

DAFTAR PUSTAKA

- Afni, N., 2013, Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Produksi Kandidat Antibiotika dari Isolat Bakteri Simbion dari Ganggang Hijau *Caulerpa racemosa*, Skripsi tidak diterbitkan, Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Agarwal A. and Banerjee, U.C., 2009, Screening of Xanthine Oxidase Producing Microorganisms Using Nitroblue Tetrazolium Based Colorimetric Assay Method, *Open Biotechnol Journal*, **3**; 46-49.
- Aguilar, A., Ingemansson, T., and Magnien, E., 1998, Extremophiles Microorganisms as Cell Factories: support from tea European Union,
- Ahdan, N.N.N., Natsir, H., dan Dali, S., 2014, *Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Panggo, Sulawesi Selatan*, Seminar Nasional Biokimia UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Makassar.
- Andry, Saryono, dan Upoyo, A.S., 2009. Analisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kadar Asam Urat pada Pekerja Kantor di Desa Karang Turi, Kecamatan Bumiayu, Kabupaten Brebes. *Jurnal Keperawatan Soedirman*, **4**, (1); 26-31.
- Arfah, R.A., Ahmad, A., Djide, M.N., Anis, M., dan Zakir, M., 2015, Production Optimization and Characterization of Amilase Enzyme Isolated from Termofil Bacteria *Bacillus* sp. RSAII-1B from Lejja Hot Spring south Sulawesi, *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, **3**, (6); 115-119.
- Arif, R.A., 2013, Potensi Kitin Deasetilase dari *Bacillus licheniformis* HSA3-1A untuk Produksi Kitosan dari Limbah Udang Putih (*Penaeus merguensis*) sebagai Bahan Pengawet Bakso Ikan, Tesis tidak Diterbitkan, Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Asnawi, A.H., 2006, *Keanekaragaman Bakteri Termofilik yang Terdapat dalam Sumber Air Panas di Taman Wisata Padusan Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur*, Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Negeri Malang, Malang.
- Azmi, U., 2010, *Efek Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff. Boerl.) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat pada Mencit Putih Jantan yang Diinkubasi Potassium Oxonate*. Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Baehaki, A., Rinto, dan Budiman, A., 2011, Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya Sumatera Selatan., *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **22**, (1); 37-42.

- Bauman, R.W., 2004, *Microbiology*, Benjamins Cummings, Toronto.
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J., 1994, *Biology of Microorganism*, Prentice Hall, New Jersey.
- Bustanji, Y., Hudaib, M., Tahawa, K., Mohammad, K.H., Almasri, .I, Hamed, S., and Oran, S., 2011, In Vitro Xanthine Oxidase Inhibition by Selected Jordanian Medicinal Plants, *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **4**, (1); 49-56.
- Cappucino, J.G. and Sherman, N., 2002, *Microbiology: A Laboratory Manual*, The Benjamin Cummings Publishing Company, San Fransisco.
- Carter, M.A., 2005, *Gout*, dalam Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit (Ed. ke-6 Vol. 2) S.A. Price and L.M. Wilson, (Penerjemah: Huriawati Hartanto, Natalia Susi, Pita Wulansari, dan Dewi Asih Mahanani), Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Collins, T.C., Gerday, and Feller, G., 2005, Xylanase Families and Extremophilic Xylanases, *Federation of European Microbiological Societies Microbiol Reviews*, **29**; 3-23.
- Dai, H., Huang, Z., Deng, Q., Li, Y., Xiao, T., Ning, X., Lu, Y., and Yuan, H., 2015, The Effects of Lead Exposure on Serum Uric Acid and Hyperuricemia in Chinese Adults: A Cross-Sectional Study, *International Journal of Enviromental Research and Public Health*, **12**; 9672-9682.
- Dewi, T.K., 2012, *Isolasi dan Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi n-Butanol pada Ekstrak Akar Tanaman (Acalypha indica Linn)*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program studi Farmasi Universitas Indonesia, Depok.
- Edward, C., 1990, *Thermophiles, Microbiology of Extreme Environments*, Alden Perss, Oxford.
- Eff, A.R.Y., Rahayu, S.T., dan Syachfitri, R.D., 2016, Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase Secara In-vitro oleh Isolat 6,4-Dihidroksi-4-Metoksibenzofenon-2-O-β-D-Glukopiranosida (C₂₀H₂₂O₁₀) yang Diisolasi dari Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl), *Journal Pharm Science Recommendation*, **3**, (1); 2407-2354.
- Eko, A.S.W., 2007, *Survei Panas Bumi Terpadu Daerah Kampala Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan*, Proceeding pemaparan hasil kegiatan lapangan
- Ernawati dan Susanti, H., 2014, Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase Oleh Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Tuberosa* (Non Jack) Bl.) secara In Vitro, *Pharmaciana*, **4**, (1); 15-22.
- Fahisyah, R. N., Naim, N., dan Armah, Z., 2019, Pengaruh Variasi Lama Penyimpanan Reagen Enzim 1a Terhadap Hasil Pemeriksaan Ureum Darah Metode Berthelot, *Jurnal Media Analis Kesehatan*, **10**, (1); 21-27.

- Fajriah, N.K., 2020, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Xantin Oksidase dari Susu Sapi dan Uji Inhibisi terhadap Ekstrak Etanol Biji Aren (Arenga pinnata Merr)*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program studi Kimia Universitas Hasanuddin, Makassar.
- George, G., 2001, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer-Verlag, New York, USA.
- George, J. and Struthers, A.D., 2008, The Role of Urate and Xanthine Oxidase Inhibitors in Cardiovascular Disease, *Cardiovascular Therapeutics*, **26**, (11); 59-64.
- Gunawan, S.G., 2007, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi V, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Hames, B.D., 1998, *Gel Electrophoresis of Proteins*, Oxford University Press, New York (USA).
- Haliza, W., 2003, *Karakteristik Kitosanase Unik dari Bacillus coagulans LH 28.38 Asal Lahendong-Sulawesi Utara*, Tesis, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hermanto, S., Saputra, F.R., dan Zilhada, 2014, Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Asal Gelatin pada Kapsul Keras, *Jurnal Kimia Valensi*, **1**, (1); 26-32.
- Ikrom, Asih, D.T.R., Wira R.A., Perkasa B.B., Tiara R.N., dan Wasito, 2014, Studi *In Vitro* Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*, *Jurnal Sain Veteriner*, **32**, (1); 105-115.
- Indah, M., 2004, *Enzim*, USU Digital Library, Medan.
- Indrajaya, Madayanti, F., dan Akhmaloka, 2003, Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Termofil Isolat, *Journal Mikrobiol Indonesia*, **53**.
- Kostic, D.A., Dimitrijevic, D.S., Stojanovic, G.S., Palic, I.R., Dordevic, AS., and Ickovski, J.D., 2015, Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition, *Journal of Chemistry*, **2015**, (1); 1-8.
- Kumar, S. and Nussinov, R., 2001, How Do Thermophilic Protein Deal With Heat? A Review Cell Moll, *Life Science*, **58**; 1216-2333.
- Lay, W.B., 1994, *Analisa Mikroba di Laboratorium*, Edisi I, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lehninger, A.L., 1998, *Dasar-Dasar Biokimia*, Terjemahan oleh M. Thenawidjaja, Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Lehninger, A.L., 2004, *Principles of Biochemistry*, 4E (4th edition), WH Freeman, USA.

