

PERBANDINGAN OPTIMASI BIOSENSOR ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN EKSTRAK DAN ENZIM MURNI SUPEROKSIDA DISMUTASE

Imas Eva Wijayanti¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

Email: imasevawijayanti@yahoo.co.id

Abstract: An antioxidant biosensor has been developed for measurement of antioxidant capacity. The purpose of this study was to determine and compare the activity of the superoxide dismutase (SOD) enzyme from the crude extract of *Deinococcus radiodurans* cells and pure SOD from bovine erythrocytes which were immobilized on zeolite nanoparticles (ZNP). The kinetics parameters were also determined. The optimum condition was obtained by Response Surface Method. The immobilized crude extract *D. radiodurans* SOD (CES) modified carbon paste electrode (CPE) (CES-ZNP-CPE) have different optimum conditions with the modified carbon paste electrode pure SOD immobilization (PS-ZNP-CPE). This is shown by the difference in the two structures. Erythrocyte SOD enzyme from cows that have the type of Cu / Zn-SOD, whereas SOD extracted from the bacterium *D. radiodurans* is the type of Mn-SOD. The differences in the structure cause the Cu / Zn SOD and Mn-SOD has a different reaction mechanism, so that responses and measurement will be differences resulted.

Keywords: Antioxidant biosensor, Immobilization, Superoxide dismutase, Zeolite nanoparticles

Abstrak: Biosensor antioksidan telah dikembangkan untuk pengukuran kapasitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan dan membandingkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dari ekstrak kasar sel bakteri *Deinococcus radiodurans* dan SOD murni dari eritrosit sapi yang diimobilisasi pada nanopartikel zeolit (ZNP). Kondisi optimum diperoleh dengan metode respon permukaan. Elektrode pasta karbon yang dimodifikasi ekstrak kasar SOD *D. radiodurans* imobilisasi (CES-ZNP-CPE) memiliki kondisi optimum yang berbeda dengan elektrode pasta karbon yang dimodifikasi SOD murni imobilisasi (PS-ZNP-CPE). Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur keduanya. Enzim SOD dari eritrosit sapi yang memiliki tipe Cu/Zn-SOD, sedangkan SOD yang diekstrak dari bakteri *D. radiodurans* adalah tipe Mn-SOD. Perbedaan struktur menyebabkan Cu/Zn SOD dan Mn-SOD memiliki reaksi mekanisme yang berbeda, sehingga respon dan pengukuran arus yang dihasilkan akan berbeda pula.

Kata kunci: Biosensor antioksidan, Imobilisasi, Nanopartikel zeolit, Superoksida dismutase

PENDAHULUAN

Belakangan ini, pola konsumtif masyarakat kita menyebabkan industri makanan menjadi jauh lebih pesat. Namun di satu sisi, pola makan tanpa disertai dengan pengaturan keseimbangan kebutuhan tubuh merupakan salah satu penyebab dasar munculnya penyakit non infeksius. Ini adalah penyakit berbahaya yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif karena radikal bebas dalam tubuh. Kerusakan oksidatif ini dapat dicegah oleh antioksidan yang terkandung dalam makanan, nutrasetika, suplemen, dan lain-lain (Lindley 1998). Antioksidan merupakan faktor pelindung utama terhadap penyakit berbahaya dan dapat meningkatkan kekebalan tubuh manusia (Devasagayam et al. 2004). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu metode yang tepat untuk mengukur sifat-sifat antioksidan pada sampel-sampel dari bahan-bahan alam, maupun sampel hasil produksi.

Berbagai jenis metode telah banyak dikembangkan untuk mengukur kapasitas antioksidan, seperti spektrofotometri atau kromatografi (Khalaf et al. 2008). Namun, metode-metode tersebut memiliki kelemahan diantaranya biaya yang mahal, waktu yang lama, atau terkendala oleh kekeruhan sampel yang diukur karena tingginya konsentrasi sampel (Thaipong et al. 2006). Oleh Karena itu, dibutuhkan

