

Skripsi

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL
ENZIM XANTIN OKSIDASE DARI SUMBER AIR PANAS PANGGO
KABUPATEN SINJAI SULAWESI SELATAN**

AIDUL

H031171008



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL
ENZIM XANTIN OKSIDASE DARI SUMBER AIR PANAS PANGGO
KABUPATEN SINJAI SULAWESI SELATAN**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains pada Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam Universitas Hasanuddin*

AIDUL

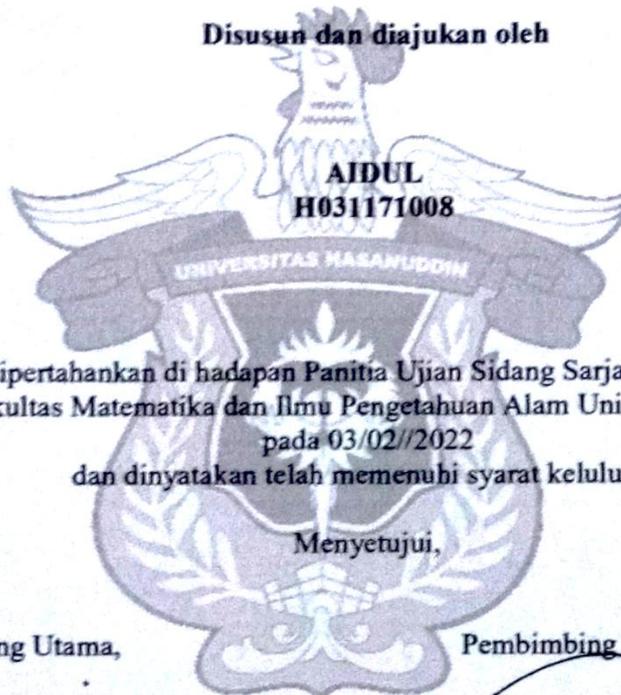
H031171008

**DEPARTEME KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL
ENZIM XANTIN OKSIDASE DARI SUMBER AIR PANAS PANGGO
KABUPATEN SINJAI SULAWESI SELATAN

Disusun dan diajukan oleh

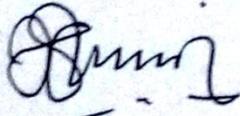


AIDUL
H031171008

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada 03/02/2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



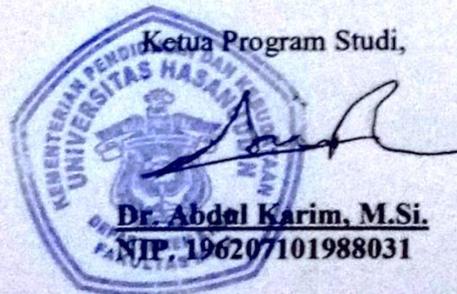
Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 19620320 198711 2 001

Pembimbing Pertama,



Abdur Rahman Arri, S.Si, M.Si
NIP. 19850008 201504 1 002

Ketua Program Studi,



Dr. Abdal Karim, M.Si
NIP. 196207101988031

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aidul
NIM : H031171008
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xantin Oksidase Dari Sumber Air Panas Panggo Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan* adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 03 Februari 2022

Yang Menyatakan



LEMBAR PERSEMBAHAN



Man Jadda Wa jada

Barang siapa yang bersungguh-sungguh, maka ia akan berhasil

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur Penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xantin Oksidase dari Sumber Air Panas Panggo Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan”**.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, manusia terbaik sepanjang masa, yang telah menjadi guru terbaik dan menjadi suri tauladan bagi umat Islam di seluruh dunia.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Abdul Samad** dan ibunda tercinta **Nurlia** terima kasih untuk setiap semangat, motivasi, bantuan, kasih sayang, dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada Penulis, semoga Allah senantiasa memberikan rahmat berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah SWT. Terima kasih juga kepada saudara-saudara kandung Penulis **Ka Azhar, Ka Uti, Ka Khae, Ka Faisal, Ka Sufyana, Ka Puji, Ka Zainal, Ka Saif, Syahrul** dan **Syarif** yang selalu memberikan motivasi, bantuan maupun semangat kepada Penulis selama mengerjakan tugas akhir ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan Penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini, terutama kepada ibunda **Dr. Hj. Hasnah Natsir, M.Si** selaku pembimbing utama dan ayahanda **Abdur Rahman Arif, S.Si, M.Si** selaku pembimbing pertama yang menjadi orang tua Penulis di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan masukan yang baik terutama

dalam penyelesaian skripsi ini. Tak lupa pula Penulis menghaturkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya atas semua kesalahan yang tidak disengaja yang pernah dilakukan Penulis hingga penulisan skripsi ini diselesaikan.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda **Dr. Eng Amiruddin, S.Si, M.Si** selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin dan ayahanda **Dr. A. Ilham Latunra, M.Si** selaku Wakil Dekan III yang selalu memberikan nasehat kepada Penulis, beserta semua staf pegawai.
2. Ayahanda **Dr. Abd. Karim, M.Si**, selaku ketua Departemen Kimia, ibunda **Dr. St. Fauziah, M.Si**, selaku Sekertaris Departemen Kimia sekaligus Ketua Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia dan semua dosen-dosen kimia serta staf pegawai **Pak Haerul** dan **Kak Rahma** yang telah membantu proses perkuliahan selama ini.
3. Ibunda **Syadza Firdausiah, S.Si, M.Sc** selaku dosen Penguji Ujian Sarjana Kimia dan Ibunda **Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si** selaku dosen koordinator seminar.
4. Analis Laboratorium Biokimia Unhas **Ibu Mahdalia, S.Si, M.Si** dan **Kak Andi Akbar S.Si** beserta kakak peneliti yang lain terkhusus **Kak Sarni** dan **Kak Emy** terima kasih atas bantuan semangat serta arahnya selama penelitian berlangsung.
5. Seluruh Analis Laboratorium di MIPA Unhas, **Pak Iqbal, Pak Sugeng, Ibu Tini, Ibu Anti, Kak Linda, Kak Fiby, Kak Hannah**, dan **Pak Ahmad**. Terima kasih atas bantuan yang diberikan selama proses penelitian.