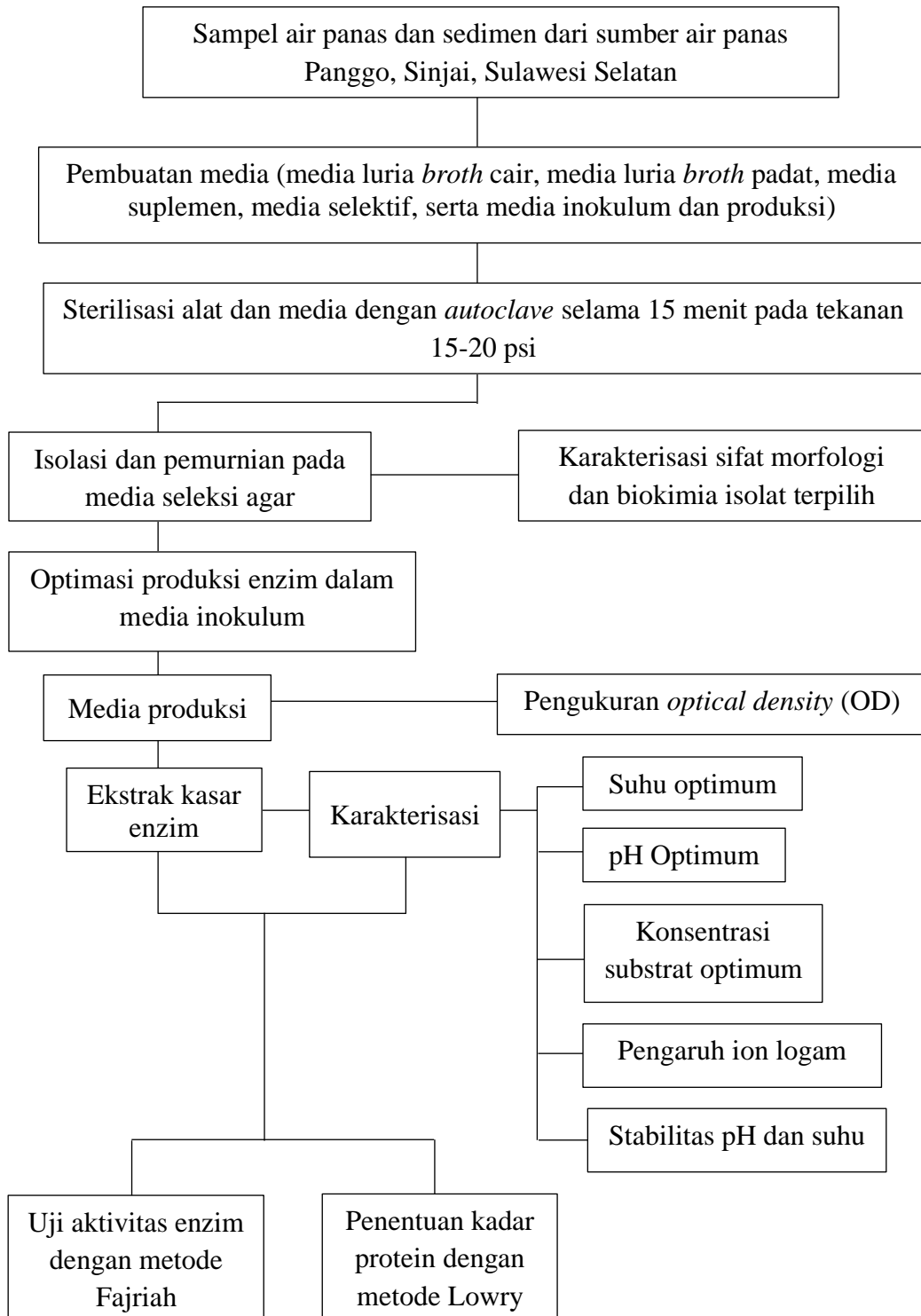
- Lestari, 2000, *Eksplorasi Enzim Termotabil dari Mikroorganisme Termofil*, Fakultas Biologi, Universitas Jendral Sudirman, Purwokerto.
- Lieberman, M. and Marks, A.D., 2013, *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*, Fourth Edition, William and Wilkins, US.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., 1951, Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *Journal Biology Chemistry*, **193**; 265-275.
- Lutfi, Z., 2012, *Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase dari Sumber Air Panas Panggo Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, Makassar.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J., 2000, *Brock Biology of Microorganisms*, Ninth Edition, Prentice-Hall, London.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J., 2009, *Biology of Microorganisms*, 12th edition, Prentice Hall International, New York.
- Mardiningsih, A.T., 2017, *Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase oleh Ekstrak Etanol Daun Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) Secara In Vitro*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Mayes, P.A., 2003, *Oksidasi Biologi*, Dalam: Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. Biokimia Harper, Edisi 25, Terjemahan: Hartono A., EGC, Jakarta.
- Misnadiarly, A.S., 2008, *Mengenal Penyakit Arthritis*, (Online), (<http://perpustakaan.depkes.go.id:8180/bitstream/123456789/603/23/%20MediakomXII-6-08%20Hal57.pdf>, diakses 19 April 2020).
- Monika, Sharma, N.K., Thakur, N., Sheetal, Savitri, and Bhalla, T.C., 2019, Xanthine oxidase of *Acinetobacter calcoaceticus* RL2-M4: Production, purification and characterization, *Protein Expression and Purification*, **160**, (2019); 36-44.
- Nam, S.E., Choi, J.W., Lim, J.H., Hwang, S.K., Jung, J.H., Kang, S.K., Cho, K.K., Choi, Y.J., and Ahn, J.K., 2004, Galaktosidase Gene of *Thermus thermophilus* KNOUC 112 Isolated from Hot Springs of A Volcano Area In New Zealand: Identification of Bacteria, Cloning, and Expression of The Gene In *Escherichia Coli*, *Journal Animal Science*, **17**; 1591-1598.
- Natsir, H., 2015, *Teknik Isolasi dan Karakterisasi Enzim Fraksinasi dan Pemurnian Protein Teknik Penentuan Berat Molekul Protein Menggunakan Metode SDS PAGE*, Pelatihan, UIN Alauddin Makassar, Makassar.
- Natsir, H., Patong, A.R., Suhartono, M.T., and Ahmad, A., 2010, Production and Characterization of Chitinase Enzymes from Hot Spring in South

- Sulawesi, *Bacillus* sp. HSA3-1a. *Indonesian Journal of Chemistry*, **10**, (2); 256-260.
- Natsir, H., Patong, A.R., Suhartono, M.T., and Ahmad, A., 2013, Isolation and Purification Thermostable Chitinase B. *Licheniformis* HSA3-1a from Sulili Hot Springs in South Sulawesi, Indonesia, *International Journal of Pharmacy Bio Sciences*, **4**, (3); 1252-1259.
- Natsir, H., Tjandra, D., Rukayadi, Y., Suhartono, M.T., Hwang, J.K., and Pyun, Y.R., 2002, Biochemical Characteristics of Chitinase Enzyme from *Bacillus* sp. of Kamojang Craater, Indonesia, *Journal of Biochemistry Molecular Biology and Biophysics*, **6**, (4); 297-282.
- Ngili, Y., 2013, *Biokimia Dasar*, Penerbit Rekayasa Sains, Bandung.
- Norarzmi, N.M., Manap, H., Rasyeid, A.R.Z., and Mauzina, M., 2016, Uric Acid Detection in UV Region, The National Conference for Postgraduate Research, Universiti Malaysia Pahang.
- Nugroho, A., 2020, *Dibalik Kegagalan Uji Remdesivir: Bijak Mengenal Obat*, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia.
- Nurhidayanti, S., Faturrahman, dan Ghazali, M., 2015, Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice, *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*, **1**, (2); 24-30.
- Ozar, N., Meltem, M., Demet, A., Ayse E., I, and Hamdi, O., 1999, Simple, High-Yield Purification Of Xanthine Oxidase from Bovine Milk, *Journal Biochemistry*, **39**; 153-159.
- Palmer, T., 1985, *Understanding Enzyme*, Ellis Horwood publisher, New York.
- Pelczar M.J. and Chan, E.C.S., 2010, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1, Penerjemah; Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Terjemahan dari: Elements Of Microbiology, UI Press, Jakarta,
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, Penerbit UI-Press, Jakarta.
- Purwanto, M.G.M., 2014, Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektro UV-Visible, *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*, **7**, (2); 64-71.
- Puspita, E., 2007, *Studi Karakteristik Kitosanase dari Isolat Bacillus Licheniformis MB-2*, Skripsi tidak diterbitkan, Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rodwell, V.W., 2009, *Metabolisme Nukleotida Purin & Pirimidin*, Dalam: Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W. *Biokimia Harper*, Edisi 27, Terjemahan: Brahm U, EGC, Jakarta.

- Rohmat, M.L.H. dan Herdyastuti, N., 2021, Review Artikel: Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Xantin Oksidase, *UNESA Journal of Chemistry*, **10**, (1); 96-108.
- Rossa, D.M., Gambacorta, A., and Gliozzi, A., 1986, Structure, Biosynthesis, and Physicochemical Properties of Archaeobacterial Lipids, *Microbiological Reviews*, **50**; 70-80.
- Sari, P.S., Sitorus, S., dan Gunawan, R., 2018, Inhibisi Xantin Oksidase oleh Fraksi Etil Asetat Dari Daun Jarum Tujuh Bilah (*Pereskia Bleo* (Kunth) D.C) sebagai Antihiperurisemia, *Jurnal Atomik*, **3**, (2); 116-121.
- Saropah, A., Jannah, A., dan Maunatin, A., 2012, Kinetika Enzimatik Ekstrak Kasar Enzim Bakteri Isolatik Hasil Isolasi dari Bekatul, *Alchemystry*, **2**, (1); 34-45.
- Saryono, 2011, *Biokimia Enzim*, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Setya, R.A. dan Putra, S.R., 2011, *Identifikasi Biohidrogen secara Fermentatis dengan Kultur Campuran menggunakan Glukosa sebagai Substrat*, Prosiding Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Sharma, N.K., Thakur, S., Thakur, N., Savitri, and Bhalla, T.C., 2016, Thermostable Xanthine Oxidase Activity from *Bacillus pumilus RL-2d* Isolated from Manikaran Thermal Spring: Production and Characterization, *Indian Journal Microbiology*, **56**, (1), 88-98.
- Sianturi, D.K., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*, Tesis tidak diterbitkan, Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara Medan, Medan.
- Sudoyo, A.W., Bambang S., Idrus A., Marcellus S.K., dan Siti S., 2006, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sugiyono, Lintang, R.A.J., dan Sabe, R.A., 2003, *Penapisan dan Karakterisasi Protease Bakteri Termofilik Asal Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Sumardjo, D., 2008, *Pengantar Kimia*, Cetakan I, EGC, Jakarta.
- Susanti, E. dan Fibriana, F., 2017, *Teknologi Enzim*, Andi, Yogyakarta.
- Ueda, M. and Arai, M., 1992, Bioscience Biotechnology, *Biochemistry*, **56**, (3); 460-463.
- Unno, T., Sigimoto, A., and Kakuda, T., 2004, Xanthine Oxidase Inhibitors From the Leaves of *Langerstroemia Speciosa* (L.) Pers., *Journal of Ethnopharmacology*, **93**; 391-395.