alternatif metode yang lebih cepat, murah, tepat dan mudah untuk mengukur kapasitas antioksidan. Salah satu metode yang lebih mudah, akurat, cepat, dan sensitif dalam penentuan kapasitas antioksidan adalah dengan biosensor. Biosensor merupakan alternatif metode yang dikembangkan untuk mengukur kapasitas antioksidan yang tidak terkendala oleh tingginya konsentrasi sampel yang dideteksi (Campanella et al. 2004). Salah satu kinerja biosensor adalah dengan menggunakan transduser dan komponen pengenalan hayati. Perkembangan terakhir dari biosensor antioksidan adalah biosensor berbasis enzim superoksida dismutase (SOD) yang sudah terbukti dapat mengukur kapasitas antioksidan berbagai jenis sampel dengan sensitivitas melebihi metode-metode lainnya yang sudah dikembangkan (Prieto-Simon et al. 2008). Akan tetapi, enzim murni SOD memiliki harga yang cukup mahal sehingga Yuan et al. (2007) melakukan penelitian untuk mencari bakteri penghasil SOD, kemudian ia menyatakan bahwa bakteri *Deinococcus radiodurans* adalah salah satu bakteri yang dapat menghasilkan enzim SOD. Ketika enzim dari bakteri ini dicoba pada biosensor, ternyata biosensor antioksidan berbasis SOD dari ekstrak protein *Deinococcus radiodurans* menghasilkan afinitas enzim

substrat yang tinggi daripada SOD murni (Iswantini et al. 2013).

Agar kinerja biosensor menjadi lebih tinggi, perlu ada matriks pengisi yang menjaga stabilitasnya. Dalam penelitiannya, Mateo et al. (2007) menyatakan bahwa metode yang dapat digunakan untuk menjaga stabilitas enzim adalah dengan melakukan imobilisasi pada nanomaterial. Tujuan material matriks dibuat dalam ukuran nanometer adalah karena jika semakin kecil ukuran partikel maka interaksi antara pengisi dan matriks semakin tinggi (Kohls & Beaucage 2010). Dari penelitian yang telah dilakukan, pengembangan biosensor sedang dilakukan ke arah material berukuran nanometer. Perkembangan biosensor antioksidan berbasis enzim SOD hingga saat ini baru pada tahap penelitian dan belum terdapat biosensor antioksidan komersial yang diproduksi. Oleh karena itu, penelitian-penelitian saat ini diharapkan dapat memperoleh prototipe nanobiosensor antioksidan berbasis mikroba disertai informasi mengenai sifat analitik berupa optimasi variabelnya.

METODE

Pembuatan Elektrode Pasta Karbon (Mirel et al. 1998)

Elektroda pasta karbon dibuat dari campuran grafit dan parafin cair 2:1

hingga membentuk pasta, kemudian dimasukkan ke dalam badan elektroda hingga memadat.

Pembuatan Nanopartikel Zeolit (Wahyudi et al. 2010)

Zeolit diaktivasi secara asam dan ditentukan kapasitas tukar kation (KTK). Dibuat ukuran nanometer dengan cara digerus dengan alat *planetary ball mill* (PBM) dan diultrasonikasi. Partikel diukur dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan diamati strukturnya menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Penumbuhan Sel *D. radiodurans* dan Ekstraksi SOD (Chou & Tan. 1991)

D. radiodurans ditumbuhkan pada media kemudian diinkubasi pada 30 °C selama 48 jam. Selanjutnya sel disentrifugasi dan dicuci menggunakan bufer fosfat pH 9. Ekstrak kasar yang dihasilkan kemudian diukur nilai serapannya pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

Imobilisasi Enzim

Nanopartikel zeolit (NPZ) dicampurkan dengan akuades sehingga membentuk suspensi. Ekstrak SOD dalam bufer fosfat pH 9 dicampur dengan suspensi NPZ dan ditetaskan pada permukaan elektrode hingga pelarutnya

menguap. Permukaan elektrode dilapisi membran dialisis, ditutup jaring nilon, dan diikat dengan parafilm.

Pengukuran Elektrokimia

Pengukuran sistem elektrokimia menggunakan alat potensiostat eDAQ, komputer, serta perangkat lunak pengolahan data *Echem v2.1.0*. Elektrode yang digunakan yaitu Ag/AgCl, platina, dan pasta karbon. Larutan bufer fosfat pH 9 ditambahkan ke dalam sel elektrokimia. Kemudian ditambahkan ferrosena, larutan xantin oksidase, dan substrat xantina. Perubahan arus yang terjadi diamati hingga mencapai arus keadaan tunak.

