


Aktivitas Enzim *Superoksida Dismutase (SOD)* Ekstrak Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus L.*) Dengan Metode *Water Soluble Tetrazolium Salt-1*

Annisa Nurdinia Sari ^{a, 1*}, Ana Indrayati ^{b, 2}, Vivin Nopiyantri ^{c, 3}

^{a,b,c}Universitas Setia Budi, Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah dan 57127

¹ 24185609a@setiabudi.ac.id*; ² anaindrayati@setiabudi.ac.id; ³ vivinapoteker@gmail.com

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Sejarah artikel: Diterima : 20-01-2023 Revisi : 02-11-2023 Disetujui : 10-11-2023</p> <p>Kata kunci: <i>Amaranthus hybridus L.</i> SOD <i>Lowry</i> WST-I</p>	<p>Radikal bebas merupakan molekul, atom atau gugus yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital atomnya. Superoksida dismutase (SOD) merupakan metaloenzim yang mengkatalisis reduksi radikal anion superoksida (O₂) menjadi hidrogen peroksida (H₂O₂) dan oksigen (O₂). Salah satu tanaman yang memiliki SOD adalah bayam hijau (<i>Amaranthus hybridus L.</i>). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar protein total dan persen inhibisi ekstrak kasar SOD bayam hijau pada konsentrasi presipitasi amonium sulfat 25, 50, 75, 100% serta mengetahui nilai persen inhibisi dari konsentrasi presipitasi amonium sulfat yang optimum. Tahapan penelitian diawali dengan determinasi tanaman dan pengambilan sampel bayam hijau. Ekstraksi enzim SOD dengan cara diblender dalam larutan PBS dan disentrifugasi. Pemurnian enzim SOD dengan metode presipitasi amonium sulfat. Penetapan kadar protein total ekstrak enzim SOD dengan metode <i>Lowry</i>. Pengukuran aktivitas SOD dilakukan dengan cara mengukur nilai persen inhibisi menggunakan <i>Superoksida Dismutase Activity Assay Kit WST-I</i>. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak kasar SOD memiliki kadar protein total sebesar 7,77 mg/ml dan kadar protein total presipitasi amonium sulfat secara berturut-turut nilainya 2,54; 3,28; 4,55; dan 9,11 mg/ml. Nilai persen inhibisi ekstrak kasar sebesar 71,66 %; presipitasi amonium sulfat berturut-turut 29,99; 66,66; 72,22; dan 74,99 % dengan nilai persen inhibisi konsentrasi yang optimum adalah konsentrasi 100 %.</p>
<p>Key word: <i>Amaranthus hybridus L.</i> SOD <i>Lowry</i> WST-I</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Free radicals are molecules, atoms or groups that have unpaired electrons in their atomic orbitals. Superoxide dismutase (SOD) is a metalloenzyme that catalyzes the reduction of superoxide anion radicals (O₂) to hydrogen peroxide (H₂O₂) and oxygen (O₂). One of the plants that have SOD is green spinach (<i>Amaranthus hybridus L.</i>). This study aimed to determine the total protein content and the percentage inhibition of crude bayam hijau SOD extract at an ammonium sulfate precipitation concentration of 25, 50, 75, 100 % and determine the percentage of inhibition of the optimal concentration of ammonium sulfate precipitation. The research stage begins with plant determination and green spinach samples. The extraction of the SOD enzyme by performed by adding PBS and centrifuging. The purification of the SOD enzyme using ammonium sulfate precipitation method. Determination of the total protein of the SOD enzyme extract by the Lowry method. SOD activity was carried out by measuring the percent inhibition value using the <i>Superoxide Dismutase Activity Assay Kit WST-I</i>. The result showed that the total protein content of the crude extract was 7,77 mg/ml and the ammonium sulfat precipitation were 25, 50, 75, and 100 % respectively 2,54; 3,28; 4,55; and 9,11 mg/ml. The percent inhibition values were 71,66 %; ammonium sulfate precipitation respectively 29,99; 66,66; 72,22; and 74,99 %, the optimum concentration being a concentration of 100 %.</p>  <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p>