6. Semua rekan kerja peneliti di lab biokimia terkhusus teman panel terkocak **Uri, Yura, Cumits**, dan **Fatam** yang telah berjuang bersama mengeluh bersama dan menyelesaikan tugas akhir ini bersama-sama, juga untuk teman peneliti lain **Huda, Yuyun, Mona, Moel, Wiwi, Farda, Salim**, dan **Maldini**.
7. Semua teman-teman seperjuangan di Departemen Kimia, terkhusus **Kimia 2017** dan **Alifatik 2017**, terima kasih atas arahan dan masukan-masukannya selama kuliah.
8. Teman-teman **Ghost Foundation 2017** terkhusus **Rahmat, Ucha, Fitri**, dan **Tahulk** yang terus memberi semangat kepada Penulis untuk cepat-cepat wisuda selama kuliah di Unhas.
9. Saudara tak sedarah, sahabat di perantauan **Fhadli, Fathir, Joe, Salim**, dan **Rafiqi** yang senantiasa membantu dan menemani di kala susah dan senang selama berkuliah di Makassar.
10. *My support system* **Fhadli, Fathir, Ishar, Alfli, Joe, Alim, Ebet, Irzha, Taufik, Yos, Sultan, Nisa, Trimel, Mecha, Lulu, Ima, Amrul, Esse, Ramla, Abbas, Icha, Anni, Cimel, Yayuk, Insur, Gita, Andre, Layuk, Haini, Wini, Huda, Yuyun, Mona, Moel, Wiwi, Farda, Salim, Fatam, Uri, Cumits, Yura**, dan **Rafiqi** terima kasih telah *men-support* dan banyak membagi tawa kepada Penulis selama di Makassar.
11. Teman **MIPA 2017** **Adhe, Indah, Amel, Angga, Callu, Fadlan, Gabe, Kaye, KD, Adel, Aras, Khalis, Sabran, Zahari, Puad, Aat, Rahman, Aris, Kety, Sofie, Timee, Aldo, Ale, Dandung, Ata, Iccang**, dan **Sri**, telah berjuang bersama dari Maba sampai Panitia, Pengurus BEM, Mapperwa, maupun SC.
12. Adiks **KONFIGURASI 2019** yang senantiasa menjadi kader pendengar di **HMK, Azan Subhan Rezi Okky Shabir Deku Mahdis Ghani Ajun Rahmi**

**Vingky Risa Wahida Qalby Suhe Cuppa Kiswan Cika Far Agnes Tweny
Fahrul Faisal Lala Bila Anita Wildan Riri Firna Alfi Mut Yola Izzatin
Ranti Helmy Takbir Tira Pio** dll. tak dapat disebutkan, bangga sama kalian.

13. Para keluarga di organisasi **KMK FMIPA Unhas** (terkhusus **Kak Titrasi 2013, Kak Prekursor 2014, Kak Polihedra 2015, Kak Kromofor 2016, Alifatik 2017, Hibridisasi 2018, Konfigurasi 2019, dan Isomer 2020**), **KM FMIPA Unhas, KPL OZONE Kimia Unhas, HMI Komisariat MIPA Unhas, dan UKM BOLA VOLI Unhas**, terima kasih atas ilmu, relasi, dan pengalamannya.
14. Teman-teman **KKN 104 Unhas 2020** terima kasih atas kebersamaan dan pengalaman berharga selama di lokasi KKN.
15. Bapak/ibu pembimbing **PKL Laboratorium Forensik Polri Cab. Makassar: Pak Gede, Ibu Hasura, Pak Budi, Pak Usman, Kak Diah dan semua personil lab. Forensik** terima kasih atas ilmu dan pengalaman selama kami magang.
16. Semua pihak yang tak dapat Penulis tuliskan satu-persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat Penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi Penulis dan semua orang yang membaca tulisan ini. Aamiin.

Makassar, 14 Januari 2022

Penulis

ABSTRAK

Enzim xantin oksidase (XO) merupakan golongan enzim *oksidoreduktase* yang mengkatalisis reaksi oksidasi hipoxantin menjadi xantin, selanjutnya xantin menjadi asam urat pada proses degradasi purin. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi dan mengkarakterisasi ekstrak kasar enzim XO dari bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas Panggo Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan. Enzim XO diproduksi pada media fermentasi yang mengandung substrat xantin dan dilakukan karakterisasi terhadap pH, suhu, konsentrasi substrat, stabilitas pH dan suhu, serta pengaruh ion logam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri termofilik hasil isolasi teridentifikasi sebagai genus *Bacillus* sp. isolat A3. Bakteri ini dapat menghasilkan enzim XO maksimum pada waktu fermentasi 96 jam dengan aktivitas 0,0266 U/mL. Hasil karakterisasi ekstrak kasar enzim XO bekerja optimum dan stabil pada suhu 50 °C dan pH 7 selama 2,5 jam dengan aktivitas tertinggi pada konsentrasi substrat xantin 0,2 mM, diaktifkan oleh ion logam Na⁺, Ca²⁺, dan Mg²⁺ serta dihambat oleh ion logam K⁺, Ba²⁺, Co²⁺, dan Zn²⁺ pada konsentrasi 10 mM maupun 100 mM. Enzim XO termostabil dari bakteri termofilik *Bacillus* sp. isolat A3 adalah ekstrak kasar enzim yang dalam tahapan selanjutnya dapat digunakan sebagai enzim uji secara *in vitro* dalam penelitian tentang pencarian kandidat obat asam urat.

Kata kunci: Bakteri termofilik, *Bacillus* sp., xantin oksidase, asam urat

ABSTRACT

Xanthine oxidase (XO) is a class of oxidoreductase enzymes that catalyze the oxidation reaction of hypoxanthine to xanthine, then xanthine to uric acid in the purine degradation process. This study aimed to produce and characterize the crude extract of XO enzyme from thermophilic bacteria isolated from Panggo hot springs, Sinjai Regency, South Sulawesi. XO enzyme was produced in fermentation media containing xanthine substrate and characterization was carried out on pH, temperature, substrate concentration, stability of pH and temperature, and the effect of metal ions. The results showed that the isolated thermophilic bacteria were identified as the genus *Bacillus* sp. isolate A3. These bacteria can produce the maximum XO enzyme at a fermentation time of 96 hours with an activity of 0,0266 U/mL. The results of the characterization of crude extract XO enzyme worked optimum and stable at a temperature of 50 °C and pH 7 for 2,5 hours with the highest activity at 0,2 mM xanthine substrate concentration, activated by metal ions Na⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺ and inhibited by metal ions K⁺, Ba²⁺, Co²⁺, and Zn²⁺ at concentrations of 10 mM and 100 mM. Thermostable XO from the thermophilic bacteria *Bacillus* sp. isolate A3 is a crude extract of an enzyme which in the next step can be used as an in vitro test enzyme in research on the search for uric acid drug candidates.