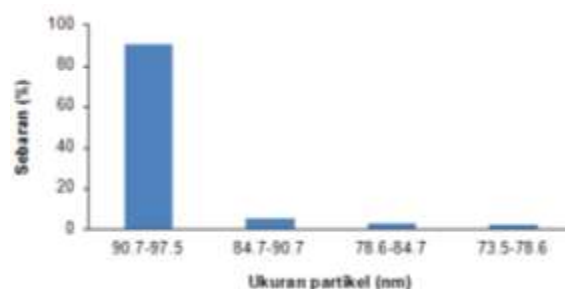
Optimasi Nanopartikel Zeolit

Optimasi yang dilakukan adalah dengan kombinasi pada variabel pH (7-11), konsentrasi ekstrak kasar SOD (1250-2000 $\mu\text{g/mL}$), enzim murni SOD (1-5 U/mL), dan konsentrasi nanopartikel zeolit (25-225 mg/10 mL). Metode yang digunakan untuk pengoptimuman aktivitas SOD adalah *Response Surface Method*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

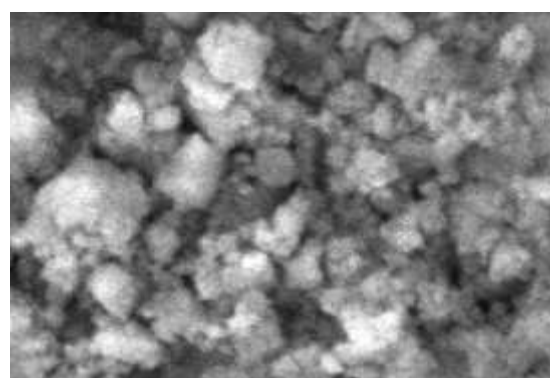
Zeolit yang digunakan sebagai matriks imobilisasi harus dikondisikan sehingga ukurannya mencapai nanometer. Zeolit dikondisikan dengan cara asam lalu dilakukan penumbukan (milling). Setelah

zeolit dikondisikan, zeolit dibuat ukuran nanopartikel. Sebaran data hasil pengukuran partikel nanozeolit diberikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sebaran diameter partikel nanozeolit

NPZ dilakukan Scanning Electron Microscope (SEM) untuk mengetahui strukturnya. Hasil Scanning Electron Microscope (SEM) yang menunjukkan bahwa NPZ tidak mengalami kerusakan setelah dikondisikan diberikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pemindaian SEM nanopartikel zeolit

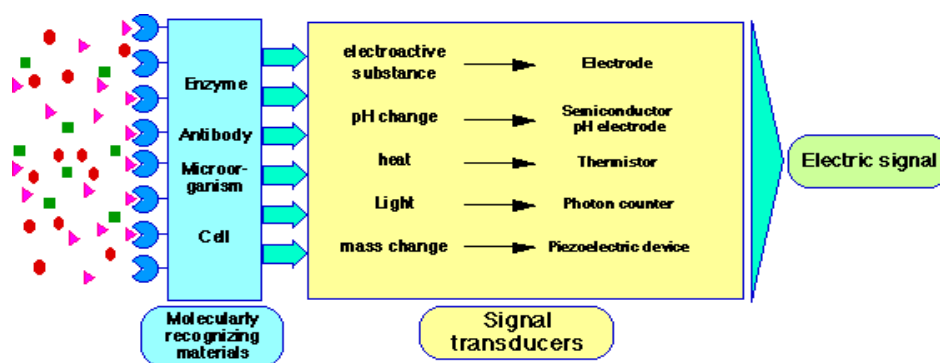
Adapun kondisi optimum untuk ekstrak kasar dan enzim murni SOD disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi optimum untuk ekstrak kasar dan enzim murni SOD

Variabel	Ekstrak SOD	Enzim murni SOD
pH	9	11
Konsentrasi NPZ	141 mg/10 mL	225 mg/10 mL
Konsentrasi Enzim	2000 ppm	5000 ppm
Arus prediksi yang dihasilkan	6.74 μ A	5.61 μ A

Biosensor Antioksidan

Biosensor terdiri dari dua bagian utama, yaitu komponen pengenalan hayati

**Gambar 3.** Cara kerja biosensor

Biosensor antioksidan adalah biosensor yang dirancang untuk mengukur kapasitas antioksidan pada berbagai sampel. Perancangan biosensor yang lebih inovatif terus dilakukan karena memiliki kelemahan, yaitu tidak dapat digunakan secara berulang, daya variasi kurang tinggi, waktu respon yang relatif rendah, rentang linier sempit, sensitivitas rendah, kurang stabil, serta presisi dan deteksi

dan transduser. Komponen pengenalan hayati biosensor berinteraksi secara interaktif terhadap analat target untuk memastikan selektivitas dari sensor. Sedangkan transduser mengubah respon hayati yang dihasilkan dari interaksi dengan analat target menjadi sinyal yang dapat diukur, transduser menentukan kepekaan biosensor (Castillo *et al.* 2004). Cara kerja biosensor diperlihatkan pada Gambar 3.

yang masih rendah (Wang *et al.* 2008). Untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, saat ini sedang dikembangkan biosensor menggunakan matriks, dalam hal ini matriks yang banyak digunakan adalah berbasis zeolit berukuran nanometer sehingga diperoleh nanobiosensor. Nanobiosensor adalah biosensor yang menggabungkan komponen biologis dan detektor

fisikokimia dengan matriks pengimobilisasi pada skala nanometer.