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan satu atau lebih. Elektron tanpa pasangan ini bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Pembentukan radikal bebas melalui 2 cara, yaitu secara eksogen dan endogen. Radikal bebas eksogen merupakan bentuk dari sisa metabolisme protein, lemak pada mitokondria, karbohidrat, pada kondisi iskemia, serta proses inflamasi. Radikal bebas eksogen merupakan radikal yang diperoleh dari luar tubuh seperti makanan, polusi, dan injeksi. Radikal bebas endogen terbentuk akibat respon normal dari rantai peristiwa dalam tubuh (Irianti *et al*, 2021). Antioksidan yang memiliki pertahanan yang sangat penting dalam melawan stres oksidatif dalam tubuh adalah superoksida dismutase (SOD). Enzim ini memiliki mekanisme pertahanan sel secara eksogen maupun endogen, memiliki potensi dalam pengobatan, menutrisi tubuh, serta mampu meningkatkan kemampuan obat dalam mengobati penyakit. Superoksida dismutase (SOD) dalam dunia kefarmasian memiliki manfaat sebagai pencegah perubahan sel akibat prakanker, serta dapat digunakan sebagai agen anti inflamasi. SOD digunakan juga dalam bidang kosmetik sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam mengurangi radikal bebas, serta digunakan sebagai anti-aging, membantu dalam penyembuhan luka, mencegah keriput, mengurangi tanda-tanda penuaan dini, garis halus, dan melindungi dari paparan sinar UV. Khasiat lain dari enzim ini dalam membantu masalah kesehatan manusia seperti sindrom nyeri pasca kolesistektomi, cystic fibrosis, sindrom nefrotik sensitif steroid, serta gangguan sel darah merah (Islam *et al*, 2021) (Younus *et al*, 2018).

Pemurnian parsial enzim SOD menggunakan metode presipitasi amonium sulfat. Metode presipitasi memiliki prinsip dengan penambahan pelarut organik, garam, atau asam ke sampel yang akan diteliti (Perez dan Prakash, 2020). Penelitian ini menggunakan konsentrasi amonium sulfat 25, 50, 75, dan 100%. Konsentrasi tersebut diambil dari penelitian yang dilakukan oleh Rahman *et al*. (2012), yang mengisolasi enzim SOD dari mesokarp buah merah dengan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 25, 50, 75, dan 100%. Pada penelitian tersebut konsentrasi yang menghasilkan aktivitas SOD yang paling optimal dari ekstrak kasar adalah konsentrasi 75%, dan konsentrasi 25, maupun 50%. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas SOD adalah bayam hijau. Bayam hijau dipilih karena pada penelitian yang dilakukan oleh Sharma S *et al*. (2014), aktivitas SOD yang isolasi dari biji *Amaranthus spinosus* memiliki aktivitas yang spesifik sebesar 0,54 unit/mg. Tujuan dari penelitian, yaitu pertama untuk mengetahui kadar protein total ekstrak kasar SOD yang diperoleh dari

bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) pada presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75, 100%. Kedua, untuk mengetahui nilai persentase inhibisi ekstrak kasar SOD dari bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) dan pada presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75, 100%. Ketiga, untuk mengetahui persentase inhibisi yang optimum dari ekstrak kasar SOD bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) dari presipitasi amonium sulfat

Metode

Secara umum, metode berisi tentang tindakan yang akan diobservasi, bagaimana observasi dilakukan termasuk waktu, lama, dan tempat dilakukannya observasi, bahan dan alat yang digunakan, metode untuk memperoleh data/informasi, serta cara pengolahan data dan analisis yang dilakukan. Metode harus dijelaskan secara lengkap agar peneliti lain dapat melakukan uji coba ulang. Acuan (referensi) diberikan pada metode yang kurang dikenal

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus), pH meter (Eutech), blender (Maspion), gelas ukur (Iwaki), kulkas (Sharp), *centrifuga* (, botol jar, tabung *centrifuge*, *magnetic stirrer*, *beaker glass* (Pyrex), labu ukur (Pyrex), vial, pipet volume (Iwaki), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *plate 96 well*, dan *microplate reader*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu hitam, PBS, aquabidest, amonium sulfat, 2% Na₂CO₃, NaOH 0,10 N, 0,5% CuSO₄.5H₂O, 1% Natrium Kalium Tartrat, reagen *Folin-Ciocalteu phenol*, *Bovine Serum Albumin* (BSA), larutan WST, *dapar assay*, larutan enzim, dan vitamin C.