Keywords: Thermophilic bacteria, *Bacillus* sp., xanthine oxidase, uric acid

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Maksud Penelitian	5
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan Umum Bakteri Termofilik.....	7
2.2 Daerah Sumber Air Panas Panggo Sinjai Timur	10

2.3 Tinjauan Umum Xantin Oksidase	11
2.3.1 Enzim Xantin Oksidase	11
2.3.2 Sumber Enzim Xantin Oksidase	12
2.3.3 Aplikasi Enzim Xantin Oksidase	14
2.3.4 Enzim Xantin Oksidase sebagai Model Uji	14
2.3.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Xantin Oksidase.....	16
2.4 Asam Urat	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Bahan Penelitian.....	20
3.2 Alat Penelitian	20
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1 Pengambilan Sampel	21
3.4.2 Pembuatan Media.....	21
3.4.3 Pembuatan Larutan Uji.....	22
3.4.4 Isolasi dan Skrining Bakteri Termofilik.....	25
3.4.5 Karakterisasi Sifat Morfologi dan Biokimia Isolat Terpilih	25
3.4.6 Optimasi Produksi Enzim Xantin Oksidase	28
3.4.7 Uji Aktivitas Enzim Xantin Oksidase	28
3.4.8 Penentuan Kadar Protein Enzim Xantin Oksidase	29
3.4.9 Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xantin Oksidase	33
4.2 Penentuan Waktu Optimum Produksi Enzim Xantin Oksidase	38

4.3 Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase	42
4.3.1 Penentuan pH Optimum	42
4.3.2 Penentuan Suhu Optimum	43
4.3.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum	45
4.3.4 Pengaruh Penambahan Ion Logam	46
4.3.5 Penentuan Stabilitas pH	48
4.3.6 Penentuan Stabilitas Suhu	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Beberapa penelitian tentang enzim xantin oksidase	13
2. Data pertumbuhan bakteri pada media suplemen dan media selektif	33
3. Pengukuran indeks xantinolitik isolat A3 dan A3.....	36
4. Hasil uji biokimia sederhana isolat A3.....	37
5. Hasil analisis kadar protein isolat A3 dan perhitungan aktivitas spesifik...	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kurva pertumbuhan mikroba.....	10
2. Metabolisme asam urat dari xantin.....	12
3. Isolat bakteri pengasil xantin oksidase pada titik A3.....	34
4. Hasil pengamatan mikroskopis perbesaran 40 kali pewarnaan Gram positif isolat A3.....	36
5. Pengaruh waktu inkubasi terhadap absorbansi pertumbuhan isolat A3 dan aktivitas xantin oksidase	39
6. Kurva hubungan pH terhadap aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3 pada suhu 50 °C dan konsentrasi substrat 0,1 mM.....	43
7. Kurva hubungan suhu terhadap aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3 pada pH 7 dan konsentrasi substrat 0,1 mM.....	44
8. Kurva hubungan konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3 pada pH 7 dan suhu 50 °C.....	45
9. Diagram hubungan penambahan ion logam dengan aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3	47
10. Diagram hubungan stabilitas pH dengan aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3	48
11. Diagram hubungan stabilitas suhu dengan aktivitas enzim XO dari <i>Bacillus</i> sp. isolat A3	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Diagram Alir Penelitian	60
2. Bagan Kerja.....	61
3. Lokasi Sumber Air Panas Panggo	69
4. Tabel dan Perhitungan	70
5. Dokumentasi Penelitian	77

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
mdpl	meter di atas permukaan laut
mE	<i>meridian East</i>
μmol	mikromol
mN	<i>meridian North</i>
$\mu\text{S/cm}$	mikrosiemens per sentimeter
OD	<i>Optical Density</i>
rpm	rotasi per menit
Unit	Satuan aktivitas enzim
Unit/mL	Unit per milliliter
UTM	<i>Universal Transverse Mercator</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan suatu kelompok protein yang menjalankan dan mengatur segala perubahan kimia dalam sistem biologi. Enzim berfungsi mempercepat reaksi biokimia yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel (Sumardjo, 2008). Fungsi enzim adalah mengurangi energi aktivasi, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai keadaan transisi (suatu bentuk dengan tingkat energi tertinggi) dalam suatu reaksi kimiawi. Suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim mempunyai energi aktivasi yang lebih rendah, dengan demikian membutuhkan lebih sedikit energi untuk berlangsungnya reaksi tersebut (Pelczar dan Chan, 2010).

Keberadaan enzim di dalam tubuh makhluk hidup sesuai dengan fungsinya masing-masing. Berdasarkan tempat bekerjanya, enzim terbagi menjadi dua tipe yaitu enzim ekstraseluler yang berfungsi di luar sel dan enzim intraseluler yang berfungsi di dalam sel (Pelczar dan Chan, 2010). Salah satu jenis enzim intraseluler adalah enzim xantin oksidase yang dapat mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat (Lieberman dan Marks, 2013).

Enzim xantin oksidase merupakan golongan oksidoreduktase (Ngili, 2013) yang mengatalisis reaksi oksidasi xantin menjadi asam urat di dalam metabolisme purin (senyawa amina) (Bustanji dkk., 2011). Enzim xantin oksidase berasal dari golongan enzim *molybdenum iron-sulfur flavin hydroxylase*, yaitu suatu kompleks enzim yang memiliki berat molekul 270 kDa, dan memiliki 2 molekul flavin yang terikat sebagai FAD (flavin adenina dinukleotida), 2 atom molibdenum, dan 8 atom besi yang terikat sebagai Fe_2S_2 . Enzim xantin oksidase banyak ditemukan

pada organ hati, ginjal, otak, dan saluran gastrointestinal. Selain itu, enzim tersebut juga terdapat di seluruh sistem kardiovaskular (George dan Struthers, 2008). Pada reaksi oksidasi, enzim xantin oksidase mengatalisis pengeluaran elektron dari substrat dengan menggunakan oksigen sebagai akseptor hidrogen (Mayes, 2003). Namun jika kadar purin berlebih, ginjal tidak dapat mengatur pengeluaran purin sehingga terjadi kelebihan kristal asam urat dan penumpukan pada sendi maupun jaringan. Tingginya kadar asam urat tersebut dapat menimbulkan reaksi inflamasi yaitu gout (Rodwell, 2009).