Peran Nanopartikel Zeolit sebagai Matriks

Zeolit adalah mineral yang terdiri atas kristal alumino silikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensi (Tang 2003). Penggunaan zeolit untuk modifikasi elektrode pasta karbon telah dilakukan Goriushkina *et al.* (2010) yang menggunakan zeolit untuk imobilisasi glukosa oksidase, dan Balal *et al.* (2009) yang menggunakan zeolit untuk modifikasi elektrode pasta karbon yang digunakan untuk mengukur kadar dopamin dan triptofan. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa elektrode pasta karbon termodifikasi zeolit, akan menghasilkan arus yang lebih tinggi dan memiliki stabilitas yang baik dalam percobaan berulang-ulang dan membuat pengukuran menjadi lebih sensitif dan selektif.

Komponen biologis pada biosensor antioksidan menggunakan enzim SOD yang memiliki stabilitas rendah sehingga perlu diimobilisasi pada suatu matriks agar stabilitasnya meningkat. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menjaga kestabilan enzim adalah dengan melakukan imobilisasi pada material yang

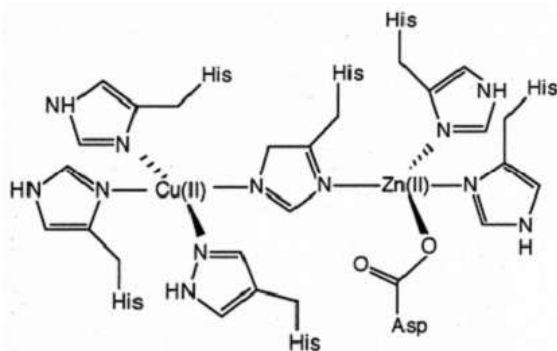
memiliki pori dan untuk meningkatkan selektivitas dapat digunakan nanomaterial (Mateo *et al.* 2007). Penelitian yang telah dilakukan Weniarti (2011) menggunakan matriks pengimobilisasi berupa material nanokomposit, yaitu matriks yang tersusun dari kombinasi dua atau lebih material yang berbeda dalam ukuran nanometer. Juga pada penelitian Zhou *et al.* (2007), yang menggunakan nanopartikel zeolit sebagai matriks imobilisasi pada enzim tirosinase, ternyata biosensor memiliki stabilitas yang tinggi.

Penggunaan zeolit sebagai matriks pada biosensor membutuhkan zeolit yang terbebas dari pengotor. Oleh karena itu, zeolit dikondisikan secara asam dengan penambahan HCl dengan tujuan untuk membersihkan permukaan pori dan menata kembali atom yang ditukarkan seperti Fe, Mg, dan logam-logam lain di sekitar kristal. Aktivasi secara asam ini menyebabkan terjadinya dekationisasi yang menyebabkan bertambah luasnya permukaan zeolit karena berkurangnya pengotor yang menutupi pori-pori. Adanya luas permukaan yang bertambah ini, diharapkan dapat meningkatkan kemampuan zeolit dalam proses penjerapan enzim (Weitkamp 1999). Zeolit yang sudah dikondisikan ini kemudian ditentukan nilai Kapasitas Tukar Kation (KTK) dan dibuat berukuran nanometer

dengan menggunakan alat *Planetary Ball Milling* (PBM). Al Jabri (2008) mengondisikan zeolit secara asam memperoleh hasil berupa terjadinya peningkatan nilai KTK zeolit. Nilai KTK yang semakin tinggi mengindikasikan zeolit semakin bersifat hidrofilik sehingga baik digunakan sebagai matriks pengimobilisasi enzim. Nanopartikel zeolit (NPZ) dibuat dengan metode *top down* sehingga diperoleh partikel berukuran 97,5 nm setelah diukur menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA).