2. Jalannya Penelitian

Penelitian diawali dengan determinasi tanaman di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Obat dan Obat Tradisional (B2P2OOT). Ekstraksi dilakukan dengan cara sampel sebanyak 30 gram dihomogenisasi menggunakan blender dengan menambahkan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,2 sebanyak 200 ml dan dibiarkan selama semalaman pada suhu 4°C. setelah itu, filtrat disaring serta disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan diambil supernatannya yang merupakan ekstrak kasar. Selanjutnya pemurnian parsial ekstrak kasar SOD menggunakan presipitasi amonium sulfat. Presipitasi amonium sulfat yang digunakan, yaitu 25, 50, 75, dan 100%. Masing-masing konsentrasi sebanyak 4,02 gram, 8,73 gram, 14,28 gram, dan 20,91 gram sedikit demi sedikit ditambahkan kedalam ekstrak kasar 30 ml menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 4°C .

Kemudian larutan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 10.000 rpm disuhu 4°C serta dipisahkan antara pelet dan supernatnya. Pelet yang dihasilkan ditambahkan PBS dengan perbandingan 1:2.

Penetapan kadar protein total pada penelitian ini menggunakan metode Lowry. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak SOD bayam hijau menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium Salt-1* (WST-1). Aktivitas SOD dapat dihitung menggunakan persen inhibisi. Kadar protein total ekstrak bayam hijau dianalisis menggunakan persamaan regresi linier. Sedangkan, aktivitas SOD ekstrak bayam hijau dianalisis menggunakan *microplate reader* dengan menghitung persen inhibisinya. Kemudian data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS versi 26 menggunakan metode One-way ANOVA.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini adalah melakukan determinasi pada tanaman bayam hijau. Determinasi bertujuan untuk menentukan kebenaran dari sampel bayam hijau berdasarkan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, menghindari kemungkinan bercampurnya bahan lain pada tanaman, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman bayam hijau sesuai kepustakaan yang dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Merujuk surat No. KM.04.02/2/1576/2022 tanggal 1 September 2022, dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman bayam hijau. Hasil determinasi yang diperoleh dari tanaman segar tersebut merupakan spesies *Amaranthus hybridus* L. dengan famili *Amaranthaceae*.

Pengambilan sampel penelitian menggunakan tanaman bayam hijau yang diperoleh dari daerah Krasaksari, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Bagian yang digunakan dari bayam hijau adalah bagian batang dan daunnya. Bayam hijau diambil secara acak, bebas penyakit, tidak rusak maupun busuk, dan segar pada bulan Agustus 2022. Pemanenan bayam hijau pada saat umur 3-4 minggu setelah penanaman.

Ekstraksi SOD bayam hijau. Ekstraksi suatu enzim memiliki tujuan, yaitu untuk mengeluarkan enzim dari dalam sel jaringan yang terdapat dalam tanaman, hewan, ataupun bakteri yang akan diteliti. Ekstraksi enzim SOD bayam hijau diperoleh hasil supernatan sebanyak 200 ml dan pelet 2,9636 gram dari 30 gram bayam hijau dan PBS 200 ml. Ekstraksi SOD diperoleh dari bayam hijau dengan cara mengeluarkan enzim dari jaringan pada tanaman secara fisik, yaitu diblender untuk mengeluarkan enzim dari jaringan pada tanaman tersebut secara fisik