Penghambatan enzim xantin oksidase digunakan dalam pengobatan asam urat, neuropati, dan batu ginjal yang mengarah pada keadaan hiperuresimia. Penghambatan xantin oksidase dapat menjadi jalan terapi untuk pengobatan gout (Wallace dkk., 2004). Oleh karena itu, dalam laboratorium sering dilakukan penelitian tentang uji penghambatan enzim xantin oksidase secara *in vitro* yaitu metode pengujian dalam pencarian kandidat obat (Nugroho, 2020). Enzim xantin oksidase sendiri dijadikan sebagai model dalam uji tersebut. Sari dkk (2018) telah melakukan penelitian inhibisi enzim xantin oksidase oleh fraksi etil asetat. Adapun Fajriah (2020) juga telah melakukan penelitian serupa dengan menggunakan ion logam Cu^{2+} dan ekstrak etanol biji aren. Penelitian yang makin pesat tentang enzim tersebut tentu saja memerlukan enzim dengan jumlah yang banyak, maka dari itu diperlukan sumber enzim terbarukan seperti enzim dari mikroorganisme.

Enzim untuk kebutuhan industri seperti industri kulit, kertas, tekstil, pakan, dan detergen saat ini diekstraksi dari berbagai jenis mikroorganisme, sebab mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim yang dapat dimanfaatkan manusia dalam jumlah maupun jenis yang sangat bervariasi (Palmer, 1985). Bakteri adalah salah satu jenis mikroorganisme penghasil enzim yang paling banyak digunakan

dibanding tanaman dan hewan. Bakteri dianggap lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang relatif murah, kondisi pertumbuhan, dan rekayasa genetik dapat diatur serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim pada suhu tinggi (Lestari, 2000).

Beberapa tahun terakhir, penelusuran dan eskplorasi bakteri ekstrim termofilik penghasil enzim termostabil menjadi sangat penting karena sifat termostabilitas intrinsik dan resistensinya terhadap perubahan faktor-faktor fisik dan kimiawi (George, 2001). Bakteri termofilik menghasilkan enzim termostabil yang memiliki peran serta kegunaan dalam proses industri dan bioteknologi seperti pada teknik-teknik biologi molekuler untuk kegunaan penelitian dan diagnostik (Vielle dan Zeikus, 2001). Menurut Edward (1990), mikroba ekstrim termofilik tumbuh pada kisaran suhu 55 °C hingga 88 °C. Bakteri termofilik dapat diisolasi dari berbagai sumber, termasuk pada sumber air panas, baik yang terdapat di daratan maupun di lautan, tanah atau daratan yang selalu terkena sinar matahari, bahan-bahan yang telah mengalami fermentasi seperti kompos, serta instalasi air panas.

Beberapa penelitian tentang isolasi enzim xantin oksidase dari bakteri termofilik di antaranya Sharma dkk (2016) telah berhasil mengisolasi bakteri *Bacillus pumilus* RL-2D penghasil enzim XO termostabil dari Manikaran (Kullu) mata air panas Himachal Pradesh (India), dengan kondisi optimum: suhu 75 °C, pH 7,5, konsentrasi substrat 0,6 mM, stabilitas pada suhu 50-70 °C, dan dihambat oleh ion logam Ag⁺ dan Hg⁺. Selain itu, Monika dkk (2019) juga telah mengisolasi bakteri *Acinetobacter calcoaceticus* RL2-M4 penghasil XO dari tanah daratan Distrik Shimla, Himachal Pradesh (India) pada kondisi optimum: suhu 40 °C, pH 7,5, konsentrasi substrat 2 mM, dihambat ion logam Ag⁺ dan Cu²⁺, dan memiliki

berat molekul sebesar 95 kDa. Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa sumber air panas dari kawah gunung merapi kaya akan bakteri termofilik penghasil enzim termostabil.

Daerah sumber air panas merupakan salah satu sumber bakteri termofilik yang dapat menghasilkan enzim termostabil. Salah satu sumber air panas yang potensial untuk dieksplorasi mikroorganismenya termofiliknya adalah sumber air panas Panggo. Sumber air panas Panggo berada di Desa Kaloling Kecamatan Sinjai Timur \pm 8 km dari pusat kota Kabupaten Sinjai. Kawasan air panas Panggo memiliki temperatur \pm 65 °C dan terletak pada ketinggian 12 mdpl (Lutfi, 2012). Sebelumnya Lutfi (2012), telah berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi *strain* bakteri penghasil enzim selulase dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai dengan menghasilkan 5 isolat bakteri, yaitu *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, dan *Bacillus licheniformis*. Selain itu, Ahdan dkk (2014) juga telah berhasil mengisolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Panggo yang teridentifikasi sebagai bakteri *Bacillus* sp. penghasil enzim amilase. Hal ini membuktikan bahwa sumber air panas Panggo Kabupaten Sinjai kaya akan isolat bakteri yang berpotensi menghasilkan enzim termostabil.

Kondisi lingkungan yang belum tercemar memungkinkan sumber air panas Panggo menghasilkan bakteri lokal, khususnya bakteri termofilik penghasil enzim xantin oksidase yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam laboratorium maupun industri. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri termofilik dari sumber air panas, khususnya bakteri termofilik penghasil enzim xantin oksidase termostabil dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana karakteristik isolat terpilih bakteri termofilik penghasil enzim xantin oksidase yang diisolasi dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan?
2. berapa waktu optimum produksi enzim xantin oksidase dari bakteri termofilik sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan?
3. bagaimana karakteristik ekstrak kasar enzim xantin oksidase yang diperoleh dari bakteri termofilik sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan?