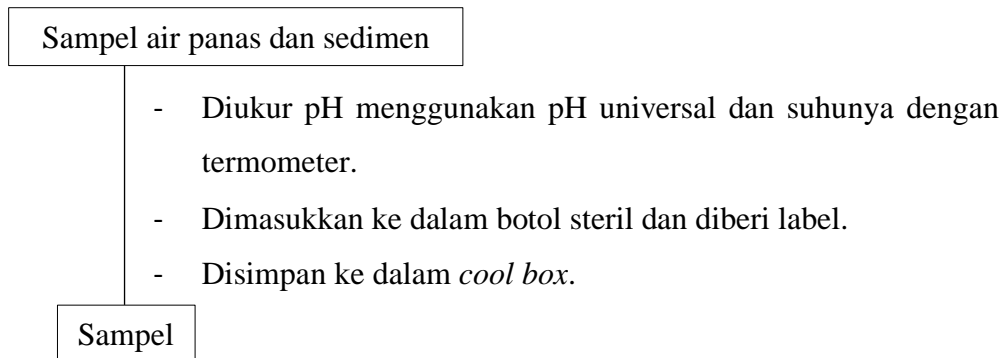
- Vielle, C. and Zeikus, G.J., 2001, Hyperthermophilic enzymes: Sources, Uses and Molecular Mechanism for Thermostability, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **65**.
- Wahyudi, P., Dwitiyanti, Bohir A.Q.Z., dan Nursyifa M., 2012, Uji Aktivitas Inhibitor Xantine Oksidase dari Ekstrak Polisakarida Jamur Tiram Putih, (*Pleurotus Ostreatus* (Jacq.) P. Kumm) dan Jamur Kancing, *Jurnal Farmasi*, **14**, (1); 29-42.
- Wallace KL, Riedel, A., Ridge, N.J., and Wortmann, R., 2004, Increasing Prevalence of Gout and Hyperuricemia Over 10 Years Among Older Adults in A Managed Care Population. *The Journal of Rheumatology*, **31**; 8.
- Waluyo, L., 2004, *Mikrobiologi Umum*, UMM press. Malang.
- Wilmana, F.W. dan Gan, S., 2007, *Analgesik-Antipiretik Analgesik-Antiinflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. Dalam Gunawan, G.S., Farmakologi dan Terapi, Edisi 5, Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1983, *Enzim Pangan*, Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1988, *Enzim pangan*, Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1993, *Pangan Gizi, Teknologi dan Konsumen*, Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Xin, Y., Yang, H., Xia, X., Zhang, L., Zhang, Y., Cheng, C., and Wang, W., 2012, Expression, Purification, and Partial Characterization of A Xanthine Oxidase (XOD) in *Arthrobacter* sp., *Process Biochemistry*, **47**, (2012); 1539-1544.
- Zilda, D.S., Fawzya, Y.N., dan Chasanah, E., 2006, Karakterisasi Enzim Kitosanase dari Bakteri Kitinolitik T5a1 yang Diisolasi dari Terasi, *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, **1**, (1); 43-50.

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



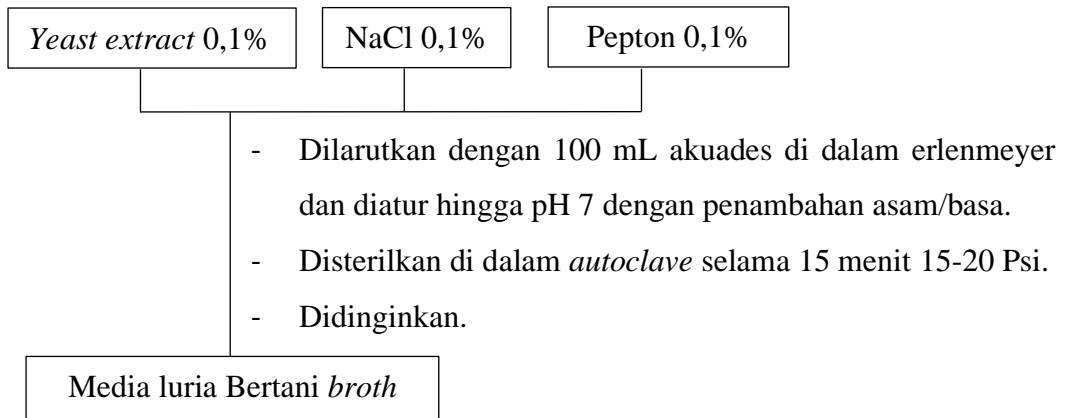
Lampiran 2. Bagan Kerja

1. Pengambilan Sampel

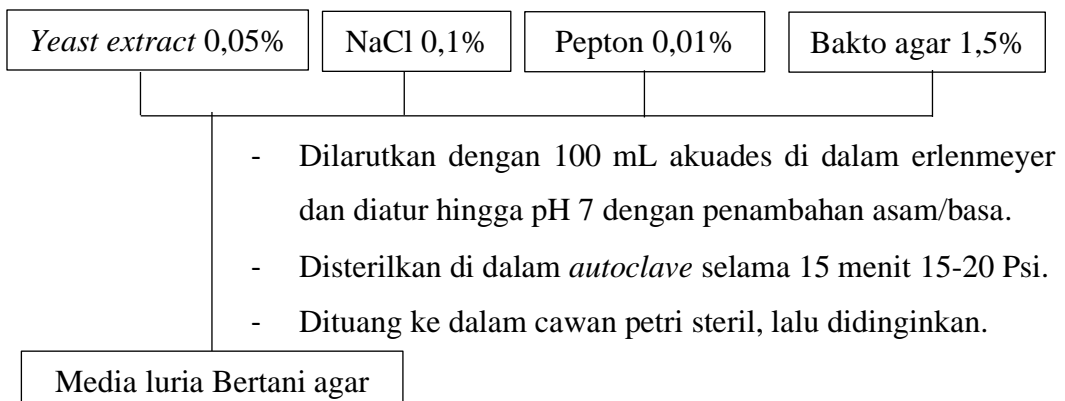


2. Pembuatan Media

2.1 Pembuatan Media Luria Bertani *Broth*



2.2 Pembuatan Media Luria Bertani Agar



2.3 Pembuatan Media Suplemen

Yeast extract 0,2%, NaCl 0,05%, pepton 1%, bakto agar 2%, KH_2PO_4 0,01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, dan CaCl_2 0,015%

- Dilarutkan dengan 100 mL akuades di dalam erlenmeyer dan diatur hingga pH 7 dengan penambahan asam/basa.
- Disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit 15-20 Psi.
- Dituang ke dalam cawan petri steril, lalu didinginkan.

Media suplemen

2.4 Pembuatan Media Selektif

Yeast extract 0,2%, NaCl 0,05%, pepton 1%, bakto agar 2%, KH_2PO_4 0,01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, CaCl_2 0,015%, dan xantin 0,5%

- Dilarutkan dengan 100 mL akuades di dalam erlenmeyer dan diatur hingga pH 7 dengan penambahan asam/basa.
- Disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit 15-20 Psi.
- Dituang ke dalam cawan petri steril, lalu didinginkan.