dengan penambahan larutan dapar fosfat salin (PBS) pH 7,2 yang mengandung fosfat 0,02 M dan NaCl 0,15 M. fosfat pada PBS berfungsi untuk mempertahankan konsentrasi larutan pada pH konstan, sedangkan NaCl berfungsi untuk membantu larutan PBS dalam mencuci sel (Sultan *et al*, 2017). Penambahan dapar pada proses ekstraksi memiliki tujuan untuk mempertahankan kondisi komponen sel tetap optimum, seperti keadaan yang sebenarnya serta tidak mengalami suatu perubahan. Penggunaan PBS dalam penelitian ini dikarenakan memiliki sifat tidak mengganggu kinerja enzim dalam interaksi antara pengikatan protein. Sebelum diblender bayam hijau dipotong kecil-kecil terlebih dahulu untuk mempermudah dalam proses pemblederan. Proses pemblederan dimaksudkan untuk memisahkan komponen dan kompartemen sel secara kasar sehingga dapat mempermudah dalam proses homogenisasi (Arijito, 2009). Komponen protein yang terdapat dalam sel akan dipisahkan dengan komponn non-protein dengan cara disaring dan filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan disentrifugasi dengan kecepatan serta waktu tertentu (Puspitasari & Wuryanti, 2010). Sebelum penyaringan, bayam hijau dibiarkan selama semalaman pada suhu 4°C setelah homogenisasi. Hal ini bertujuan untuk mengendapkan sisa-sisa serat bayam hijau, sedangkan suhu 4°C bertujuan untuk mempertahankan agar enzim tidak rusak atau terdenaturasi Sentrifugasi dilakukan dengan 10.000 rpm agar menghasilkan serat enzim yang pekat. Proses sentrifugasi memiliki tujuan untuk memisahkan supernatan yang diduga merupakan ekstrak kasar enzim dengan sisa-sisa serat pada bayam hijau. Proses sentrifugasi dilakukan pada suhu rendah agar aktivitas enzim dapat dijaga semaksimal mungkin (Masruroh *et al*, 2018).. Filtrat dari proses sentrifugasi akan menghasilkan dua bagian yang berbeda, yaitu supernatan dan endapan (pelet). Bagian yang diambil, yaitu supernatannya yang akan digunakan untuk pemurnian parsial ekstrak SOD. Endapan (pelet) yang diperoleh dari sentrifugasi merupakan zat pengotor dari proses ekstraksi.

Pemurnian parsial ekstrak SOD bayam hijau dilakukan dengan metode presipitasi. Dari pemurnian parsial akan didapatkan data bobot pelet ekstrak enzim pada konsentrasi 25, 50, 75, dan 100%

Tabel 1. Bobot Pelet Ekstrak Kasar Enzim Hasil Pemurnian Parsial

Sampel (%)	Bobot (g)
Konsentrasi amonium sulfat 25	0,3047
Konsentrasi amonium sulfat 50	0,4763
Konsentrasi amonium sulfat 75	0,3953
Konsentrasi amonium sulfat 100	0,4645

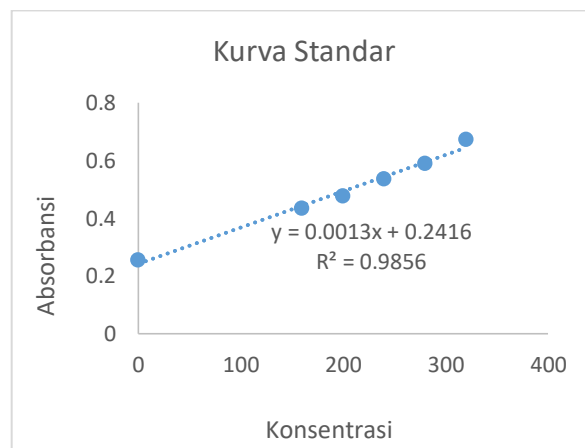
Bobot pelet diperoleh dari pengendapan protein pada pemurnian parsial. Pelet yang dihasilkan dari pemurnian parsial ini bahwa semakin tinggi amonium sulfat yang ditambahkan, maka semakin banyak protein yang mengendap. Namun, hasil yang diperoleh berbeda-beda disebabkan karena pengendapan protein yang tidak sempurna. Pengendapan protein tidak sempurna dapat terjadi dikarenakan pengaruh dari suhu pada saat penyimpanan. Pengendapan protein hanya mengurangi kelarutan protein dan tidak mendenaturasinya. Pemekatan protein dapat dilakukan dengan menghilangkan larutan amonium sulfat yang tersisa dengan cara melarutkan kembali dalam dapar yang sesuai (Wingfield, 2016).