1.1 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.1.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri termofilik dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan, serta enzim xantin oksidase yang diekspresikan oleh bakteri tersebut.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengkarakterisasi isolat bakteri termofilik penghasil enzim xantin oksidase dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan,
2. menentukan waktu optimum produksi enzim xantin oksidase dari bakteri termofilik sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan,
3. mengkarakterisasi ekstrak kasar enzim xantin oksidase hasil produksi bakteri termofilik dari sumber air panas Panggo, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai isolasi dan identifikasi bakteri termofilik penghasil enzim xantin oksidase. Selain itu, ekstrak kasar enzim xantin oksidase dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pencarian kandidat obat penyakit asam urat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Bakteri Termofilik

Bakteri termofilik adalah kelompok bakteri yang memiliki kondisi pertumbuhan optimum pada suhu tinggi (Nam dkk., 2004). Bakteri termofilik merupakan bakteri yang tumbuh dengan baik di atas suhu 45 °C (Bauman, 2004). Bakteri termofilik tumbuh optimal pada suhu 45 °C sampai 80 °C, bahkan ada yang mampu hidup pada suhu 100 °C atau lebih (Lestari, 2000). Bakteri termofilik berbeda dengan sel-sel eukariotik karena kemampuannya untuk beradaptasi dan tumbuh pada suhu tinggi serta kondisi seperti salinitas tinggi (NaCl jenuh), pH ekstrim (kurang dari 2 dan lebih dari 10), dan tekanan substrat. Bakteri termofilik terbagi atas tiga golongan berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, yaitu termofilik (45-65 °C) dengan suhu pertumbuhan optimum 55 °C, ekstrim termofilik (65-85 °C) dengan suhu pertumbuhan optimum 75 °C, dan hipertermofilik (85-110 °C) dengan suhu pertumbuhan optimum 95 °C (Madigan dkk., 2009).

Keanekaragaman bakteri termofilik memberikan gambaran potensi yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai tujuan. Pada saat ini bakteri termofilik dipelajari dan diteliti secara intensif karena alasan pengembangan penelitian dasar dan aplikasi bioteknologi. Bakteri termofilik berpotensi sebagai sumber-sumber enzim khas yang dapat digunakan pada proses pengolahan limbah maupun pelapukan mineral (Brock dkk., 1996). Enzim-enzim tersebut mampu bertahan dan aktif pada temperatur yang tinggi. Sifat seperti ini sangat dibutuhkan oleh industri-industri berbasis enzim. Penggunaan enzim yang mampu bertahan

pada suhu tinggi dalam bidang bioteknologi dapat menurunkan biaya operasional dan meningkatkan kecepatan reaksi (Aguilar dkk., 1998).

Kelompok bakteri termofilik tergolong dalam kelompok *archaebacteria* yang secara umum struktur selnya memiliki beberapa kelebihan dibanding kelompok bakteri lainnya. Kelompok ini umumnya memiliki daya adaptasi yang sangat tinggi terhadap kondisi lingkungan yang bersifat ekstrim seperti temperatur, kadar garam, pH, tekanan, dan oksigen di mana mikroorganisme lain tidak dapat mempertahankan aktivitas hidupnya (Rossa dkk., 1986). Ketahanan bakteri termofilik terhadap suhu tinggi disebabkan oleh adanya enzim-enzim dan protein yang tahan terhadap panas. Selain itu, pada bagian membran sel bakteri tersebut terdapat asam lemak jenuh yang memungkinkan membran sel berfungsi dengan baik dan stabil pada suhu tinggi (Cappucino dan Sherman, 2002).

Pengisolasian bakteri termofilik dari berbagai habitat untuk penggunaan enzim termostabil dalam dunia industri semakin intensif dilakukan belakangan ini (Madigan dkk., 2000). Habitat alaminya tersebar luas di seluruh permukaan bumi, salah satu lingkungan alaminya terbentuk akibat aktivitas vulkanik atau perpindahan kerak bumi pada saat gempa tektonik. Fenomena geologi tersebut menghasilkan kawah air panas yang biasanya memiliki pH netral. Bakteri termofilik juga dapat ditemukan di geotermal laut yang memiliki kadar mineral dan salinitas yang tinggi. Bakteri termofilik dan hipertermofilik telah berhasil diisolasi dari daerah sumber panas bumi, sedimen lautan geotermal, dan kawah air panas (Edwards, 1990). Bakteri termofilik juga dapat diisolasi dari lingkungan industri yang panas dan pada daerah pembangkit listrik, sumber air panas, tumbuhan yang membusuk, maupun pada tanah dan laut yang terpapar matahari (Brock dkk., 1994; Collins dkk., 2005). Seperti yang telah dilakukan

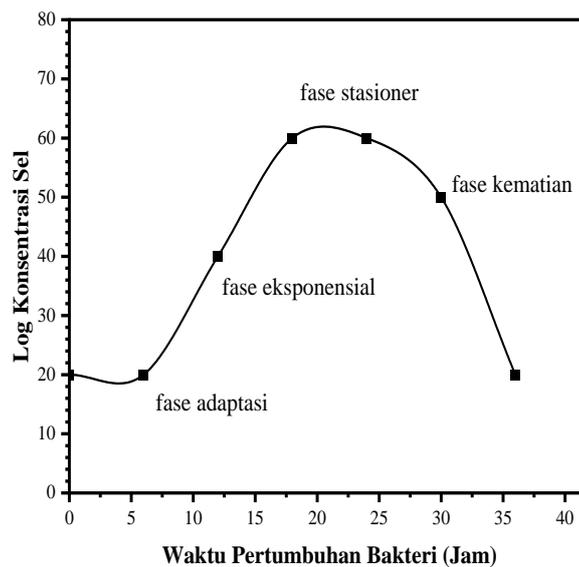
oleh Ahdan dkk (2014) berhasil mengisolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Panggo, Sinjai, Sulawesi Selatan (suhu air 50 °C) yang teridentifikasi sebagai bakteri *Bacillus* sp. penghasil enzim amilase. Selain itu, Asnawi (2006) berhasil mengisolasi beberapa genus bakteri termofilik dari air panas Pacet, Jawa Timur, yaitu *Bacillus* sp., *Thermus* sp., *Acetogenium* sp., dan *Pseudomonas* sp.

Menurut Poernomo dan Purwanto (2003), pemilihan bakteri sebagai sumber enzim mempunyai beberapa keuntungan bila dibandingkan dengan enzim yang diisolasi dari tanaman, hewan maupun fungi, sebab sel bakteri relatif lebih mudah ditumbuhkan, kecepatan tumbuh relatif lebih cepat, skala produksi sel lebih mudah ditingkatkan, biaya produksinya relatif lebih murah, dan waktu yang dibutuhkan dalam proses produksi lebih pendek. Bakteri termofilik menghasilkan enzim termostabil yang sangat penting dalam proses industri dan bioteknologi seperti teknik-teknik biologi molekuler untuk kegunaan penelitian dan diagnostik (enzim yang memproses DNA dan RNA) (Vielle dan Zeikus, 2001). Pada bidang industri, enzim dari mikroorganisme termofilik ini memiliki nilai komersial yang cukup tinggi karena daya termostabilitas yang juga tinggi, stabil terhadap zat-zat yang dapat mendenaturasi enzim seperti detergen dan senyawa organik lainnya, stabil pada kondisi lingkungan asam maupun alkalis, dan sangat cocok untuk proses fermentasi (Sianturi, 2008). Enzim seperti ini sangat diperlukan dalam industri baik pangan maupun non pangan karena mengurangi kemungkinan kontaminan dan lebih ekonomis (Sugiyono dkk., 2003).