Peran Enzim SOD sebagai Pengenal Hayati

SOD memiliki efek regeneratif pada jaringan yang mengalami kerusakan akibat faktor usia, penyakit, dan luka (Lefaix 1993) serta mengkatalis dismutasi radikal anion superoksida menjadi hidrogen peroksida. SOD memiliki situs aktif berupa histidin dan asparagin seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Situs aktif pada Enzim Superoksida Dismutase

Penggunaan enzim SOD murni dari eritrosit sapi (EC Number 1.15.1.1) sebagai pengenal hayati pada biosensor merupakan kendala karena harga enzim mahal. Oleh sebab itu, penggunaan bakteri penghasil SOD merupakan solusi untuk menekan biaya. SOD telah diisolasi dari bakteri hipertermofilik dari *Aquifex pyrophilus*, *Thermothrix sp*, *Rhodothermus sp*, *Bacillus sp*. MHS47 (Areekit *et al.* 2011) dan *Deinococcus radiophilus* (Yun *et al.* 2004). Menurut Yuan *et al.* (2007), *Deinococcus radiodurans* (*D. radiodurans*) juga merupakan salah satu bakteri penghasil SOD. Bakteri ini merupakan gram positif, aerob, dan non patogen yang sangat resistan terhadap radiasi ultraviolet, ionisasi, dan *Radical Oxidative Species* (ROS). Kemampuan *D. radiodurans* ini karena terdapat Mn-SOD dan katalase yang dapat melindungi dari serangan radiasi. Berdasarkan aktivitas spesifiknya, *D. radiodurans* memiliki potensi untuk digunakan sebagai komponen pengenal pada biosensor antioksidan.

Bakteri *D. radiodurans* dapat ditumbuhkan pada media luria bertani cair selama 48 jam dengan suhu 30 °C. Sel bakteri dipecah untuk mengekstrak protein pada sitoplasma sel yang mengandung enzim SOD. Protein yang terekstrak memiliki konsentrasi sebesar 6246 µg/mL.

Konsentrasi ini lebih kecil dibandingkan dengan Mn-SOD yang dihasilkan dari udang *Macrobrachium nipponense* sebesar 17100 µg/mL (Yao *et al.* 2004). Sedangkan Seatovics *et al.* (2004) mendapatkan ekstrak kasar Mn-SOD dari bakteri *Thermotherix sp.* sebanyak 53 mg/17.5 mL. Kecilnya rendemen ekstrak yang dihasilkan dibandingkan dengan yang lain diduga karena *D. radiodurans* memiliki dinding sel yang tebal. Selain itu, bentuknya yang tetrad dan besar menyebabkan sulit untuk memecah dinding sel *D. radiodurans* dan mengekstrak sitoplasmanya (Trivadila 2011).

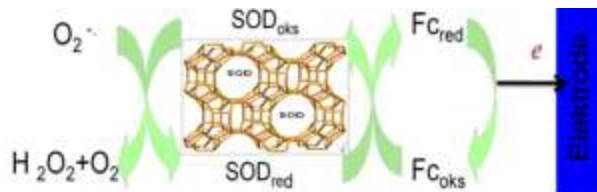
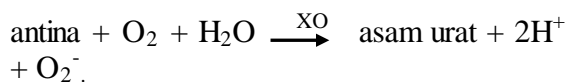
Imobilisasi Ekstrak SOD dalam NPZ

Stabilitas dan sensitivitas sangat dibutuhkan dalam penentuan kinerja analitik dari sebuah alat biosensor. Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh adanya perubahan suhu dan pH yang ekstrim, karena dapat membuat enzim mudah terdenaturasi. Untuk menjaga fungsi katalitik enzim pada kondisi ekstrim tersebut, dilakukan imobilisasi pada permukaan material penyangga padat. Enzim redoks banyak digunakan dalam biosensor elektrokimia karena enzim ini dapat menghasilkan elektron dalam mengkatalisis suatu substrat menjadi produk, sehingga elektron ini yang akan

dideteksi pada transduser (Grieshaber *et al.* 2008). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menjaga kestabilan enzim adalah dengan melakukan imobilisasi enzim pada material yang berpori dan untuk meningkatkan stabilitas dapat digunakan nanomaterial (Mateo *et al.* 2007).