Penetapan kadar protein penelitian ini menggunakan penetapan kadar dengan metode Lowry. Panjang gelombang yang diperoleh dari penelitian ini adalah 750,0 nm dan operating time (OT) 12-22 menit. Panjang gelombang yang diperoleh sama dengan panjang gelombang secara teoritis untuk uji kadar protein total enzim SOD2 . Perbandingan yang digunakan adalah BSA dengan konsentrasi 0, 160, 200, 240, 280, dan 320 ppm. BSA digunakan sebagai perbandingan dikarenakan linieritasnya baik, merupakan standar protein total yang diterima secara universal, dan menghasilkan kurva standar yang akurat (Walker, 2002).

Tabel 2. Nilai absorbansi konsentrasi larutan BSA sebagai pembanding

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0,256
160	0,434
200	0,476
240	0,536
280	0,589
320	0,673

Hasil kurva standar BSA dapat dilihat pada gambar 1, dimana menunjukkan bahwa kurva slope positif dengan gradien garis yang mendekati 1, yaitu $r = 0,9856$. Dengan regresi linier yang diperoleh adalah nilai $a = 0,241$ dan nilai $b = 0,001$. Sehingga, memperoleh suatu persamaan garis $y = a + bx$ dan diperoleh persamaan $y = 0,241 + 0,001x$.



Gambar 1. Kurva dan Persamaan Kalibrasi Konsentrasi Absorbansi BSA

Tabel 3. Kadar protein sampel dengan metode Lowry

Sampel	Kadar (I) mg/ml	Kadar (2) mg/ml	Kadar (3) mg/ml	Rata-rata (mg/ml)
Ekstrak kasar	7,66	7,8	7,84	7,77
Konsentrasi 25 %	2,16	2,43	3,04	2,54
Konsentrasi 50 %	3,12	3,29	3,45	3,28
Konsentrasi 75 %	4,34	4,63	4,67	4,55
Konsentrasi 100 %	8,83	9,16	9,36	9,11

Hasil kadar protein ekstrak kasar enzim SOD bayam hijau dengan metode Lowry yang tertinggi diperoleh pada pelet konsentrasi amonium sulfat 100%, sedangkan kadar protein terendah diperoleh pada pelet konsentrasi amonium sulfat 25%. Hal ini terjadi dikarenakan setiap sampel pelet memiliki perlakuan yang berbeda. Pelet konsentrasi amonium sulfat 100% memiliki kadar protein yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak kasar serta pelet konsentrasi amonium sulfat 25, 50, dan 75 dikarenakan pelet konsentrasi amonium sulfat 100% merupakan konsentrasi tertinggi. Konsentrasi amonium sulfat memiliki pengaruh terhadap pengendapan protein yang akan terjadi dimana, semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat yang ditambahkan maka semakin banyak protein yang akan mengendap. Semakin banyak protein yang mengendap maka akan menyebabkan kadar protein semakin tinggi (Rhigetti & Boschetti, 2013). Hasil SPSS yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi amonium sulfat yang ditambahkan, maka semakin tinggi juga kadar protein totalnya. Dibuktikan dengan cara ekstrak kasar dan konsentrasi amonium sulfat 100% nilainya berbeda signifikan. Adanya perbedaan signifikan ditunjukkan dengan nilai $sig. < 0,05$ pada uji posthoc dengan metode Tukey.