Faktor-faktor yang dianggap berhubungan dengan termostabilitas enzim dari mikroorganisme termofilik bervariasi pada berbagai spesies termofilik, namun beberapa hal umum yang ditemukan antara lain terjadinya peningkatan ikatan hidrogen dan *salt bridge* pada protein dari enzim termofilik. Selain itu, juga

ditemukan adanya perbedaan jenis dan komposisi asam amino yang menyusun protein enzim termofilik bila dibandingkan dengan protein pada enzim golongan mesofilik. Pada enzim termofilik terjadi penurunan jumlah sistein dan serin, sedangkan jumlah arginin dan tirosin meningkat secara nyata. Asam amino prolin jumlahnya juga lebih sedikit ditemukan pada struktur α -heliks pada protein termofilik (Kumar dan Nussinov, 2001).

Adapun pertumbuhan bakteri/mikroba dapat digambarkan dalam bentuk kurva (Gambar 1). Kurva pertumbuhan mikroba merupakan gambaran sejak awal hingga terhenti mengadakan kegiatan. Kurva tersebut terbagi ke dalam beberapa fase yaitu fase adaptasi (bakteri baru mulai menyesuaikan diri dengan lingkungannya), fase eksponensial (bakteri mulai membelah diri), fase stasioner (jumlah sel yang mati sebanding jumlah sel yang hidup), dan fase kematian (sel mati karena kehabisan nutrisi) (Waluyo, 2004).



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroba (Waluyo, 2004)

2.2 Daerah Sumber Air Panas Panggo Sinjai Timur

Indonesia sebagai negara tropis mempunyai banyak daerah dengan aktivitas geotermal seperti daerah pegunungan berapi, sumber air panas, cadangan minyak

bumi maupun batu bara. Beberapa kondisi lingkungan yang berbeda dalam setiap lokasi memungkinkan mengisolasi heterogenitas bakteri termofilik yang tinggi (Indrajaya dkk., 2003). Ketersediaan energi panas bumi di Indonesia secara umum berasosiasi dengan daerah magmatik dan vulkanik sebagai sumber panasnya. Kepulauan Indonesia yang berada di jalur gunung api merupakan daerah yang berpotensi bagi terbentuknya energi panas bumi (Eko, 2007).

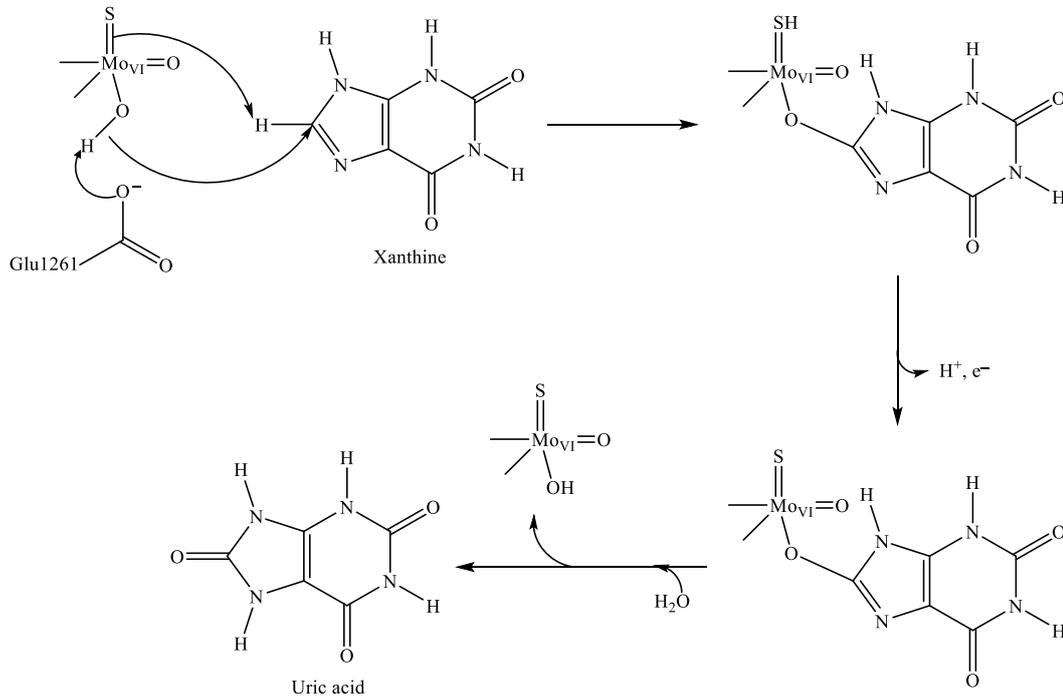
Sumber air panas Panggo yang terletak di kabupaten Sinjai merupakan lokasi objek wisata yang ramai akan pengunjung. Mata air panas ini berada pada posisi (UTM) X = 194119 mE dan Y = 9426510 mN tepatnya di Desa Kaloling, Kecamatan Sinjai Timur, ± 8 km dari pusat kota. Temperatur airnya terukur sebesar 62 °C dengan temperatur udara 34 °C. Besar debit 1 L/detik dengan pH terukur 8,46 dan konduktivitas sebesar 3350 µS/cm. Kandungan kimia air panas Panggo menunjukkan tipe air klorida (Eko, 2007). Air panas Panggo, Kabupaten Sinjai muncul pada ketinggian 12 mdpl (Lutfi, 2012).

2.3 Tinjauan Umum Enzim Xantin Oksidase

2.3.1 Enzim Xantin Oksidase

Enzim xantin oksidase merupakan golongan enzim *oksidoreduktase* yang mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat pada proses degradasi purin (Lieberman dan Marks, 2013). Enzim xantin oksidase merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari molekul-molekul protein yang tiap molekulnya tersusun atas 2 mol FAD, 2 mol atom Mo, dan 8 mol atom Fe. Enzim xantin oksidase (XOD, EC. 1.2.3.2) atau enzim XO terletak di ujung urutan katabolik metabolisme nukleotida purin pada manusia dan beberapa spesies urikotelik lainnya. Pada metabolisme asam urat dari purin, enzim xantin oksidase

mengatalisis pengeluaran elektron dari substrat menggunakan oksigen sebagai akseptor hidrogennya (Gambar 2).



