologi penuaan dan penyakit degeneratif seperti diabetes melitus, dislipidemia, kardiovaskular dan penyakit serebrovaskular (Mates *et al.*, 1999 dalam Wresdiyati, 2006).

Pada penelitian sebelumnya bahwa ekstrak daun salam mencakup daun muda, setengah tua serta daun tua kekuatan anti oksidan yang amat kuat dan bernilai tinggi IC50 masing-masingnya menerima 37.441 ppm, 14.889 ppm, 11.001 ppm (Bahriul, 2014). Uji

aktivitas SOD yang terdapat pada daun salam dengan aktivitas SOD 100%. Melalui hasil riset sebelumnya mampu memberi penggambaran bahwa daun salam memiliki aktivitas SOD yang cukup tinggi yaitu (100%) sehingga memiliki harapan mampu dilakukan pengembangan selaku sumber SOD guna menangkal radikal bebas tersebut (Widowati *et al.*, 2005).

Pada penelitian lain yang melaporkan bahwa meneliti aktivitas enzim SOD pada tanaman lain dengan genus yang berbeda. Tanaman tersebut memiliki aktivitas enzim SOD seperti tanaman pare (*Momordica charantia*) dan zucchini (*Cucurbita pepo*). Dalam penelitian Hamissou M., (2013) hanya aktivitas SOD pada pare dan zucchini yang diselidiki, penelitian ini melaporkan bahwa ekstrak zucchini menunjukkan aktivitas SOD lebih tinggi daripada ekstrak pare dengan nilai $1,996 \pm 0,30$ dan $1,55 \pm 0,44$ ua/ g total protein masing-masing. Dalam memilih buffer yang tepat penting untuk memastikan hasil ekstraksi protein. Studi ini telah menunjukkan bahwa konsentrasi buffer dan pH yang berbeda sangat penting dalam menentukan hasil konsentrasi protein tertinggi untuk protein dari genus yang berbeda.

Dalam penelitian Rahman *et al.*, (2012) melaporkan bahwa hasil dari pengukuran aktivitas isoenzim SOD mesokarp buah merah (*Pandanus conoideus lamarck*) pada ekstrak kasar sebanyak 420 U/ml ataupun setara terhadap 836 U/gr buah merah. Aktivitas enzim SOD mengalami peningkatan lebih tinggi setelah menggunakan amonium sulfat. Aktivitas SOD dari mesokarp buah merah yang mampu ditetapkan menggunakan densitometer (Chen dan Pan 1996). Dasar pemilihan konsentrasi adalah pada riset yang dilaksanakan Rahman *et al.*, (2012), yang mengisolasi enzim SOD dari mesokarp buah merah dengan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 25, 50, dan 75%. Pada penelitian tersebut, konsentrasi 75% menghasilkan aktivitas SOD yang paling efektif daripada ekstrak kasar dan konsentrasi 25 maupun 50%. Pada penelitian tersebut juga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi penambahan garam amonium sulfat aktivitas SOD meningkat. Akan tetapi, belum terdapat penelitian pada daun salam dengan variasi konsentrasi presipitasi amonium sulfat untuk kadar protein total serta nilai persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi, untuk itu peneliti tertarik untuk melakukan pengambilan ekstrak kasar enzim dari tanaman daun salam dan melakukan uji kadar protein total dan persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi serta ekstrak kasar tersebut.

Pada penelitian Rahman *et al.*, (2012) menetapkan aktivitas khusus dari SOD buah merah (*Pandanus conoideus lamarck*) dilaksanakan kadar protein ekstrak buah merah. Aktivitas khusus diberi pernyataan pada unit enzim per mg protein dengan faktor kemurnian enzim (Hohnade 1984).

Pada penelitian Febriyanti *et al.*, (2013) mengatakan bahwa pada tanaman ekor kucing dengan penghambatan 10 µg/ml nilai persen inhibisi yaitu 11,27%, penghambatan 100 µg/ml nilai persen inhibisi yaitu 15,20%, serta penghambatan 1000 µg/ml nilai persen inhibisi yaitu 22,06%.