Tabel 4. Nilai Absorbansi Blanko WST-I assay

Blanko	Absorbansi
1	0,169
2	0,037
3	0,109

Absorbansi blanko 1, 2, dan 3 yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam rumus dengan nilai absorbansi sampel. Larutan blanko digunakan sebagai pengoreksi absorbansi senyawa kimia yang akan diukur. Nilai absorbansi berbeda-beda ini disebabkan karena komposisi blanko 1, 2, dan 3 berbeda-beda.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Enzim SOD Bayam Hijau

Sampel	% inhibisi (1) %	% inhibisi (2) %	% inhibisi (3) %	Rata-rata
Kontrol positif	81,66	83,33	85	83,33
Kontrol negatif	1,66	3,33	5	3,33
Ekstrak kasar	73,33	70	71,66	71,66
Konsentrasi 25%	28,33	31,66	30	29,99
Konsentrasi 50%	66,66	65	68,33	66,66
Konsentrasi 75%	71,66	71,66	73,33	72,22
Konsentrasi 100%	75	71,66	78,33	74,99

Aktivitas SOD memiliki hasil yang berbeda-beda pada kontrol positif dan negatif, ekstrak kasar, serta konsentrasi amonium sulfat 25, 50, 75, dan 100%. Konsentrasi amonium sulfat 25% memiliki aktivitas SOD terendah, sedangkan aktivitas SOD yang tertinggi terdapat pada konsentrasi amonium sulfat 100% dimana nilainya mendekati nilai kontrol positif. Dikarenakan tingkat reduksi anion superoksida yang berhubungan dengan linier aktivitas xantin oksidase (XO) serta dihambat oleh SOD. Aktivitas SOD ekstrak kasar bayam hijau memiliki hasil yang dapat menunjukkan bahwa besarnya aktivitas SOD dapat dilihat dari nilai absorbansi yang terendah. Nilai persen inhibisi dari aktivitas SOD dari terendah ke tertinggi adalah konsentrasi 25, 50, 75, ekstrak kasar, dan konsentrasi amonium sulfat 100%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar bayam hijau memiliki aktivitas SOD serta memiliki hasil yang cukup baik pada konsentrasi amonium sulfat 100%.

Hasil analisis pada penelitian ini menggunakan SPSS versi 26. Langkah yang pertama dilakukan uji normalitas dengan Shapiro wilk. Hasil nilai sig. > 0,05 memiliki arti data tersebut terdistribusi normal. Kemudian uji homognitas varian menggunakan Leave test. Hasil nilai sig. > 0,05 memiliki arti data tersebut

homogen. Analisis One-way ANOVA dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan signifikan pada data tersebut, adanya perbedaan signifikan ditunjukkan dari nilai sig. < 0,05. Selanjutnya dilakukan uji posthoc dengan metode Tukey. Metode Tukey memiliki tujuan, yaitu melihat perbedaan antar masing-masing ekstrak kasar dan konsentrasi presipitasi amonium sulfat. Uji menggunakan metode Tukey memunjukkan bahwa kontrol positif dan kontrol negatif, ekstrak kasar, serta presipitasi amonium sulfat memiliki aktivitas SOD. Namun, aktivitas SOD pada kontrol negatif kecil. Ekstrak kasar dan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 100% tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif, sehingga konsentrasi amonium sulfat yang paling optimum adalah konsentrasi amonium sulfat 100%. Ekstrak kasar dan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 50, 75, dan 100% tidak berbeda signifikan. Namun,, nilai antar ekstrak kasar dan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 25% berbeda signifikan. Nilai tidak berbeda signifikan antara ekstrak kasar dan konsentrasi amonium sulfat dapat disebabkan karena penelitian ini menggunakan satu kali metode pemurnian, sedangkan pada penelitian aktivitas SOD dilakukan dua kali pemurnian dengan penambahan amonium sulfat dan dialisis. Perbedaan pada aktivitas enzim dikarenakan dalam pengerjaan antioksidan enzim SOD dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, konsentrasi substrat, dan pH. Suhu memiliki peran yang sangat penting dalam reaksi enzimatik, dimana ketika suhu bertambah hingga suhu optimum, maka kecepatan reaksi enzim dengan substrat akan naik dikarenakan bertambahnya energi kinetik (Setyoko & Utami, 2016).