Enzim memiliki stabilitas dan sensitivitas yang tinggi jika dalam kondisi normal, tapi sangat sensitif terdenaturasi oleh pH dan suhu yang ekstrim, pelarut organik, dan deterjen. Untuk menjaga fungsi katalitik enzim pada kondisi ekstrim ini, maka dilakukan imobilisasi pada permukaan material penyangga padat. Selain dipengaruhi oleh substrat, stabilitas biosensor juga dipengaruhi oleh metode imobilisasi dan material penyangga (matriks) yang digunakan (Zhou *et al.* 2007). Goriushkina *et al.* (2010) telah menggunakan zeolit untuk imobilisasi glukosa oksidase dan Balal *et al.* (2009) telah menggunakan zeolit untuk modifikasi elektrode pasta karbon yang digunakan untuk mengukur kadar dopamin dan triptofan. Beberapa penelitian ini menunjukkan bahwa zeolit yang digunakan sebagai matriks imobilisasi dapat meningkatkan stabilitas enzim pada permukaan elektrode pasta karbon. Adapun interaksi antara enzim SOD dengan radikal superoksida

dideskripsikan pada Gambar 5. Radikal superoksida dihasilkan dari reaksi Xantin dan XO mengikuti reaksi sebagai berikut:



Gambar 5. Proses transfer dari reaksi enzimatis SOD terimobilisasi dalam NPZ ke permukaan elektrode pasta karbon yang dimediasi oleh ferosen (Weniarti, 2011)

Radikal superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzimatis ini berperan sebagai substrat dari reaksi yang dikatalis oleh SOD yang diimobilisasi pada permukaan elektrode pasta karbon dilapisi NPZ. Reaksi ini akan menghasilkan arus puncak oksidasi dan reduksi. NPZ dibuat dari zeolit yang merupakan kristal alumino silikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensi. Zeolit yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Bayah yang merupakan daerah penghasil zeolit terbesar di Indonesia. Imobilisasi enzim pada zeolit bertujuan untuk mempertahankan aktivitas dan stabilitas enzim. Sedangkan ukuran zeolit yang dibuat nanometer bertujuan agar interaksi antara pengisi dan matriks semakin tinggi. Semakin tinggi interaksi, maka semakin

stabil enzim tetap berada di tempatnya. Penelitian Fadilah (2013) menunjukkan bahwa elektrode pasta karbon terimobilisasi nanopartikel zeolit, akan menghasilkan arus yang lebih tinggi dan memiliki stabilitas yang baik dalam percobaan berulang-ulang, memiliki daerah yang linier, dan membuat pengukuran menjadi lebih sensitif.

Optimasi Nanopartikel Zeolit sebagai Matriks Imobilisasi

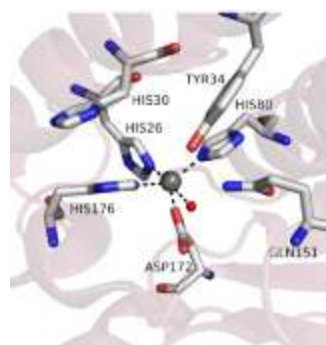
Selain konsentrasi nanopartikel zeolit, parameter-parameter lain perlu dioptimumkan pada aktivitas biosensor antioksidan dilakukan dengan menggunakan rancangan percobaan metode permukaan respon (*Response Surface Method*, RSM). Parameter-parameter yang dioptimumkan tersebut adalah pH, konsentrasi ekstrak SOD dari *D. radiodurans*, dan untuk perbandingan, dilakukan optimasi juga untuk konsentrasi enzim murni SOD dari hati sapi. Optimasi dilakukan dengan membuat variasi untuk faktor yang berpengaruh signifikan terhadap respon. Faktor tersebut dioptimasi menggunakan metode RSM yang merupakan himpunan metode matematika dan statistika yang bertujuan mengoptimalkan respon. Kelebihan optimasi menggunakan RSM dibandingkan dengan konvensional adalah

RSM dapat mengoptimasi faktor dengan melihat hubungan antar sesama faktor dengan respon dalam waktu bersamaan.

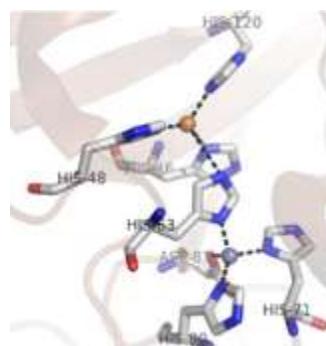
Setelah dilakukan optimasi pada masing-masing enzim, kondisi optimum pada ekstrak kasar dan enzim murni SOD memiliki beberapa variasi yang berbeda.

