

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Asa (2010), *Acinetobacter sp* biasanya berbentuk kokobasil atau kokus, pada hapusan terlihat menyerupai neisseria, karena bentuk diplokokus sangat banyak pada tubuh dan media padat. Bentuk batang juga terjadi dan kadang-kadang bakteri tampak menjadi gram positif. *Acinetobacter* tumbuh baik pada sebagian besar media yang digunakan untuk pembiakan bakteri. Genus *Acinetobacter* berbentuk batang dengan diameter 0,9-1,6 μm dan panjang 1,5-2,5 μm menjadi bola dalam fase pertumbuhan stasioner. Bakteri ini secara alami ada di dalam tanah, air dan limbah (Holt *et al.*, 2000).

Enzim pada umumnya dihasilkan di dalam sel, beberapa diekstrak melalui dinding sel dan dapat berfungsi di luar sel. Jadi dikenal 2 tipe enzim yaitu enzim ekstraselular (berfungsi di luar sel) dan enzim intraselular (berfungsi di dalam sel). Fungsi utama enzim ekstraselular adalah mengubah nutrient disekitarnya sedemikian hingga nutrient tersebut masuk ke dalam sel (Aulanni'am, 2004). Ditambahkan menurut Smith (1993), proses pemurnian enzim dapat dilakukan dengan metode pengendapan, filtrasi membran dan gel filtrasi. Metode pemurnian enzim yang sering digunakan adalah pengendapan dengan variasi konsentrasi garam yang dilakukan secara bertingkat (fraksional). (Aulanni'am, 2005).

Pemurnian enzim dapat dilakukan berdasarkan sifat-sifat enzim sebagai protein yang berbeda dalam hal kelarutan, muatan serta ukuran atau berat molekulnya (Lehninger, 1995). Metode-metode pemurnian enzim antara lain pengendapan, filtrasi membran, kromatografi

adsorpsi, kromatografi afinitas dan filtrasi gel (Smith, 1993). Metode yang paling sering digunakan adalah pengendapan dengan konsentrasi garam bervariasi (Aulanni'am, 2005). Pemurnian dengan metode pengendapan dilakukan dengan penambahan ammonium sulfat. Penambahan ammonium sulfat kedalam larutan protein akan memberikan pengaruh terhadap kelarutan enzim yaitu menurunkan kelarutan enzim di dalam air (*salting out*).

Untuk memisahkan protein enzim tertentu dari ekstrak kasar yang mengandung banyak unsur lain maka dilakukan isolasi atau pemurnian enzim (Aulanni'am, 2005). Ditambahkan menurut Rahayu (1990), pemisahan dilakukan sentrifugasi pada kecepatan dan gaya berat tertentu sehingga sel-sel mikroorganisme mengendap dan supernatan merupakan cairan yang berisi enzim.

Metode pengendapan bertingkat dilakukan dengan cara menambahkan garam ammonium sulfat setiap fraksi kedalam ekstrak kasar enzim yang dilanjutkan dengan proses dialysis dengan tujuan untuk mengeluarkan garam yang tersisa pada endapan enzim (Deutscher, 1990). Protein dengan berat molekul besar akan terendapkan pada fraksi rendah sedangkan protein dengan berat molekul kecil akan terendapkan pada fraksi tinggi. Kelebihan menggunakan metode pengendapan bertingkat adalah enzim yang diperoleh mempunyai kemurnian yang tinggi karena pemurnian dilakukan secara fraksional (Campbell, 1996).

Dialisis merupakan proses pemisahan molekul yang lebih besar melalui membrane semi permeabel, membrane ini dapat dilewati

oleh molekul-molekul kecil saja tapi tidak untuk molekul-molekul besar. Pada proses ini terjadi perpindahan garam ammonium sulfat yang mempunyai berat molekul lebih kecil dari satu sisi membrane kesisi yang lain terjadi karena adanya gradien konsentrasi (Sorensen *et al.* 1999).