Media selektif

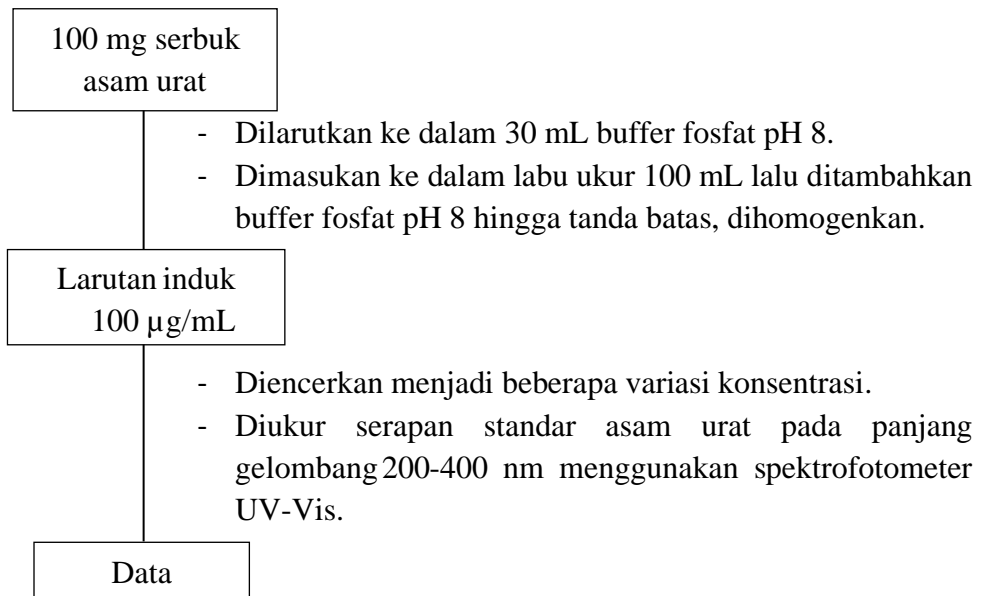
2.5 Pembuatan Media Inokulum dan Produksi

Yeast extract 0,2%, NaCl 0,05%, pepton 1%, KH_2PO_4 0,01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, CaCl_2 0,015%, dan xantin 0,5%

- Dilarutkan dengan akuades di dalam erlenmeyer dan diatur hingga pH 7 dengan penambahan asam/basa.
- Disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit 15-20 Psi.
- Didinginkan.

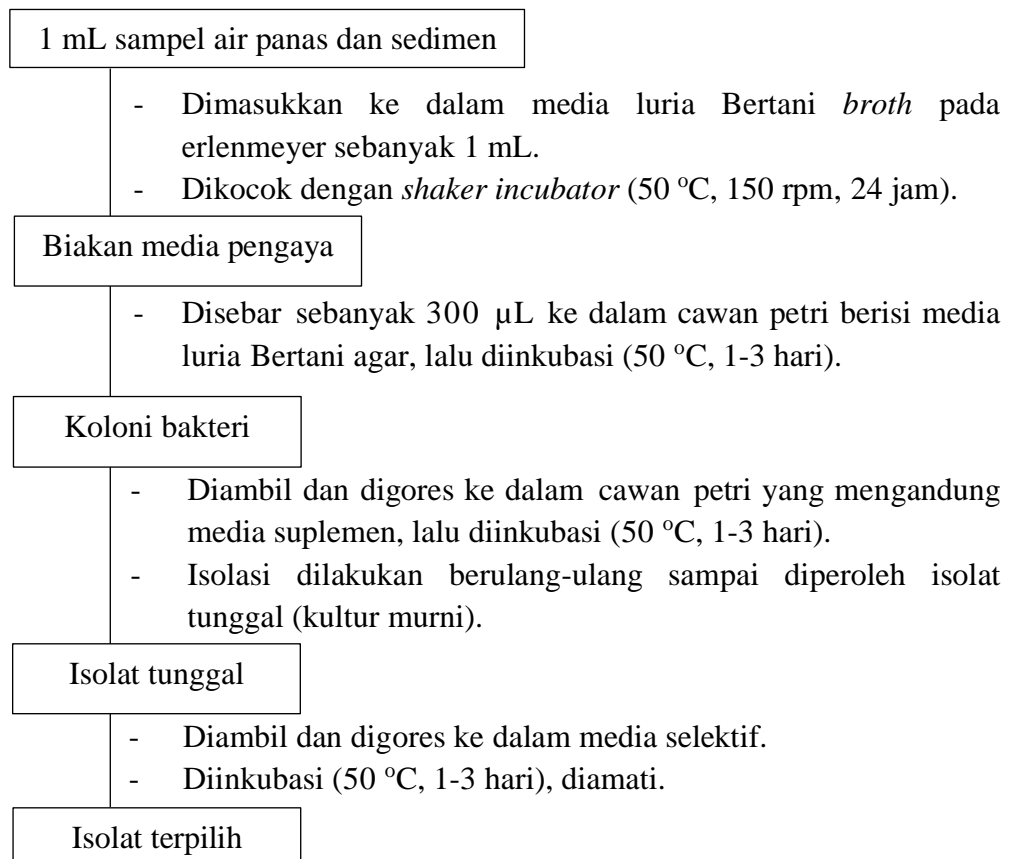
Media inokulum dan produksi

3. Pembuatan Larutan Standar Asam Urat dan Penentuan λ_{maks}

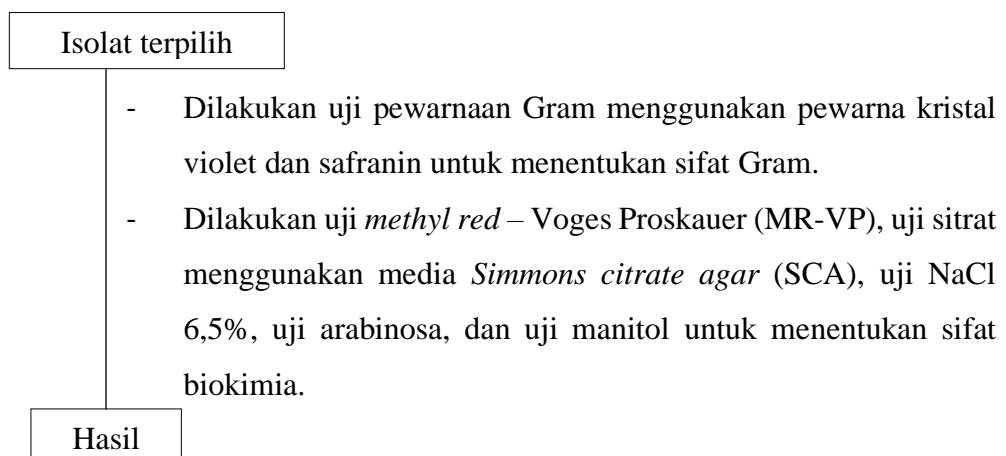


Catatan : Penentuan panjang gelombang maksimum ditentukan dengan membuat variasi konsentrasi standar asam urat 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 µg/mL.

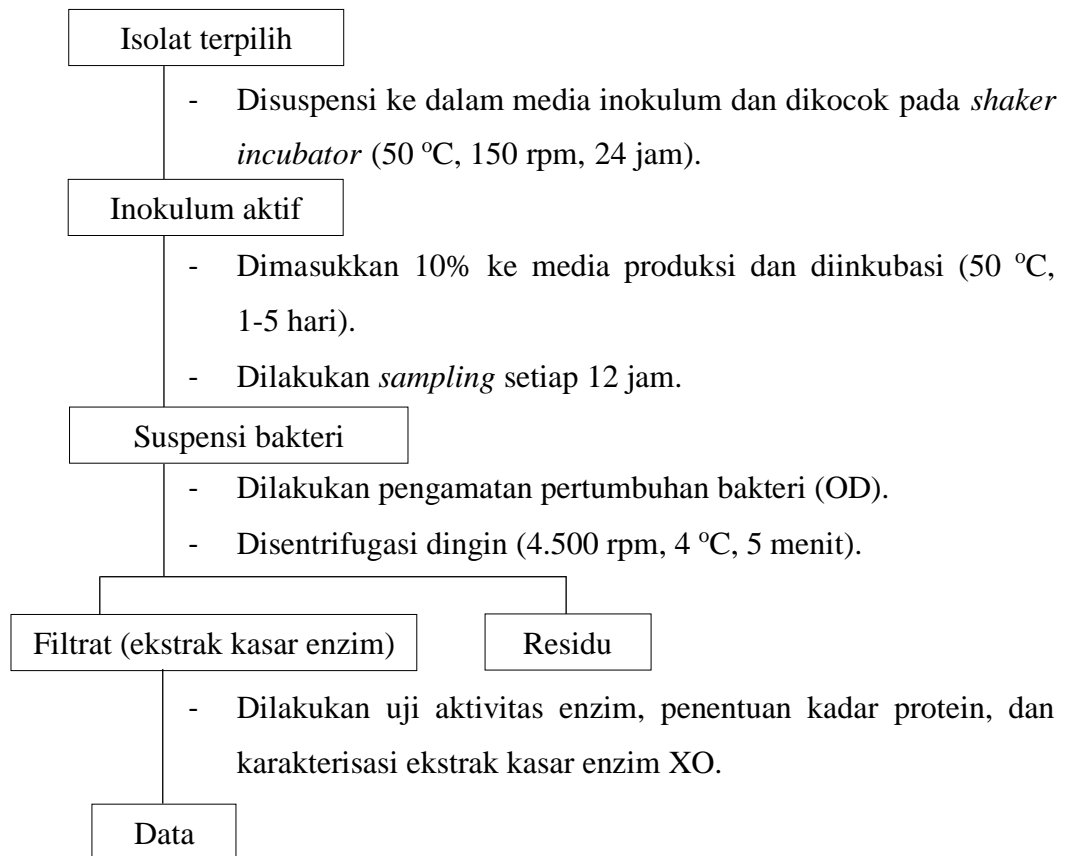
4. Isolasi dan Skrining Bakteri Termofilik