Hasil pengukuran antara ekstrak kasar dan enzim murni SOD menunjukkan perbedaan arus yang dihasilkan secara signifikan. Hal ini karena adanya perbedaan dalam hal struktur keduanya. Perbedaan struktur enzim murni SOD dan dari ekstrak bakteri *D. radiodurans*, menyebabkan hasil pengukuran optimum menjadi berbeda. Gambar 6 menyatakan perbedaan struktur enzim SOD yang diekstrak dari bakteri *D. radiodurans* dan enzim SOD dari eritrosit sapi. Enzim SOD dari eritrosit sapi yang memiliki tipe Cu/Zn-SOD yang merupakan enzim dimer dengan setiap monomer berisi satu situs aktif Cu dan satu situs aktif Zn yang dihubungkan oleh histidin imidazol. Cu diikat tiga histidin lain dan membentuk struktur distorsi planar persegi dengan satu penambahan molekul air, sedangkan Zn yang diikat dua histidin dan satu aspartat sebagai tambahan pada jembatan imidazol. Sedangkan enzim SOD yang diekstrak dari bakteri *D. radiodurans* adalah tipe Mn-SOD yang merupakan enzim dimer dengan satu atom Mn untuk setiap unit. Pada situs

aktif, Mn diikat tiga residu histidin, satu residu asam aspartat, dan molekul pelarut sebagai ligan kelima. Ligan ini diikat sebagai hidroksida ketika Mn dalam keadaan oksidasi dan proses protonisasi selama reduksi Mn. Perbedaan struktur menyebabkan Cu/Zn SOD dan Mn-SOD memiliki reaksi mekanisme yang berbeda, yang berakibat pula pada perbedaan pengukuran karena respon yang berbeda (Abreu & Cabelli, 2010).



(a)



(b)

Gambar 6. Struktur enzim SOD yang diekstrak dari bakteri *D. radiodurans* (a) dan enzim murni SOD dari eritrosit sapi (b)

KESIMPULAN

Nanopartikel zeolit berhasil digunakan sebagai matriks pengisi pada elektrode

biosensor. Hal ini ditandai dengan diperolehnya arus yang tinggi pada kondisi optimum masing-masing elektrode, baik untuk elektrode ekstrak enzim SOD dari *D. radiodurans* maupun elektrode enzim

murni SOD dari eritrosit sapi. Namun karena memiliki struktur dan respon yang berbeda, maka mekanisme reaksi dan pengukuran arus yang dihasilkan akan berbeda pula.

DAFTAR RUJUKAN

- Abreu I. A, Cabelli D. E. 2010. Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations. *BBAPAP 1804*, hh. 263-274.
- Areekit, S., Kanjanavas, P., Khawsak, P., Pakpitchareon, A., Potivejkul, K., Chansiri, G., Chansiri, K.,. 2011. Cloning, expression, and characterization of thermotolerant manganese superoxide dismutase from bacillus sp. mhs47. *Int Journal of Molecular Sciences*, vol. 12, hh. 844-856.
- Balal, K., Mohammad, H., Bahareh, Ali, BMH., Mozhgam, Z. 2009. Zeolite nanoparticle modified carbon paste electrode as a biosensor for simultaneous determination of dopamine and tryptophan. *Journal of Chinese Chemical Society*, vol. 56, hh. 789-796.
- Campanella, L., Bonnani, A., Bellantoni, D., Favero, G., Tomasseti, M. 2004. Comparison of fluorimetric, voltametric dan biosensor methods for determination of total antioxidant capacity of drug products containing acetylsalicylic acid. *Journal of Pharm*, vol. 27, no.1, hh. 25-32.
- Castillo, J., Gaspar, S., Leth, S., Niculescu, M., Mortari, A., Bontidean, I., Soukharev, V., Dorneanu, SA., Ryabov, AD., Soregi, E. 2004. Biosensor for life quality design, development and application. *Journal of Sensor and Actuators*, vol. B no. 102, hh. 179-194.
- Devasagayam, TPA., Tilak, JC., Bolor, KK., Sane, KS., Ghaskadbi, SS., Lele, RD. 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *JAPI*, vol. 52, hh. 794-804.
- Fadhilah, R. 2013. *Biosensor Glukosa Menggunakan GDH-FAD yang Diimobilisasi pada Nanopartikel Zeolit secara Elektrokimia*. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