Berdasarkan uraian diatas maka penulis ingin mengkaji pengujian metabolit bakteri *Acinetobacter sp* pada histidin menjadi histamin secara *in vitro* berdasarkan profil pita protein dan kadar protein.

1.2 Rumusan Masalah

Dalam penelitian sebelumnya tentang kadar histidin menjadi histamin oleh *crude* metabolit bakteri didapatkan hasil kandungan histamin tertinggi yaitu dari penambahan *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* oleh karena itu dilakukan penelitian pemurnian untuk mengetahui profil pita protein dan kadar protein yang dihasilkan bakteri tersebut.

Berdasarkan uraian diatas maka dapat permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah kadar histamin akan semakin tinggi atau semakin rendah seiring bertingkatnya pemurnian dari *crude* metabolit bakter *Acinetobacter sp*?
2. Bagaimana profil pita protein dimasing-masing tingkat pemurnian dari *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp*?
3. Bagaimana kadar protein yang dihasilkan pada masing-masing tingkat pemurnian dari *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Untuk mengetahui kadar histidin murni menjadi histamin pada masing-masing tingkatan pemurnian *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp.*

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui kadar histidin murni menjadi histamin pada masing-masing tingkatan pemurnian *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp.*
2. Untuk mendapatkan profil pita protein pada masing-masing *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp.*
3. Untuk mendapatkan kadar protein pada masing-masing *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp.*

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada pihak-pihak yang berkepentingan tentang profil pita protein, kadar protein, serta kadar histamin pada masing-masing tingkatan pemurnian *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter sp* dalam peranannya untuk menguraikan histidin murni menjadi histamin.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, serta UPT

Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya pada bulan Maret-Mei 2012.

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

2.1 Materi Penelitian

2.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk membuat *crude* metabolit ekstraseluler bakteri adalah isolat bakteri murni *Acinetobacter* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bahan pendukung lainnya adalah media cair TSB, aquades, NaCl untuk isolasi bakteri. Untuk presipitasi digunakan ammonium sulfat dan aquades. Untuk dialisis digunakan buffer fosfat 0,1 M pH 7, buffer fosfat 0,005 M pH 7, etanol dan aquades. Untuk pengujian *Bovine Serum Albumin* (BSA) digunakan *phosphate Buffer Saline* (PBS), *reagen biuret*, dan akuades. Untuk pengujian SDS-PAGE digunakan sampel berupa *crude* metabolit ekstraseluler bakteri *Acinetobacter* sp. dan Gel.

2.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain *waterbath shaker*, kulkas, laminar *flow*, tabung reaksi, rak tabung reaksi tertutup, erlenmeyer, pipet volum, beaker glass, timbangan digital, gelas arloji, *asse*, laminaran, gelas ukur, spatula, bunsen, botol semprot, nampan, inkubator, autoklaf. Untuk Presipitasi digunakan *stirrer*, dan sentrifuse. Untuk dialisis digunakan kantong selofan, *eppendorf*, dan sentrifuse. Untuk pengujian *Bovine Serum Albumin*

(BSA) digunakan erlenmeyer, *eppendorf*, vortek, tabung reaksi dan spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan untuk pengujian SDS-PAGE digunakan perangkat elektroforesis SDS-PAGE.

2.1.3 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium diantaranya adalah untuk pengadaan bakteri, isolasi bakteri dan metabolit *Acinetobacter* sp. di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, untuk presipitasi, dialisis, uji BSA, dan Uji SDS-PAGE di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, untuk aerasi dan preparasi uji histamin di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, sedangkan untuk uji histamin di Laboratorium Penelitian Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya.

2.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Menurut Amirin (2009), metode eksploratif merupakan salah satu **pendekatan** dalam penelitian. Metode eksploratif berupaya menemukan informasi umum mengenai sesuatu topik/masalah yang belum dipahami sepenuhnya oleh seorang peneliti. Metode ini mengarahkan studi ke suatu sasaran penelitian. Penelitian ini untuk mengetahui *crude* metabolit bakteri *Acinetobacter* sp menjadi lebih murni dan seberapa besar kandungan protein dan berat molekulnya.