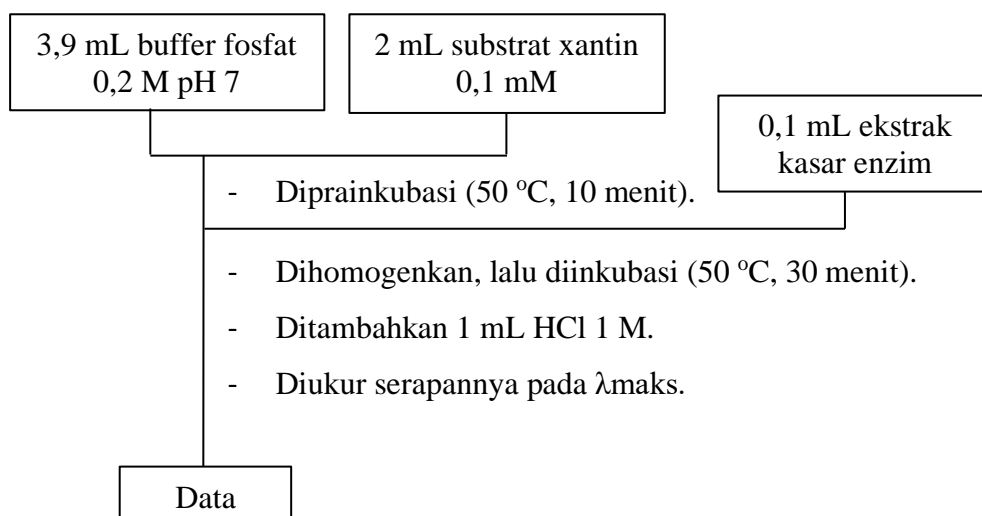
5. Karakterisasi Sifat Morfologi dan Biokimia Isolat Terpilih



6. Optimasi Produksi Enzim Xantin Oksidase

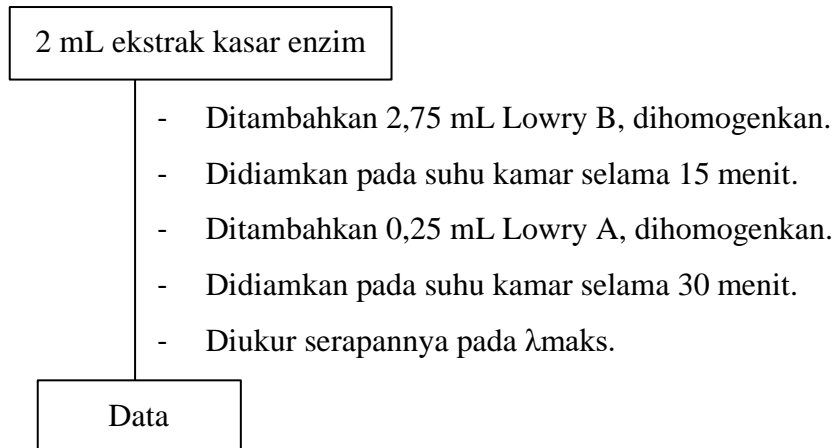


7. Uji Aktivitas Enzim Xantin Oksidase



Catatan: Asam urat dengan konsentrasi 0,25-4 μ g/mL digunakan sebagai larutan standar, sedangkan akuades digunakan sebagai kontrol.

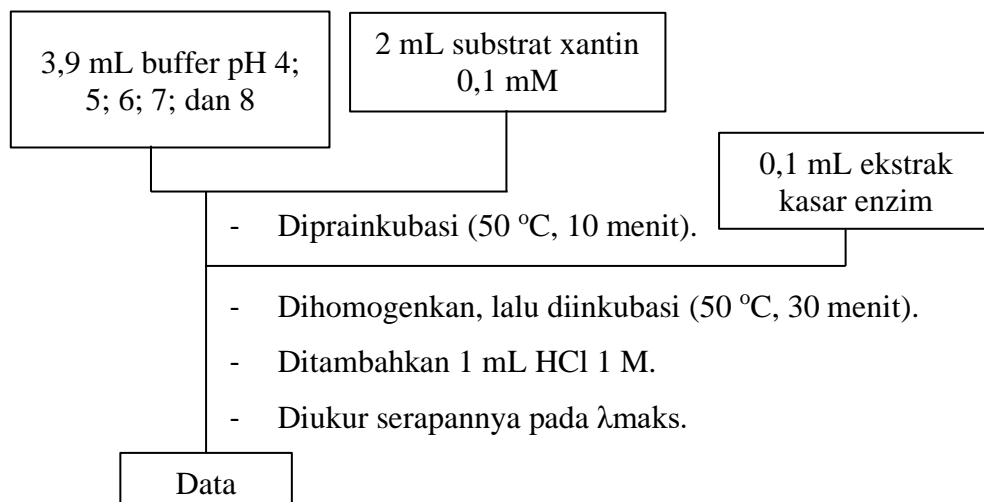
8. Penentuan Kadar Protein Enzim Xantin Oksidase



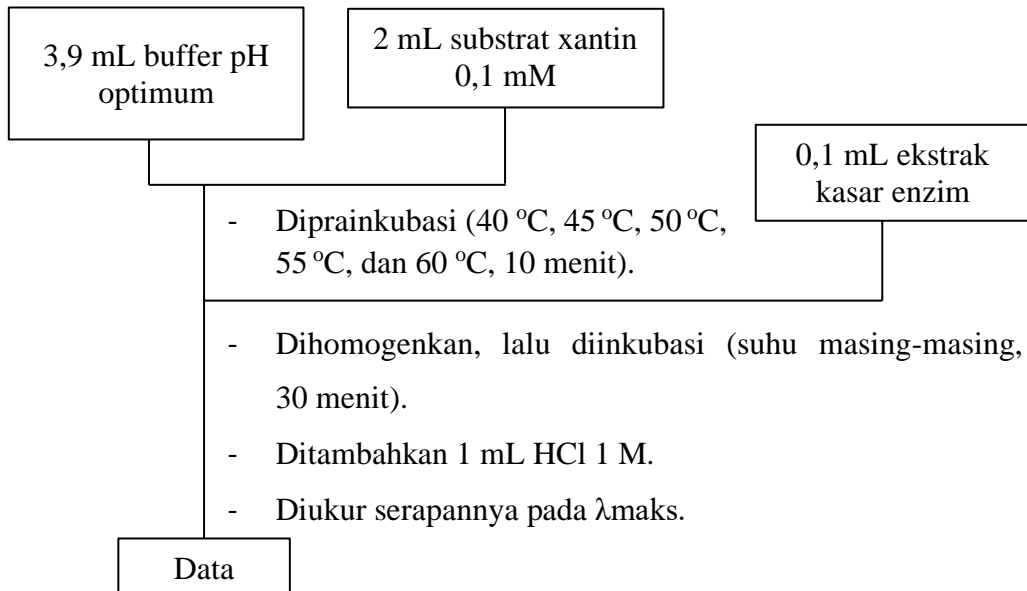
Catatan: Larutan standar protein menggunakan BSA (*bovine serum albumin*) pada kisaran konsentrasi 0,05-0,8 mg/mL dan akuades sebagai blanko. Dilakukan prosedur yang sama.

9. Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Xantin Oksidase

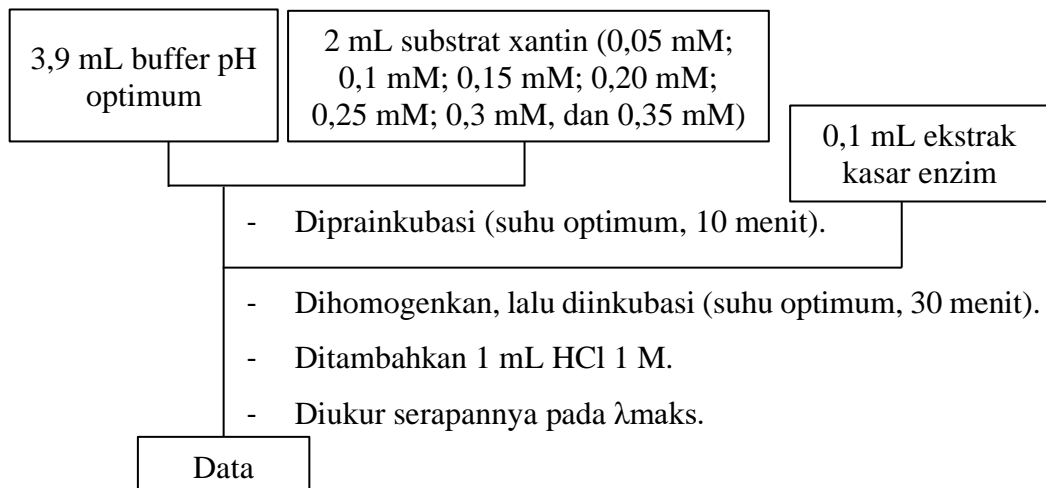
9.1 Penentuan pH Optimum



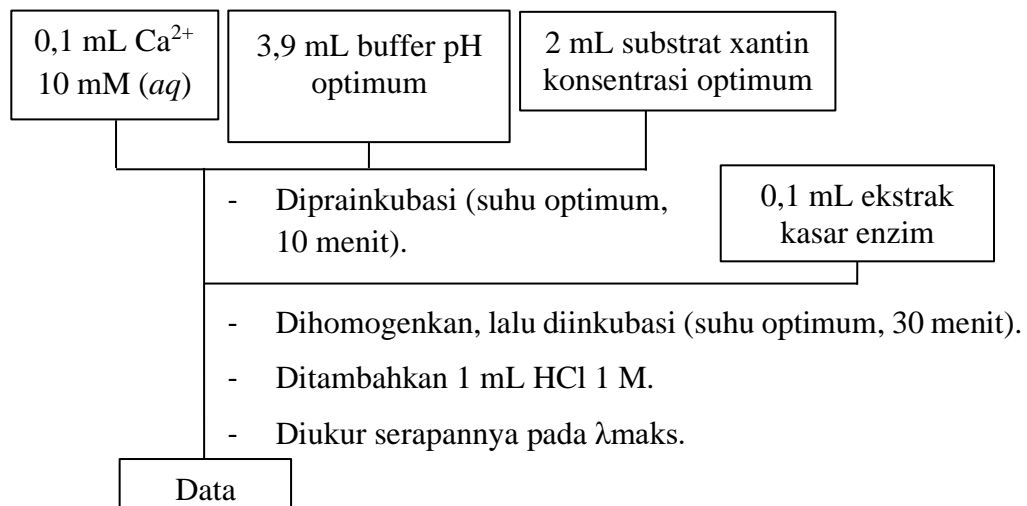
9.2 Penentuan Suhu Optimum



9.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

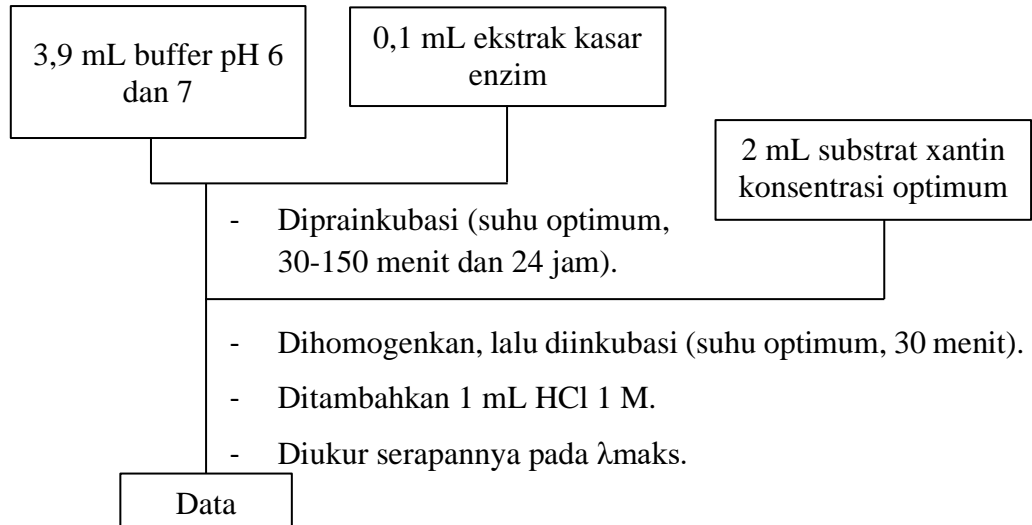


9.4 Penentuan Pengaruh Ion Logam

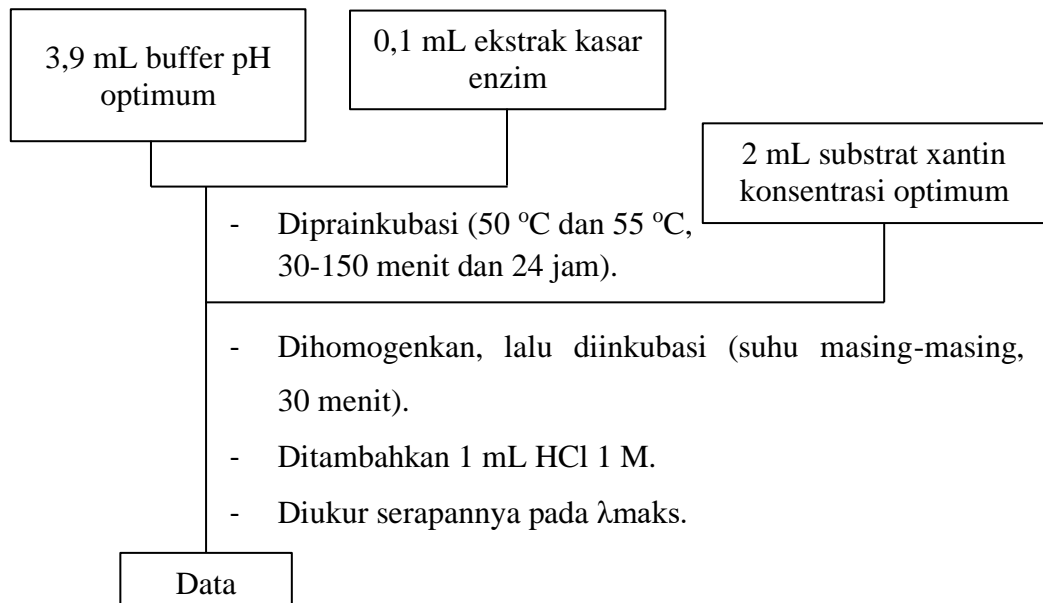


Catatan: Dilakukan prosedur yang sama pada masing-masing larutan logam Cu^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Na^+ , dan K^+ pada konsentrasi 10 mM dan 100 mM.

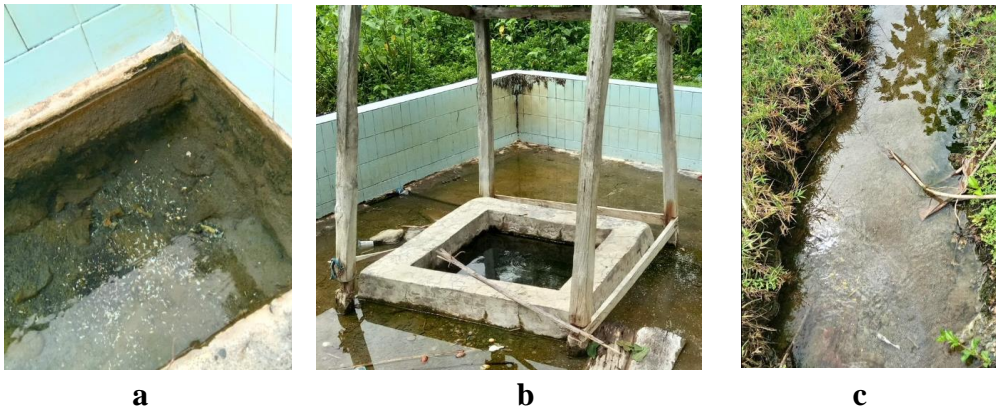
9.5 Penentuan Stabilitas pH



9.6 Penentuan Stabilitas Suhu



Lampiran 3. Lokasi Sumber Air Panas Panggo



Gambar 1. Titik lokasi 1 (a), 2 (b), dan 3 (c) pada sumber air panas Panggo



Lampiran 4. Tabel dan Perhitungan

1. Penentuan *Optical Density* (OD)

Tabel 1. *Optical Density* (OD) pada λ_{600}

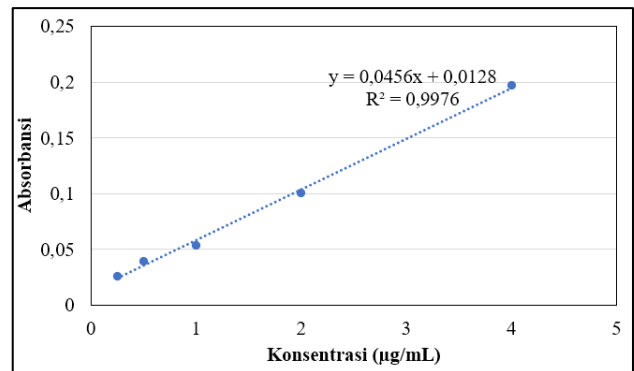
Waktu inkubasi (jam)	Absorbansi
0	0,7540
12	0,4920
24	0,6880
36	0,6380
48	0,6580
60	0,8400
72	1,0850
84	1,1090
96	1,1290
108	0,5740
120	0,1740

Diperoleh waktu optimum produksi pada jam ke-96 dengan nilai OD sebesar 1,129.

2. Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim XO

Tabel 2. Absorbansi standar asam urat pada λ_{291}

Konsentrasi standar asam urat ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
0,25	0,0260
0,5	0,0390
1	0,0540
2	0,1010
4	0,1970



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi standar asam urat ($\mu\text{g/mL}$) terhadap absorbansi pada λ_{291}

Aktivitas enzim xantin oksidase dapat dihitung berdasarkan persamaan (1) dan (2) berikut:

$$[\text{Asam urat}] (\mu\text{g/mL}) = \frac{(A \text{ sampel} - A \text{ kontrol}) - \text{Intercept}}{\text{Slope}} \quad (1)$$

$$\text{Aktivitas Enzim} \left(\frac{U}{\text{mL}} \right) = \frac{[\text{Asam urat}] \times V \text{ total}}{\text{Mr Asam urat} \times t \times V \text{ enzim}} \quad (2)$$

Keterangan: A sampel	= Absorbansi sampel
A kontrol	= Absorbansi sampel tanpa enzim
V total	= Volume enzim + substrat + buffer + HCl (mL)
t	= Waktu inkubasi (menit)
1 Unit	= Jumlah enzim yang mengatalisis 1 μmol substrat per menit pada kondisi tertentu

Contoh perhitungan aktivitas enzim XO pada inkubasi waktu 96 jam:

$$y = 0,0456x + 0,0128$$

$$\begin{aligned} [\text{Asam urat}](\mu\text{g/mL}) &= \frac{(A \text{ sampel} - A \text{ kontrol}) - \text{Intercept}}{\text{Slope}} \\ &= \frac{(0,1370 - 0,0370) - 0,0128}{0,0456} \\ &= 1,9123 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} \left(\frac{\text{U}}{\text{mL}} \right) &= \frac{[\text{Asam urat}] \times V \text{ total}}{\text{Mr Asam urat} \times t \times V \text{ enzim}} \\ &= \frac{1,9123 \mu\text{g/mL} \times 7 \text{ mL}}{168 \mu\text{g}/\mu\text{mol} \times 30 \text{ menit} \times 0,1 \text{ mL}} \\ &= 0,0266 \text{ U/mL} \end{aligned}$$

Tabel 3. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO per waktu inkubasi

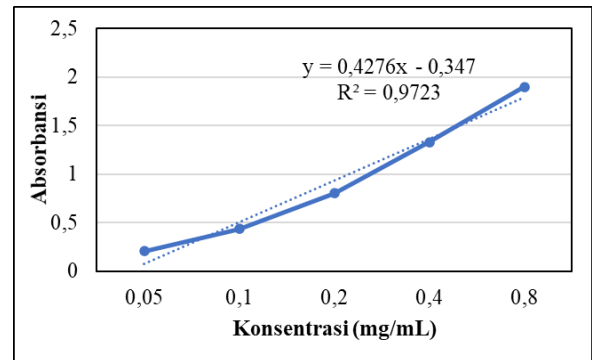
Waktu inkubasi (Jam)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	[Asam urat] ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas (U/mL)
12	0,1190	0,0370	1,5175	0,0211
24	0,1180	0,0370	1,4956	0,0208
36	0,1185	0,0370	1,5066	0,0209
48	0,1190	0,0370	1,4737	0,0211
60	0,1250	0,0370	1,6491	0,0229
72	0,1285	0,0370	1,7259	0,0240
84	0,1330	0,0370	1,8246	0,0253
96	0,1370	0,0370	1,9123	0,0266
108	0,1270	0,0370	1,6930	0,0235
120	0,1180	0,0370	1,4956	0,0208

Diperoleh aktivitas tertinggi pada jam ke-96 yaitu sebesar 0,0266 U/mL.

3. Penentuan Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim XO

Tabel 4. Serapan standar BSA pada λ_{601}

Konsentrasi Standar BSA (mg/mL)	Absorbansi
0,05	0,2090
0,1	0,4360
0,2	0,8040
0,4	1,3300
0,8	1,9000



Gambar 4. Kurva hubungan konsentrasi BSA terhadap absorbansi pada λ_{601}

Perhitungan kadar protein enzim ditentukan berdasarkan persamaan (3) dan (4) berikut:

$$y = ax + b \quad (3)$$

$$x = \frac{y - b}{a} \times FP \quad (4)$$

Keterangan: y = Absorbansi

b = *Intercept*

x = Kadar protein (mg/mL)

FP = Faktor pengenceran

a = *Slope*

Contoh perhitungan kadar protein dan aktivitas spesifik pada waktu inkubasi 96 jam:

$$y = 0,4276x - 0,3470$$

$$x = \frac{y + 0,3470}{0,4276}$$

$$x = \frac{0,2360 + 0,3470}{0,4276}$$

$$= 1,3634$$

$$\text{Kadar protein} = x \times FP = 1,3634 \times 10 = 13,6342 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{\text{Aktivitas enzim (U/mL)}}{\text{Kadar protein (mg/mL)}}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{0,0266 \text{ U/mL}}{13,6342 \text{ mg/mL}} = 0,0020 \text{ U/mg}$$

Tabel 5. Kadar protein dan aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim XO

Waktu inkubasi (Jam)	Absorbansi (y)	x	FP	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
12	0,2350	1,3611	10	13,6109	0,0211	0,0016
24	0,2630	1,4266	10	14,2657	0,0208	0,0015
36	0,2740	1,4523	10	14,5229	0,0209	0,0014
48	0,2870	1,4827	10	14,8269	0,0211	0,0014
60	0,2530	1,4032	10	14,0318	0,0229	0,0016
72	0,2860	1,4804	10	14,8036	0,0240	0,0016
84	0,2420	1,3775	10	13,7746	0,0253	0,0018
96	0,2360	1,3634	10	13,6342	0,0266	0,0020
108	0,3200	1,5599	10	15,5987	0,0235	0,0015
120	0,3800	1,7002	10	17,0019	0,0208	0,0012

Diperoleh aktivitas spesifik tertinggi pada jam ke-96 yaitu sebesar 0,002 U/mg.

4. Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim XO

a. Penentuan pH Optimum

Tabel 6. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi pH

Variasi pH	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	[Asam urat] ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas (U/mL)
4	0,1050	0,0160	1,6711	0,0232
5	0,1130	0,0220	1,7149	0,0238
6	0,1260	0,0310	1,8026	0,0250
7	0,1390	0,0390	1,9123	0,0266
8	0,1290	0,0390	1,6930	0,0235

Diperoleh aktivitas tertinggi pada pH 7 yaitu sebesar 0,0266 U/mL.

b. Penentuan Suhu Optimum

Tabel 7. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi suhu

Variasi suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	[Asam urat] ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas (U/mL)
40	0,1310	0,0350	1,8246	0,0253
45	0,1420	0,0260	2,2632	0,0314
50	0,1570	0,0330	2,4386	0,0339
55	0,1470	0,0300	2,2851	0,0317
60	0,1370	0,0310	2,0439	0,0284

Diperoleh aktivitas tertinggi pada suhu 50 $^{\circ}\text{C}$ yaitu sebesar 0,0339 U/mL.

c. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Tabel 8. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi konsentrasi substrat

Variasi konsentrasi (mM)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	[Asam urat] (µg/mL)	Aktivitas (U/mL)
0,05	0,1640	0,0370	2,5044	0,0348
0,1	0,1660	0,0380	2,5263	0,0351
0,15	0,1790	0,0480	2,5921	0,0360
0,2	0,1960	0,0610	2,6798	0,0372
0,25	0,1908	0,0560	2,6754	0,0372
0,3	0,1897	0,0550	2,6721	0,0371
0,35	0,1866	0,0520	2,6711	0,0371

Diperoleh aktivitas tertinggi pada konsentrasi substrat xantin 0,2 mM yaitu sebesar 0,0372 U/mL.