- Goriushkina, TB., Kurç, BA., Sacco, Jr. A., Dzyadevych, SV. 2010. Application of zeolites for immobilization of Glucose Oxidase in amperometric biosensors. *Journal of Sensor Electronics and Microsystem Technologies*, vol. 1, hh. 36-42.
- Grieshaber, D., MacKenziel, R., Vorosl, J., Reimhult, E. 2008. Review paper guanine and adenine biosensor. *Journal of Biosensor and Bioelectron* vol. 24, hh. 591-599.
- Iswantini, D., Nurhidayat, N., Trivadila, Nurcholis, W. 2013. Antioxidant Biosensor Using Microbe. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, vol. 78, hh. 1272-1279.
- Khalaf, NA., Shakya, AK., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. 2008. Antioxidant activity of some common plants. *Turkey Journal of Biology*, vol. 32, hh. 51-55.
- Khasanah, M., Supriyanto, G., Azhar, AP. 2013. Pengembangan Sensor Kreatinin melalui Modifikasi Elektroda Hanging Mercury Drop dengan Molecularly Imprinted Polianilin. *Jurnal Media Kimia FST*, vol. 1, no. 1, hh. 7-13.
- Kohls, DJ., Beaucage, G. 2002. Structural changes in precipitated silica induced by external forces. *Journal of Chemistry Physic*, vol. 132, hh. 154-163.
- Lefaix, JL., Delanian, S., Leplat, JJ., Tricaud, Y., Martin, M., Hoffschir, D., Daburon, F., Baillet, F. 1993. Radiation Induced Cutaneo Muscular Fibrosis (III): Major Therapeutic Efficacy of Liposomal Cu/Zn Superoxide Dismutase. *Journal of Nature Genetic*, vol. 80, no. 9. hh. 799-807.
- Lindley, MG. 1998. The Impact of Food Processing on Antioxidants in Vegetable Oils, Fruits and Vegetables. *Trends Food Science Technology*, vol. 9, hh. 336-340.
- Mateo, C., Palomo, JM., van Langen, LM., van Rantwijk, F., Sheldon, RA. 2004. A new mild crosslinking methodology to prepare crosslinked enzyme aggregates. *Biotech Bioeng*, vol. 86, no. 3, hh. 273-276.
- Pilan, L., Raicopol, M. 2014. Highly selective and stable glucose biosensors based on polyaniline/carbon nanotubes composites, *Journal of Science and Bull*, vol. B, no. 76, hh. 155-166.
- Seatovic, S., Gligic, L., Radulovic, Z., Jacikov, RM. 2004. Purification and partial characterization of SOD from thermophilic bacteria *Thermotherix* sp., *Journal of Serbia Chemistry Society*, vol 96, hh. 9-16.
- Tang, YR. 2003. *Adsorbent Fundamental and Applications*, Ottawa: J Wiley.

- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 19, hh. 669-675.
- Trivadila. 2011. *Biosensor antioksidan menggunakan superoksida dismutase Deinococcus radiodurans diimobilisasi pada permukaan elektrode pasta karbon dan parameter kinetiknya*. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Wang, H., Zhou, C., Liang, J., Yu, H., Peng, F., Yang, J. 2008. High sensitivity glucose biosensor based an Pt electrode position onto low-density aligned carbon nanotubes. *Journal of Electrochemistry Sciences*, vol. 3, no. 11, hh. 1258-1267.
- Weitkamp. 1999. *Nanosized zeolite crystals: Catalysis and Zeolites, Fundamentals and Applications, Encyclopedia of Chemical Physics and Physical Chemistry: Applications*. University of Cincinnati.
- Weniarti. 2011. *Biosensor antioksidan berbasis superoksida dismutase Deinococcus radiodurans diimobilisasi pada nanokomposit zeolit alam Indonesia*. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Yao, C., Way, AL., Wang, WN., Sun, RY. 2004. Purification and partial characterization of Mn-SOD from muscle tissue of the shrimp *Macrobrachium nipponense*. *Journal of Aquaculture*, vol. 24, hh. 621-631.
- Yuan, WY., Bing, T., Yuejin, H. 2007. A novel gene of *Deinococcus radiodurans* responsible for oxidative stress. *Journal of Chinese Science Bul*, vol. 15, hh. 2081-2087.
- Yun, YS., Lee, YM. 2003. Production of Superoxide Dismutase by *Deinococcus radiophilus*. *Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, vol. 36, no. 3, hh. 282-287.
- Zhao, C., Wan, L., Wang, Q., Liu, S., Jiao, K. 2009. Highly sensitive and selective uric acid biosensors based on direct electron transfer of hemoglobin-encapsulated chitosan-modified glassy carbon electrode. *Journal of Analytical Sciences*, vol. 5, hh. 1013-1017.
- Zhou, X., Yu, T., Zhang, Y., Kong, J., Tang, Y., Marty, JL., Liu, B. 2007. Nanozeolite-assembled interface towards sensitive biosensing. *Journal of Electrochemistry Communications*, vol. 9, hh. 1525-1529.