Menurut Singarimbun dan Effendi (1989), metode eksploratif bertujuan untuk

memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan. Dalam penelitian eksploratif pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembiakan Bakteri

Sebelum melakukan penelitian terlebih dahulu dilakukan sterilisasi alat. Sterilisasi adalah suatu proses penguapan yang digunakan untuk beberapa produk dalam situasi dimana produk-produk tersebut terhindar dari infeksi (Dart, 2003). Selain itu alat yang harus disterilkan yaitu laminaran, dengan cara menyemprot bagian dalamnya dengan cairan aseptis (alkohol 70%), kemudian lap semua bagiannya menggunakan serbet makan bersih agar aseptis, ditutup kaca laminaran dan menekan tombol UV untuk menghidupkan sinar UV pada alat yang berfungsi sebagai pensteril laminaran selama 1 jam.

2.3.2 Pengamatan Fase-Fase Pertumbuhan Bakteri

Pengamatan fase dilakukan untuk mendapatkan sampel metabolit dari bakteri *Acinetobacter sp.* tersebut. Sebanyak 10 % dari hasil pengayaan, yang berarti sebanyak 10 ml bakteri dan 90 ml medium TSB + NaCl 2%, dicampur ke dalam erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya di *shaker* dalam waterbath pada suhu 30°C. Setiap 1 jam sekali sampel bakteri diambil dan dihitung kepadatan bakteri dengan menggunakan hemositometer atau metode

kamar hitung. Pengamatan dan perhitungan fase bakteri dilakukan selama 1x24 jam dan dihitung setiap satu jam sekali.

2.3.3 Pemanenan Metabolit

Setelah dilakukan pengamatan fase-fase pertumbuhan bakteri, maka kita dapat mengetahui pada jam ke berapakah bakteri tersebut memasuki fase eksponensial. Sampel metabolit dipanen pada fase eksponensial. Fase eksponensial dipilih karena pada fase ini merupakan fase pertumbuhan tertinggi dari bakteri itu sendiri. Menurut Nurwantoro, *et al.*, (2003), populasi total bakteri cenderung meningkat seiring dengan penambahan lama waktu penyimpanan. Hal ini dapat diakibatkan bakteri sedang berada dalam fase eksponensial. Semakin banyak bakteri yang dihasilkan maka akan semakin banyak pula senyawa bioaktif yang dapat dipanen dari bakteri tersebut.

2.3.4 Tahap-tahap Pemurnian

2.3.4.1. Presipitasi

Presipitasi yaitu pengendapan dengan amonium sulfat. Memisahkan protein dari protein yang berbeda dan juga dengan non protein dari *crude* protein. Konsentrasi amonium sulfat yang tinggi akan meningkatkan muatan listrik disekitar protein yang akan menarik mantel air dari koloid protein (Aulanni, 2004).

Untuk menggumpalkan protein, supernatan hasil sentrifugasi ditambahkan ammonium sulfat sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan tingkat kejenuhan atau konsentrasi (40%, 50%, 60%, 70%, 80%) dan dibiarkan selama satu malam pada suhu 40°C. Selanjutnya disentrifugasi

10000 rpm, suhu 4°C, selama 15 menit. Pelet yang diperoleh diresuspensikan dengan buffer Tris-HCl 10 mM pH 7 untuk dilakukan penelitian selanjutnya dan untuk penentuan kadar proteinnya dengan metode Bradford (1976).

2.3.4.2. Dialisis

Prinsip dialisis adalah difusi garam amonium sulfat melalui membran semipermeabel. Pada proses dialisis terjadi pemisahan molekul yang lebih besar melalui membran semipermeabel dengan menggunakan kantong selofan yang memiliki pori-pori berukuran 10 kD. Membran ini dapat dilewati oleh molekul-molekul kecil saja tapi tidak untuk molekul-molekul besar. Pada proses ini terjadi perpindahan garam amonium sulfat yang mempunyai berat molekul lebih kecil dari satu sisi membran ke sisi yang lain terjadi karena adanya gradien konsentrasi.