Gambar 2. Metabolisme asam urat dari xantin oleh enzim XO (Kostic dkk., 2015)

Selama proses oksidasi xantin membentuk asam urat, atom oksigen akan ditransfer dari molibdenum ke xantin. Perombakan pusat molibdenum yang aktif tersebut terjadi dengan adanya penambahan air. Kemudian selama proses oksidasi molekul, atom oksigen tersebut bertindak sebagai akseptor elektron yang menghasilkan radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Reaksi katalisis xantin oleh enzim xantin oksidase tersebut dapat mengakibatkan akumulasi asam urat pada sel tubuh (Mardiningsih, 2017).

2.3.2 Sumber Enzim Xantin Oksidase

Enzim xantin oksidase merupakan enzim sitosiklik yang tersebar luas di berbagai spesies seperti bakteri, tumbuhan tingkat tinggi, invertebrata, dan

vertebrata. Enzim ini dapat ditemukan di beberapa jaringan tubuh mamalia, antara lain hati, usus, ginjal, paru-paru, miokardium, otak, plasma, dan eritrosi, namun paling banyak terdapat pada hati dan usus (Mardiningsi, 2017). Enzim xantin oksidase juga dapat ditemukan dalam susu sapi, susu kambing maupun susu kerbau karena kandungan proteinnya (Ozar dkk., 1999). Penelitian terkait isolasi enzim xantin oksidase dari berbagai sumber telah banyak dilakukan oleh para peneliti sebelumnya, beberapa di antaranya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa penelitian terkait enzim xantin oksidase

Sumber enzim	Hasil penelitian	Peneliti
<i>Bacillus pumilus</i> RL-2D	Kondisi optimum karakteristik enzim XO: suhu 75 °C; pH 7,5; stabilitas termal 50-70 °C; konsentrasi substrat 0,6 mM; dan dihambat ion logam Ag ⁺ dan Hg ⁺	Sharma dkk (2016)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RL2-M4	Kondisi optimum karakteristik enzim XO: suhu 40 °C; pH 7,5; konsentrasi substrat 2 mM; inhibitor logam Ag ⁺ dan Cu ²⁺ ; berat molekul sebesar 95 kDa	Monika dkk (2019)
Susu sapi	Inhibisi enzim XO oleh fraksi etil asetat daun jarum tujuh bilah (<i>Pereskia bleo</i> (Kunth) D.C) memiliki daya hambat sebesar 88,89%	Sari dkk (2018)
Susu sapi	Kondisi optimum karakteristik enzim XO: pH 6,5, suhu 35 °C, konsentrasi substrat 0,1 mM, serta dihambat oleh ion logam Cu ²⁺ dan ekstrak etanol biji aren dengan daya hambat sebesar 38,08%	Fajriah (2020)

Enzim XO pertama kali diidentifikasi dalam susu dan membentuk komponen utama membran lemak globular susu. Enzim ini telah didapatkan dari beberapa genus bakteri seperti *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Micrococcus*, dan beberapa jamur seperti *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, dan juga dari beberapa tumbuhan, metazoa, dan hewan.

Hanya ada beberapa laporan tentang termostabil xantin oksidase dari sumber mikroba (Sharma dkk., 2016).

2.3.3 Aplikasi Enzim Xantin Oksidase

Enzim XO berperan penting dalam katabolisme purin dan mempunyai 2 bentuk, yaitu xantin oksidase dan xantin dehidrogenase. Enzim dehidrogenase dapat dikonversi menjadi xantin oksidase dan dapat mengatalis oksidasi hipoxantin menjadi xantin lalu menjadi asam urat yang berperan penting pada penyakit gout (Cos dkk., 1998). Penyakit asam urat dapat dicegah dengan menginhibisi aktivitas xantin oksidase melalui pengobatan secara sintetik ataupun secara tradisional dengan menggunakan bahan-bahan alternatif yang terdapat dari tumbuhan atau yang banyak disebut tanaman obat (Lestari dkk., 2014).

Penggunaan obat sintetik dalam upaya penyembuhan asam urat dilakukan dengan mengonsumsi alopurinol yang digunakan untuk menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Penggunaan obat sintetik ini memberikan banyak efek samping dan reaksi alergi. Oleh sebab itu, diperlukan pengobatan alternatif yang lebih aman dengan efek samping yang lebih rendah. Menurut Cos dkk (1998), beberapa senyawa flavonoid dan alkaloid pada tanaman dapat berperan sebagai obat untuk penyakit asam urat karena mampu menghambat aktivitas xantin oksidase. Xantin oksidase juga memiliki peranan dalam industri makanan untuk penilaian kesegaran daging (Sharma dkk., 2016).

2.3.4 Enzim Xantin Oksidase sebagai Model Uji

Pengobatan penyakit asam urat umumnya dilakukan dengan obat yang dapat menghambat aktivitas kerja enzim xantin oksidase sehingga mampu mengontrol

katabolisme purin dalam tubuh (Nuki, 2006). Alopurinol merupakan satu-satunya obat yang bersifat urikostatik yaitu menghambat terbentuknya asam urat dengan jalan menghambat aktivitas enzim xantin oksidase (Gunawan, 2007). Ketersediaan alopurinol yang masih bergantung pada pasokan impor serta penggunaan obat modern yang memiliki banyak efek samping, maka perlu obat alternatif yang memiliki aktivitas pengobatan lebih baik dan efek samping yang lebih rendah (Eff dkk., 2016).

Pencarian senyawa obat diperlukan serangkaian penelitian baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak (Ikrom dkk., 2014). Uji *in vitro* adalah metode pengujian kandidat obat di luar tubuh makhluk hidup. Pengujian ini dilakukan pada kultur bakteri, sel terisolasi atau organ terisolasi. Jika hasilnya positif, akan dilanjutkan dengan uji *in vivo* yakni pengujian pada makhluk hidup (hewan) (Nugroho, 2020).

