

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. *Acinetobacter* yang dipisahkan dari meningitis dan sepsis, disalahartikan dengan *Neisseria meningitidis*, juga *Acinetobacter* yang dipisahkan dari sistem alat kelamin perempuan disalahartikan dengan *Neisseria gonorrhoeae*. Namun *Neisseria* menunjukkan oksidase positif sedangkan *Acinetobacter* menunjukkan oksidase negatif.

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. Sedangkan enzim intraselular mensintesis bahan selular atau menguraikan nutrien untuk menyediakan energi yang dibutuhkan sel. Untuk memisahkan protein enzim tertentu dari ekstrak kasar yang mengandung banyak unsur lain maka dilakukan isolasi atau pemurnian enzim (Aulanni'am, 2004).

Isolasi enzim merupakan pelepasan enzim dari sel yang dapat dilakukan secara mekanik, fisik, kimiawi, dan enzimatik melalui penghancuran membran dan dinding sel (Muchtadi *et al.* 1992). Protease yang dihasilkan merupakan enzim ekstraseluler yang dapat diisolasi secara sentrifugasi pada media pertumbuhan jamur dan bakteri (Schomburg dan Salzman, 1991). Rahayu

(1991), menjelaskan bahwa sentrifugasi dilakukan pada kecepatan dan gaya berat tertentu sehingga sel-sel mikroorganisme mengendap dan supernatan merupakan cairan yang berisi enzim.

Pemurnian enzim dapat dilakukan berdasarkan sifat-sifat enzim substrat protein yang berbeda dalam hal kelarutan, muatan, dan ukuran atau berat molekulnya (Lehninger, 1982). 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).

Teknik pemisahan enzim dari sel dan komponen lain dipengaruhi oleh keberadaan enzim tersebut. Ekstraksi dan isolasi enzim ekstraseluler lebih mudah, karena telah berada diluar sel, sehingga tidak perlu memecah dinding sel. Sedangkan enzim intraseluler merupakan enzim yang melekat pada membran, dilindungi oleh dinding sel yang kuat, maka proses pemisahan enzim harus memperhatikan metode – metode pemecahan sel untuk mengeluarkan enzim (Suhartono, 1989). Untuk mengekstrak enzim intraseluler diperlukan pengerusakan dan penghancuran dinding sel secara kimiawi yaitu dengan menambahkan gula, gliserol, asam atau basa maupun bahan organik lain. Bahan ini dipilih yang sesuai untuk menghasilkan pH dimana stabilitas enzim tetap maksimal (Othmer, 1987).

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.

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 ke dalam larutan protein akan memberikan pengaruh terhadap kelarutan enzim yaitu menurunkan kelarutan enzim di dalam air (*salting out*) (Voet and Voet, 1990).

Metode pengendapan bertingkat dilakukan dengan cara menambahkan garam ammonium sulfat ke tiap fraksi ke dalam 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 ke sisi yang lain terjadi karena adanya gradien konsentrasi. Perbedaan kecepatan difusi melalui membrane timbul karena adanya perbedaan ukuran molekul yang menyebabkan garam terpisah dari protein (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 bateri *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.