2.3.5 Pengujian Kadar Histamin

Hasil presipitasi dengan menggunakan ammonium sulfat bertingkat yaitu konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70% dan 80% masing-masing diuji kadar histaminnya dengan cara mereaksikan dengan 50 ml larutan L-Histidin konsentrasi 500 ppm. Hasil kadar histamin tertinggi digunakan untuk acuan pemurnian selanjutnya yaitu proses dialisis. Diambil sampel yang menunjukkan kadar histamin tertinggi karena diduga dengan kadar histamin yang tertinggi pada sampel tersebut mengandung enzim histidin dekarboksilase dengan jumlah yang besar dibanding dengan presipitasi lainnya.

2.4 Karakterisasi Dialisat

2.4.1. Uji Konsentrasi Protein (Metode BSA)

Penentuan konsentrasi protein metabolit menggunakan metode biuret dengan BSA (Bovine Serum Albumin) sebagai standar dengan modifikasi dari Wiseman (1985) dengan Holme dan Peck (1993). Prinsip kerja metode biuret adalah senyawa dengan 2 atau lebih ikatan peptida apabila direaksikan dengan garam kupri dalam suasana basa akan membentuk warna violet. Reaksi biuret bergantung pada pembentukan suatu kompleks antara ion Cu^{++} dengan 4 atom N-peptida pada suasana basa, maka akan membentuk suatu kompleks warna ungu yang absorbansinya dapat dibaca pada panjang gelombang 540 nm.

2.4.2. Uji SDS-PAGE

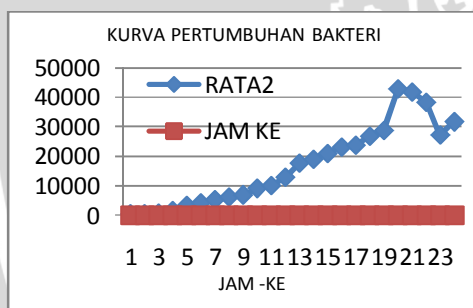
Elektroforesis adalah teknik pemisahan fraksi-fraksi zat berdasarkan migrasi partikel bermuatan di bawah pengaruh medan listrik karena adanya perbedaan ukuran, bentuk, muatan dan sifat kimia molekul (Boyer, 1986).

Penentuan berat molekul dialisat metabolit *Acinetobacter* sp. dapat dilakukan dengan menggunakan metode populer yang disebut Sodium Dodesil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis (SDS-PAGE). Metode SDS-PAGE dilakukan dengan menggunakan 2 jenis gel yaitu “stacking” dan “separating”.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri *Acinetobacter sp* dapat dipanen pada jam ke 20 yakni pada fase eksponensial. Fase eksponensial dipilih karena pada fase ini merupakan fase pertumbuhan tertinggi dari bakteri itu sendiri. Kurva pertumbuhan bakteri *Acinetobacter sp.* dapat dilihat pada Gambar 6. Menurut Nurwantoro (2003), populasi total bakteri cenderung meningkat seiring dengan pertambahan lama waktu penyimpanan. Hal ini dapat diakibatkan bakteri sedang berada dalam fase eksponensial. Semakin banyak bakteri yang dihasilkan maka akan semakin banyak pula metabolit yang dapat dipanen dari bakteri tersebut.

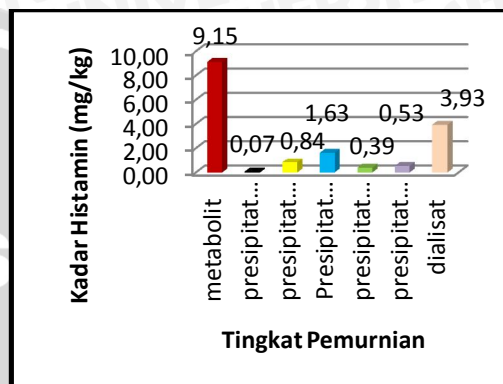


Gambar 6. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter sp.*

3.2 Hasil Analisa Uji Histamin Dengan Metode Spektrofluorometri

Hasil analisa kadar histamin menggunakan metode spektrofotometri sesuai dengan SNI 01-2354.10-2009 panjang gelombang eksitasi : 350 nm dan emisi : 444 nm pada larutan histidin murni yang telah diberi metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* yang diaerasi selama 24 jam. Tujuannya untuk mencari konsentrasi yang optimum dari histidin murni

terhadap kadar histamin dengan menggunakan konsentrasi bertingkat (40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%)



Gambar 7. Grafik perbandingan hasil kadar histamin metabolit, presipitat dan dialisat.