Isolasi serta pemurnian enzim dilakukan lewat menggunakan sentrifugasi guna melakukan pemisahan enzim dari senyawa lainnya yang tak larut serta mensirnakan sel-sel yang tersisa. Keadaan sentrifugasi dengan jangka waktu 15 menit dalam suhu 4°C serta kecepatan 4500 rpm. Tahapan pemurnian enzim dilaksanakan melalui reaksi endapan yang memakai garam amonium sulfat yang diproduksi pada tiga konsentrasi yakni 25, 50 serta 75%. Penambahan amonium sulfat yang tinggi dapat meningkatkan kekuatan melalui interaksi ion garam dengan molekul air serta sebaliknya menyusutkan interaksi protein dengan air. Pengendapan protein dapat terjadi karena protein yang mudah larut dalam air (kelarutannya kecil) (Rahman, 2012). Penambahan garam, seperti amonium sulfat dilaksanakan pada konsentrasi tinggi. Konsentrasi garam yang rendah akan menyebabkan kenaikan kelarutan protein dikarenakan ion-ion melakukan interaksi terhadap gugus yang memiliki muatan dalam permukaan protein serta mengganggu oleh adanya kekuatan elektrostatis kuat, proses ini biasanya diketahui sebagai *salting in* (Metzler, 2003). Sedangkan ditambahkannya garam dengan konsentrasi tinggi akan mengakibatkan molekul air yang pada awalnya terikat dalam permukaan hidrofobik protein setelah itu terikat terhadap garam. Makin banyak molekul air yang terikat terhadap ion-ion garam akan menyebabkan protein tersebut saling melakukan interaksi, teragregasi, maupun mengalami pengendapan (*salting out*) (Triana, 2013). Pada penambahan konsentrasi tinggi garam amonium sulfat akan meningkat aktivitas enzim menjadi lebih tinggi. Semakin tinggi konsentrasi juga akan meningkatkan persen inhibisi (Sarip *et al.*, 2014).

Pada uji aktivitas enzim SOD menggunakan metode WST-1, mendapatkan nilai persen inhibisi. Persen inhibisi merupakan

perbandingan diantara selisih oleh absorbansi blanko. Persen inhibisi dengan arti, yaitu menetapkan persentase hambatan sampel yang di uji pada senyawa radikal bebas (Munadia dan Aulianshah., V. 2021). Tujuan dari penelitian ini adalah menguji enzim SOD pada daun salam dan menggunakan variasi konsentrasi amonium sulfat 25, 50, dan 75% dengan metode WST-1.

B. Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan yang dapat disusun dari latar belakang yang ada yakni sebagai berikut:

1. Berapakah kadar protein total ekstrak kasar SOD dan pemurnian dari amonium sulfat dengan konsentrasi 25, 50, 75% pada daun salam (*Syzygium Polyanthum*) ?
2. Berapakah nilai persen inhibisi dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian amonium sulfat dengan konsentrasi 25, 50, 75% pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) ?
3. Berapakah persen inhibisi yang paling optimum dari variasi konsentrasi pemurnian amonium sulfat pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya riset yang dapat disusun berlandaskan atas perumusan masalah yang terdapat yakni sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui kadar protein total ekstrak kasar SOD dan pemurnian dari amonium sulfat dengan konsentrasi 25, 50, 75% pada daun salam (*Syzygium Polyanthum*).
2. Untuk mengetahui nilai persen inhibisi dari ekstrak kasar SOD dan pemurnian amonium sulfat dengan konsentrasi 25, 50, 75% pada daun salam (*Syzygium polyanthum*).
3. Untuk mengetahui inhibisi yang paling optimum dari variasi konsentrasi pemurnian amonium sulfat pada daun salam (*Syzygium polyanthum*).

D. Kegunaan Penelitian

1. Memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan di bidang teknologi bahan alam serta memberikan dasar ilmiah potensi SOD yang diekstraksi sebagai antioksidan.
2. Memberikan informasi tentang kadar protein total ekstrak kasar SOD dan pemurnian dari amonium sulfat dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% pada daun salam (*Syzygium Polyanthum*).
3. Memberikan informasi tentang konsentrasi amonium sulfat yang paling optimum pada SOD daun salam (*Syzygium Polyanthum*).