d. Penentuan Pengaruh Penambahan Ion Logam

Tabel 9. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi ion logam

Variasi ion logam klorida	Konsentrasi (mM)	Selisih absorbansi	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas relatif (%)
Kontrol	-	0,1350	0,0378	100,00
K ⁺	10 mM	0,0870	0,0229	60,72
	100 mM	0,0790	0,0205	54,17
Na ⁺	10 mM	0,1390	0,0390	103,27
	100 mM	0,1870	0,0538	142,55
Mg ²⁺	10 mM	0,1360	0,0381	100,82
	100 mM	0,1500	0,0424	112,27
Ca ²⁺	10 mM	0,1400	0,0393	104,09
	100 mM	0,1550	0,0439	116,37
Ba ²⁺	10 mM	0,0860	0,0226	59,90
	100 mM	0,1010	0,0272	72,18
Co ²⁺	10 mM	0,0890	0,0235	62,36
	100 mM	0,0710	0,0180	47,63
Zn ²⁺	10 mM	0,0880	0,0232	61,54
	100 mM	0,1020	0,0276	73,00

Contoh perhitungan aktivitas relatif (%) KCl (K⁺) pada konsentrasi 10 mM:

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas dengan KCl}}{\text{Aktivitas kontrol (tanpa logam)}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0229}{0,0378} \times 100\% = 60,72\%
 \end{aligned}$$

e. Penentuan Stabilitas pH

Tabel 10. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi pH dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	pH 6		pH 7	
	Absorban	Aktivitas (U/mL)	Absorban	Aktivitas (U/mL)
0	0,1800	0,0509	0,2330	0,0671
30	0,1720	0,0485	0,2210	0,0634
60	0,1590	0,0445	0,2080	0,0595
90	0,1460	0,0406	0,1930	0,0549
120	0,1400	0,0387	0,1500	0,0418
150	0,1390	0,0384	0,1490	0,0415
24 Jam	0,1330	0,0366	0,1450	0,0403

Contoh perhitungan aktivitas relatif (%) stabilitas pH 7 pada waktu inkubasi 0 menit ke 150 menit:

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas xantin oksidase 150 menit}}{\text{Aktivitas xantin oksidase 0 menit}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0415}{0,0671} \times 100\% \\ &= 61,85\%\end{aligned}$$

Aktivitas enzim XO menurun 38% setelah diinkubasi 150 menit.

Perhitungan aktivitas relatif (%) stabilitas pH 7 pada waktu inkubasi 0 menit ke 30 menit:

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas xantin oksidase 30 menit}}{\text{Aktivitas xantin oksidase 0 menit}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0634}{0,0671} \times 100\% \\ &= 94,48\%\end{aligned}$$

Aktivitas enzim XO menurun 5,5% setelah diinkubasi 30 menit.

f. Penentuan Stabilitas Suhu

Tabel 11. Aktivitas ekstrak kasar enzim XO pada variasi suhu dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	50 °C		55 °C	
	Absorban	Aktivitas (U/mL)	Absorban	Aktivitas (U/mL)
0	0,2330	0,0671	0,1750	0,0494
30	0,2210	0,0634	0,1590	0,0445
60	0,2080	0,0595	0,1520	0,0424
90	0,1930	0,0549	0,1460	0,0406
120	0,1500	0,0418	0,1400	0,0387
150	0,1490	0,0415	0,1380	0,0381
24 Jam	0,1450	0,0403	0,1200	0,0327

Contoh perhitungan aktivitas relatif (%) stabilitas suhu 55 °C pada waktu inkubasi 0 menit ke 150 menit:

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas xantin oksidase 150 menit}}{\text{Aktivitas xantin oksidase 0 menit}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0327}{0,0494} \times 100\% \\ &= 66,19\%\end{aligned}$$

Aktivitas enzim XO menurun 33,8% setelah diinkubasi 150 menit.

Perhitungan aktivitas relatif (%) stabilitas pH 7 pada waktu inkubasi 0 menit ke 30 menit:

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas xantin oksidase 30 menit}}{\text{Aktivitas xantin oksidase 0 menit}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0445}{0,0494} \times 100\% \\ &= 90,08\%\end{aligned}$$

Aktivitas enzim XO menurun 9,9% setelah diinkubasi 30 menit.

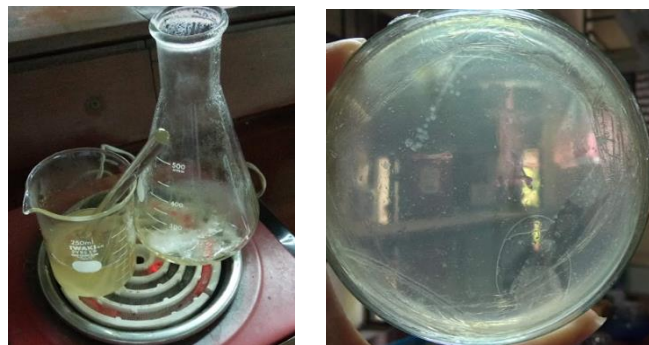
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Proses *sampling* pada titik pengambilan sampel air panas (Sumber Air Panas Panggo, Kabupaten Sinjai)

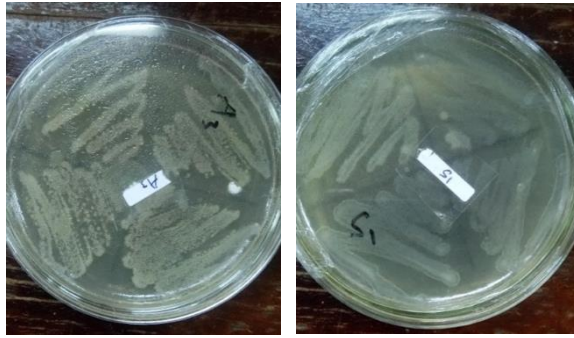


Sampel air panas yang dikultur pada media pengaya (LB *broth*) 100 mL sebanyak 6 erlenmeyer (sesuai jumlah sampel)



Pembuatan media padat pertumbuhan dan hasil pertumbuhan bakteri pada media padat

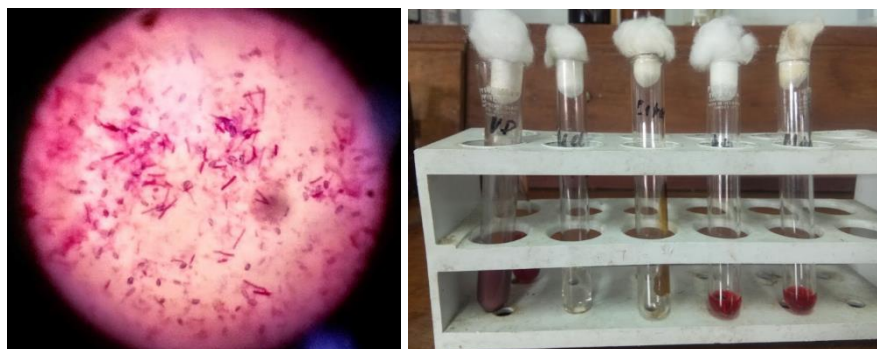




Pembuatan media suplemen dan hasil peremajaan bakteri di media padat suplemen



Hasil peremajaan bakteri pada media selektif, didapatkan titik A3 dan A31 yang memiliki aktivitas xantinolitik



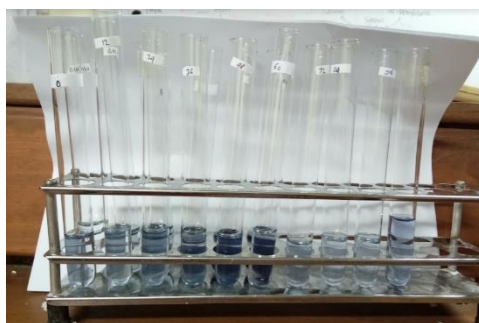
Uji pewarnaan Gram dan uji biokimia sederhana



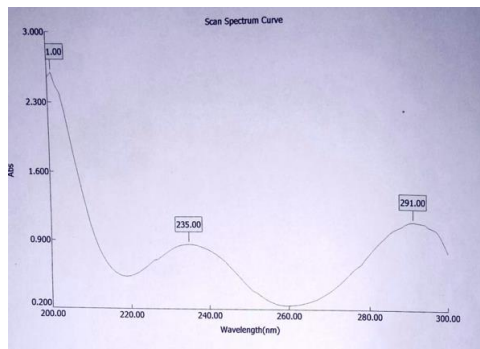
Optimasi produksi enzim XO dan penentuan *optical density* (OD)



Sentrifugasi dingin untuk memperoleh ekstrak kasar enzim XO



Pengukuran kadar protein pada λ_{601}



No.	P/V	Wavelength(nm)	Abs	Comment
1	Peak	291.00	1.092	
2	Peak	235.00	0.864	
3	Peak	201.00	2.599	

Penentuan panjang gelombang maksimum standar asam urat dan pengukuran aktivitas XO dengan spektrofotometer uv-vis





Karakterisasi ekstrak kasar enzim XO