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan tingkat kemampuan sampel dalam menghambat penguraian histidin murni menjadi histamin. Hal ini dikarenakan yang semula metabolit dilakukan proses pemurnian menjadi crude enzim melalui proses presipitasi dan dialisis. Pada sampel metabolit ini mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $9,15 \pm 0,60$, tetapi terjadi penurunan pada sampel presipitat yang hanya mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $1,63 \pm 0,28$ dan pada sampel dialisat terjadi kenaikan yang mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $3,93 \pm 0,22$, dapat disimpulkan bahwa sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp* mampu menghambat penguraian histidin dengan baik. Menurut buku pedoman mikrobiologi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology-Ninth Editio*, (1994), bahwa bakteri jenis *Acinetobacter sp* dapat menginhibitor senyawa L-Histidin sehingga dapat menghambat penguraian histamin.

3.3 Karakteristik Dialisat

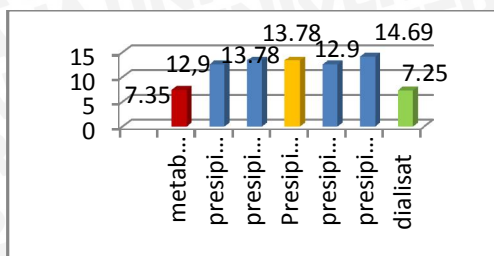
3.3.1 Pengendapan Dengan Amonium Sulfat

Metabolit bakteri *Acinetobacter sp* hasil pengendapan konsentrasi 60% amonium sulfat digunakan untuk pemurnian tahap selanjutnya. Pada konsentrasi presipitasi 60%, endapan coklat yang diduga merupakan protein kemudian disentrifugasi dan dikumpulkan untuk didialisis. Menurut Farrell & Ranallo (2000), endapan ini merupakan sisa-sisa inti sel yang berbobot molekul besar. Namun ternyata supernatan coklat jernih itu diduga masih mengandung pengotor. Pengotor yang terdapat pada supernatan diperkirakan adalah hancuran mitokondria, peroksisom, lisosom, mikrosom, dan molekul-molekul yang terlarut dalam sitosol. Maka, perlu dilakukan langkah pemurnian selanjutnya untuk membebaskan protein dari pengotor tersebut.

Sampel yang memiliki kandungan garam tinggi harus didialisis, karena berpotensi mengganggu hasil analisis selanjutnya, menggunakan kantung dialisis yang memiliki pori-pori berukuran 10 kD yang dimasukkan ke dalam wadah berisi pelarut akuades yang digunakan untuk menciptakan lingkungan hipotonik di luar membran dialisis. Pori-pori ini menyebabkan molekul garam dan air yang kecil dapat bertukar dengan lingkungan, sementara protein yang berbobot molekul besar tidak dapat melewatinya (Nelson & Cox 2005 dalam Angky, 2011).

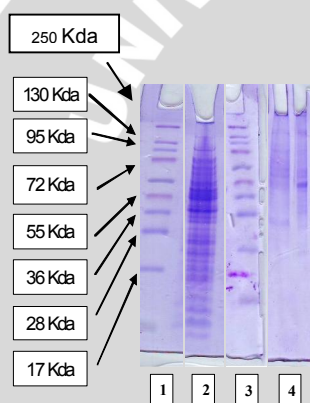
3.3.2 Hasil Pengujian Konsentrasi Protein Dengan Metode BSA