Simpulan dan Saran

Hasil penelitian enzim superoksida dismutase (SOD) dalam ekstrak kasar bayam hijau dapat disimpulkan nilai kadar protein total pada ekstrak kasar SOD sebesar 7,771 mg/ml dan presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75, 100% pada bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) secara berturut-turut adalah 2,54; 3,28; 4,55; dan 9,11 mg/ml. Kemudian nilai persen inhibisi ekstrak kasar SOD 71,666 % dan presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75, 100% bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) secara berturut-turut adalah 29,99; 66,66; 72,22; dan 74,99%. sedangkan nilai persen inhibisi yang optimum dari konsentrasi presipitasi amonium sulfat pada SOD bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) adalah pada konsentrasi amonium sulfat 100%.

Ucapan Terima Kasih (*optional*)

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing dan laboratorium Universitas Setia Budi yang telah mendukung penelitian ini sampai menyelesaikan penulisan artikel. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas enzim *Superoksida dismutase* (SOD) dalam tanaman bayam.

Daftar Pustaka

- Arjito, I. P. D. (2009). Analisis Protein Jaringan Otak Sapi dengan Metode Isolasi, Purifikasi dan Visualisasi. *Jurnal GaneÇ Swara* 3(2): 55-58.
- Ifemeje, J. C., S. C. Udedi, A. U. Okechukwu, A. C. Nwaka, C. B. Lukong, I. N. Anene, C. Egbuna, dan I. C. Ezeude. (2015). Determination of Total Protein, Superoxide Dismutase, Catalase Activity and Lipid Peroxidation in Soil Macrofauna (Earthworm) from Onitsha Municipal Open Waste Dump. *Journal of Scientific Research & Reports* 6(5): 394-403.
- Irianti, T. T., Kuswandi, S. Nuranto, dan Purwanto. (2021). *Antioksidan dan Kesehatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Islam, M. N., A. Rauf, F. I. Fahad, T. B. Emran, S. Mitra, A. Olatunde, M. A. Shariati, M. Rebezov, K. R. R. Rengsamay, dan M. S. Mubarak. (2021). Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62(1): 1-9. Masruroh, H., U. D. Masruroh, F. S. Nugraheni, dan V. Paramita. 2018. Analisa Kadar Lemak Dalam Susu Perah Sapi Menggunakan Gaya Sentrifugasi. *METANA* 14(1): 25-30.
- Puspitasari, O. dan Wuryanti. (2010). Isolasi Enzim LAsparaginase dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Uji Potensi terhadap Kultur Sel Leukemia Tipe K562. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 13(2): 61-65.
- Rahman, H., T. G. Kartawinata, dan E. Julianti. (2012). Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dalam Ekstrak Mesokarp Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamarck) Menggunakan Densitometri Citra Elektroforegram. *Acta Pharmaceutica Indonesia* 37(2): 43-47.
- Righetti, P. G. dan E. Boschetti. (2013). *Low-Abundance Proteome Discovery*. Elsevier Academic Press. California.
- Sharma, S., S. Bahuguna, N. Kaur, dan N. Chaudhary. (2014). Biochemical Aspects of Superoxide Dismutase Isolated from *Amaranthus spinosus*: A Therapeutically Important Plant. *International Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 5(1): 35-42.
- Setyoko, H. dan B. Utami. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa. *Proceeding Biology Education Conference* 13(1): 863-867.
- Sultan, S. M., M. R. R. de Planque, P. Ashburn, dan H. M. H. Chong. (2017). *Effect of Phosphate Buffered Saline Solutions on Top-Down Fabricated ZnO Nanowire Field Effect Transistor*. Dalam *Journal of Nanomaterials*. Editor S. Singh. Hindawi. London.
- Walker J. M. (2002). *The Protein Protocols. Secoud Edition*. Humana Press. New Jersey.
- Wingfield, P. T. (2016). Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. *Current Protocols in Protein Science* 34(1): A-3F.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences* 12(3): 88-93.