Secara *in vitro*, metode yang banyak digunakan adalah metode penghambatan xantin oksidase. Metode penetapan aktivitas enzim ini dilakukan dengan penambahan substrat xantin sehingga terbentuk asam urat. Penetapan aktivitas enzim xantin oksidase dapat dilakukan dengan cara langsung mengukur produk ataupun secara tidak langsung yaitu dengan mengukur sisa substrat. Pada penggunaan prinsip penentuan aktivitas xantin oksidase, dapat pula ditentukan persentase penghambatan aktivitas xantin oksidase yang ada dalam bahan yang akan diteliti sebagai urikostatik (Nurhidayanti dkk., 2015)

Prospek pengembangan produksi tanaman obat semakin pesat saja mengingat perkembangan industri obat modern dan obat tradisional terus meningkat. Eff dkk (2016) melakukan uji aktivitas penghambatan enzim xantin

oksidase secara *in vitro* dari isolat bunga mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) yaitu isolat 6,4'-dihidroksi-4-metoksi benzofenon-2-*O*- β -D-glukopiranosida ($C_{20}H_{22}O_{10}$) yang memiliki potensi untuk menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Adapun Fajriah (2020) telah melakukan penelitian tentang uji hambat enzim xantin oksidase oleh ion logam Cu^{2+} dan ekstrak etanol biji aren dengan daya hambat sebesar 38,08%. Enzim xantin oksidase sendiri dijadikan sebagai model dalam uji penghambatan tersebut.

2.3.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Xantin Oksidase

Aktivitas enzim sering digunakan dalam satuan unit (U) yaitu jumlah enzim yang mampu mengatalisis perubahan 1 μ mol substrat per menit pada kondisi tertentu. Bila substratnya merupakan suatu senyawa polimer seperti protein atau pektin, maka 1 μ mol substrat diganti 1 mikro ekuivalen dari gugus penting senyawa tersebut (Saryono, 2011). Menurut Indah (2004), beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim xantin oksidase yaitu suhu dan pH. Selain itu, juga dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, dan komponen di luar enzim seperti aktivator maupun inhibitor.

1. Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi enzimatik bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat konstan. Menurut Dewi (2012), kecepatan akan konstan atau menurun apabila enzim telah jenuh terhadap substrat pada keadaan jumlah substrat berlebih. Substrat dengan enzim akan membentuk sebuah kompleks enzim-substrat yang selanjutnya akan membentuk produk dan enzim bebas. Semakin banyak enzim yang terbentuk semakin cepat reaksi berlangsung hingga batas tertentu (Indah, 2004).

2. Konsentrasi Substrat

Bertambahnya konsentrasi substrat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik dan konsentrasi enzim konstan. Pada konsentrasi tertentu tidak terjadi peningkatan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat ditambah. Hal ini menandakan terjadinya kejenuhan substrat (Susanti dan Fibriana, 2017). Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim bagian aktif. Hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi (Poedjadi, 1994).

3. Suhu

Reaksi kimia dapat dipengaruhi oleh suhu. Oleh karena itu, reaksi yang menggunakan katalis enzim dapat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah, reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Di samping itu, karena enzim adalah suatu protein, maka kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian sisi aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun (Poedjadi, 1994).

4. Derajat Keasaman (pH)

Struktur enzim sangat dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Enzim dapat bermuatan positif, negatif atau bermuatan ganda. Hampir seluruh reaksi kimia dipengaruhi oleh konsentrasi hidrogen. Keseimbangan hidrogen memperlihatkan hubungan denaturasi enzim pada pH tinggi maupun rendah (Dewi, 2012). Di mana pH rendah atau pH tinggi menyebabkan terjadinya proses denaturasi sehingga mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Indah, 2004).

5. Inhibitor dan Aktivator

Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya (Winarno, 1983).

Aktivitas beberapa enzim bekerja optimum dengan bantuan aktivator. Komponen di luar enzim ini berupa molekul non protein yang disebut kofaktor. Kofaktor dibutuhkan pada sisi substrat sehingga enzim dapat aktif. Kofaktor dapat berupa molekul organik yang memiliki gugus prostetik ataupun anorganik seperti ion logam (Susanti dan Febriana, 2017).

2.4 Asam Urat

Asam urat merupakan senyawa hasil metabolisme akhir dari purin yaitu salah satu komponen asam nukleat yang terdapat dalam inti sel tubuh manusia (Andry dkk., 2009). Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa 90% dari asam urat merupakan hasil katabolisme purin yang dibantu oleh enzim xantin oksidase (Eff dkk., 2016). Menurut Azmi (2010), asam urat adalah suatu senyawa alkaloid turunan purin. Derivat utama purin dan pirimidin dari asam nukleat baik prokariotik maupun eukariotik adalah adenosin, guanosisin, sitosidin, timidin, serta uridin. Derivat purin hipoxantin dan xantin merupakan senyawa antara dalam metabolisme adenosin serta guanosisin. Manusia mengekskresikan derivat purin yang teroksidasi yaitu asam urat sebagai produk akhir katabolisme purin. Asam urat memiliki fungsi dalam tubuh yaitu sebagai antioksidan dan bermanfaat dalam regenerasi sel. Metabolisme tubuh secara alami menghasilkan asam urat (Noviyanti, 2015).

Asam urat dibentuk di dalam hati dan terutama diekskresikan oleh ginjal (65%-75%) dan usus (25%-35%). Konsumsi makanan yang kaya akan purin,

obesitas, dan penyakit ginjal yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi asam urat dan ekskresinya adalah faktor umum penyebab penyakit asam urat (Dai dkk., 2015). Jika kadar xantin dalam darah cukup tinggi maka mampu memicu terbentuknya asam urat yang lebih banyak karena kerja dari xantin oksidase (Carter, 2005). Keadaan di mana terjadi peningkatan kadar asam urat darah di atas normal disebut sebagai hiperurisemia. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan penyakit asam urat (gout). Gout adalah penyakit akibat adanya penumpukan kristal monosodium urat pada jaringan akibat peningkatan kadar asam urat (Sudoyo dkk., 2006; Misnadiarly, 2008).

Pengobatan asam urat dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu obat golongan urikostatik dan obat golongan urikosurik, yang keduanya termasuk golongan obat modern. Obat golongan urikostatik bekerja sebagai inhibitor xantin oksidase, yang alopurinol. Alopurinol adalah obat yang diakui sebagai penghambat pembentukan asam urat dari prekursornya, yaitu xantin dan hipoxantin. Obat golongan urikosurik dapat menurunkan kadar asam urat dengan cara meningkatkan ekskresi asam urat dan menginhibisi reabsorpsi asam urat di tubulus ginjal. Obat yang biasa digunakan adalah probenesid dan sulfinpirazon (Wilmana, 2007).