Hasil konsentrasi protein dari metabolit, presipitat dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa konsentrasi protein dialisat adalah 7,246 mg/ml, nilai ini lebih rendah dibanding nilai konsentrasi ekstrak kasar metabolit *Acinetobacter sp*, yang mempunyai nilai sebesar 7,351 mg/ml. Hal ini dimungkinkan karena dalam sampel metabolit bakteri masih terdapat protein yang masih banyak, sedangkan pada sampel dialisat kadar albuminnya sudah hilang sehingga hasil yang didapat lebih rendah dari sampel metabolit. Menurut Angky (2011), konsentrasi protein yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan sampel-sampel sebelumnya, hal ini mungkin disebabkan proses pemisahan protein yang menyebabkan protein sampel terbagi dalam beberapa kelompok sesuai dengan kelarutannya dalam buffer. Menurut Schmidt *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa kantung selofan dengan *molecular weight cutoff* (MWCO) 10 kDa dapat digunakan untuk menghilangkan ion nitrogen, asam amino, atau peptida yang berukuran kecil. Untuk perhitungan konsentrasi protein dapat dilihat pada Lampiran 8 sedangkan grafik perbandingan konsentrasi protein metabolit, presipitat dan dialisat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik perbandingan perbandingan konsentrasi protein metabolit, presipitat dan dialisat

4.3.3 Hasil Pengujian Berat Molekul Dengan Metode SDS-PAGE



Gambar 9. Profil pita protein, 1. Marker, 2. Metabolit kasar, 3. Marker, 4. Sebelum dialisat dan Sesudah dialisat.

Hasil pegujian berat molekul dengan menggunakan metode SDS-PAGE dapat dilihat pada Gambar 9. Prinsip dari pengujian SDS-PAGE ini adalah pemisahan protein yang berdasarkan paa ukuran molekul.

Pada Gambar 9 memperlihatkan bahwa sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp* tampak menebal karena kadar protein masih banyak. Pita pada sampel presipitat tampak semakin banyak sedangkan pada sampel dialisat terlihat semakin sedikit pita-pita peptidanya. Hal ini

diduga karena telah terjadi proses pemurnian dari sampel metabolit bakteri *Acietobacter sp* sampai sampel dialisat, sehingga mengeluarkan ikatan protein yang mempunyai berat molekul kecil. Menurut Dewi (2006), prinsip analisa SDS-PAGE adalah pemisahan protein berdasarkan berat molekul.

Tabel 3. Berat molekul (kDa) pita peptida metabolit *Acinetobacter sp.*, presipitat dan dialisat 60%

No.	Metabolit (<i>Acinetobacter sp.</i>)	Presipitat	Dialisat
1.	123,5054	125.40007	-
2.	-	-	118.5537
3.	-	94.43153	-
4.	-	-	87.69058
5.	72,20809	-	-
6.	62,2065	61.70814	-
7.	56,88343	57.48396	55.78403
8.	53,59024	-	-
9.	47,5648	-	-
10.	47,21683	-	46.55139
11.	42,21683	-	-
12.	39,77275	-	-
13.	39,77275	-	-
14.	37,47016	-	-
15.	35,0088	-	34.43266
16.	27,809	21.3013	28.73382
Jumlah	13 asam amino	5 asam amino	6 asam amino

Berat Molekul pita peptida pada sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp*.

presipitat 60% dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa berat molekul pita peptida metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* ke dialisat semakin sedikit yakni yang semula terdapat 13 asam amino menjadi 6 asam amino. Hal ini diduga karena keluarnya struktur molekul asam amino akibat perlakuan pemurnian enzim. Pita-pita protein yang hilang kemungkinan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (Riyanto, 2006). Menurut Prozorovski dan Hal (1973), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 29 kDa dan 110 kDa, menurut Tran dan Snyder (1980), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 210 kDa; 145 kDa dan 66 kDa, Sedangkan menurut Wada et al., (1983), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 110 kDa dan 54 kDa.

