

FRAKSINASI ENZIM LACCASE DARI *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN METODE PENGENDAPAN NH₄(SO₄)₂ DAN AKTIVITASNYA SEBAGAI PENGURAI AFLATOKSIN B1

Heni Tyas Utami

15/388428/PPA/04867

INTISARI

Fraksinasi pengendapan NH₄(SO₄)₂ terhadap kultur media pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* telah dilakukan dengan tingkat fraksinasi 50%, 50-65%, dan 65-70% untuk mendapatkan enzim laccase. Dengan melakukan fraksinasi NH₄(SO₄)₂ terhadap kultur pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang bersifat patogen, diharapkan diperoleh ekstrak enzim yang terpisah dari bakteri patogen, sehingga dapat diaplikasikan pada kacang tanah sebagai campuran dari pakan ternak. Fraksi enzim yang mempunyai aktivitas paling tinggi diaplikasikan terhadap senyawa toksik Aflatoksin B1 (AFB1) pada kacang tanah. Aktivitas laccase ditentukan dengan mengamati reaksinya terhadap senyawa guaiacol dan syringaldazin. Aplikasi laccase terhadap AFB1 pada kacang tanah dilakukan dengan menginkubasi campuran ekstrak kacang yang mengandung AFB1 dengan cairan enzim laccase dalam inkubator bersuhu 37 °C selama 72 jam. Penentuan AFB1 yang terdegradasi dilakukan dengan alat LC-MS/MS pada mode ESI (*electron spray ionization*) positif. Transisi ion diamati pada program *multiple reaction monitoring* (MRM) pada massa ion m/z 313 ke 285 dan 313 ke 241. Hasil uji sampel yang diberi enzim dibandingkan dengan sampel kontrol tanpa enzim kemudian dihitung prosentase penurunan AFB1

Ekstrak kasar laccase dapat diisolasi dari kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan aktivitas spesifik 0,3695 U/mg pada guaiacol dan 1,1656 U/mg pada syringaldazin. Aktivitas laccase pada fraksi 50% NH₄(SO₄)₂ mempunyai nilai tertinggi diantara fraksi lainnya, dengan nilai 1,6668 U/mg pada guaiacol dan 2,4715 U/mg pada syringaldazin. Degradasi AFB1 menggunakan enzim fraksinasi 50% NH₄(SO₄)₂ dengan volume 100, 200, 300, 400, dan 500 µL pada ekstrak kacang yang masing-masing mengandung 100 ppb AFB1, dapat menurunkan aflatoksin B1 berturut-turut sebesar 21,3 ; 36,30 ; 48,72 ; 58,14; dan 54,11%.

Kata kunci: Aflatoksin B1, laccase

***FRACTIONATION OF LACCASE ENZYM FROM *Pseudomonas aeruginosa*
USING (NH₄)₂SO₄ PRECIPITATION AND ITS ACTIVITY IN B1
AFLATOXIN DEGRADATION***

Heni Tyas Utami
15/388428/PPA/04867

ABSTRACT

Fractionation of NH₄(SO₄)₂ on the culture of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria has been done with 50%, 50-65%, and 65-70% fractionation to obtain laccase enzyme. By precipitating the bacterial culture of pathogenic *Pseudomonas aeruginosa*, it is expected to obtain an enzyme extract separated from the pathogenic, therefore it can be applied to ground nut as a mixture of animal feed. The enzyme fraction having the highest activity was applied to the toxic compound of B1 Aflatoxin B1 (AFB1) on ground nuts. The laccase activity is determined by observing its reaction to guaiacol and syringaldazine compounds. The application of laccase to AFB1 was done by incubating the ground nut extract mixture containing AFB1 with laccase enzyme in an incubator at 37°C for 72 hours. Determination of degraded AFB1 was done by LC-MS / MS in positive ESI (electrone spray ionization) mode. Ionic transitions were observed in multiple reaction monitoring (MRM) with ion mass transition m/z 313 to 285 and 313 to 241. The results of the enzyme-treated sample were compared with the control test and then calculated as the decrease percentage of AFB1.

The crude extract laccase can be isolated from bacterial culture of *Pseudomonas aeruginosa* having the specific activity of 0.3695 U/mg for the test with guaiacol, and 1.1656 U/mg for syringaldazin. The enzyme activity of the 50% NH₄(SO₄)₂ fraction is the highest activity among the other fractions, with a value of 1.6668 U/mg for guaiacol test, and 2.4715 U/mg for syringaldazine test. Degradation of AFB1 using laccase from 50% NH₄(SO₄)₂ fraction with the volumes 100, 200, 300, 400, and 500 µL in ground nut extracts containing 100 ppb AFB1 can decrease aflatoxin B1 by 21.3; 36.30; 48.72; 58.14; and 54.11%.

Keywords: Aflatoxin B1, laccase