Tebalnya pita peptida (banyaknya asam amino) pada sampel dialisat menunjukkan rendahnya kemampuan sampel dalam menghambat penguraian histidin menjadi histamin. Hal ini lah yang menyebabkan pada sampel dialisat lebih sedikit terdapat asam amino bila dibandingkan dengan sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* Dan hasil perhitungan pengujian SDS-PAGE dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.4 Hasil Kumulatif Dari 3 Pengujian

Hasil Kumulatif dari 3 pengujian pada crude metabolit *Acinetobacter sp.*, amonium sulfat 60% dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengujian Dari Sampel Metabolit, Amonium Sulfat 60% dan Dialisat

No.	Sampel	Kadar Histamin	Kadar Protein	SDS-PAGE
1.	Metabolit <i>Acinetobacter sp.</i>	9,15 ± 0,60	7,351	13 asam amino
2.	Amonium Sulfat 60%	1,63 ± 0,28	13,778	5 asam amino
3.	Dialisat	3,93 ± 0,22	7,246	6 asam amino

Dari hasil data kumulatif 3 pengujian diatas, dapat disimpulkan bahwa metabolit bakteri jenis *Acinetobacter sp.* dapat menghambat senyawa L-Histidin sehingga dapat menghambat penguraian histidin menjadi histamin.

5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai uji metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* pada histidin menjadi histamin secara in vitro diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- Hasil rerata kadar histidin murni menjadi histamin oleh metabolit kasar *Acinetobacter sp.* sebesar 9,15 ± 0,60, presipitasi 60% sebesar 1,63 ± 0,28, Dan untuk dialisat mempunyai nilai rerata kadar histamin sebesar 3,93 ± 0,22.
- Hasil uji konsentrasi protein pada masing-masing tingkat pemurnian yaitu yang pertama adalah metabolit kasar sebesar 7,351 mg/ml, untuk presipitasi 60% sebesar 13,778 mg/ml dan untuk dialisat sebesar 7,246 mg/ml.
- Hasil uji SDS-PAGE pada masing-masing tingkatan pemurnian yaitu pada sampel metabolit kasar terdapat 13 asam amino, sampel

presipitat 60% terdapat 5 asam amino, dan pada sampel dialisat 60% terdapat 6 asam amino.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik yang lebih spesifik lagi pada metabolit *Acinetobacter sp.*

DAFTAR PUSTAKA

- Amirin, T. M. 2009. **Penelitian Eksploratori (Eksploratif)**. www.tatangmanguny.wordpress.com. Diakses pada Tanggal 25 Juli 2010.
- Angky, A. 2011. **Karakterisasi Aktivitas Dialisat Enzim Protease Fibrinolitik dari Cacing Tanah (*Eisenia foetida*) Galur Lokal**. Skripsi. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Asa. 2010. ***Acinetobacter sp.*** <http://repository.usu.ac.id/bitstream>. Diakses pada tanggal 14 Desember 2010 pukul 17.23 WIB.
- Aulanni`am. 2004. **Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul**. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Aulanni`am. 2005. **Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul**. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Boyer, RF. 1986. **Modern Experimental Biochemistry**. The Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc., Canada.
- Campbell, W. H., 1996. **Basic Biochemical Technique**. SpringerVerleg. New York.
- Holme D. J., dan Peck. H. 1993. **Analytical Biochemistry. Second Edition**. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Lehninger, A. L. 1995. **Dasar-Dasar Biokimia I**. Erlangga. Jakarta
- Nurwantoro, Prastiwi, WD., Achmadi, J. 2003. **Populasi Mikrobia Isa Susu pada Peralatan Unit Pendingin Susu Akibat Lama Penyimpanan dan Aras Penambahan Dedak Padi**. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rahayu, K. 1991. **Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim**. PAU Pangan dan Gizi. UGM Press. Yogyakarta.
- Smith, J.C., 1993. **Prinsip Bioteknologi**. Alihbahasa : A Dharma, PT GramediaPustakaUtama. Jakarta.
- Sorensen, H., S, Sorensen, C. Bjerregaard, and S, Michelson. 1999. **Chromatography and Capillary Electrophoresis in Food Analysis**. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.