

Pemurnian hyaluronidase testis sapi Bali dengan kromatografi afinitas

Niza Nemara, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20236844&lokasi=lokal>

Abstrak

Telah dilakukan pengembangan metode pemurnian hyaluronidase testis sapi Bali menggunakan teknik pemisahan kromatografi afinitas. Hyaluronidase testiskular (E.C.3.2.1.35) adalah enzim yang dapat menghidrolisis asam hyaluronat. Hyaluronidase dari testis sapi Bali difraksionasi dengan amonium sulfat, setelah dialisis dilakukan pemurnian menggunakan kolom kromatografi afinitas sepharose blue CL-6B, diperoleh aktivitas spesifik sebesar $102,93 \times 10^{-3}$ U/mg dengan tingkat pemurnian 53,70 kali dan rendemen 64,24 % dari ekstrak kasar. Fraksi sepharose blue CL-6B yang diperoleh dimurnikan lebih lanjut dengan kolom imunoafinitas CNBr-activated Sepharose 4 FF dengan immunoglobulin G spesifik hyaluronidase (IgG diperoleh dari imunisasi kelinci dewasa dengan standar hyaluronidase) diperoleh aktivitas spesifik $705,89 \times 10^{-3}$ U/mg dengan tingkat pemurnian 388,86 kali dan rendemen 38,62 %. Pemurnian hyaluronidase dari fraksi sepharose blue CL-6B yang dilanjutkan dengan kromatografi penukar ion DEAE FF memiliki aktivitas spesifik $307,65 \times 10^{-3}$ U/mg, tingkat pemurnian 169,49 kali dan rendemen 48,66 % dari ekstrak kasar. Dengan elektroforesis gel SDS-PAGE diperkirakan bobot molekul hyaluronidase testis sapi Bali 61,52 kDa. Dalam larutan dapar glisin aktivitas enzim optimum pada pH 5,0. Hyaluronidase dalam fraksi pemurnian relatif stabil bila disimpan pada suhu 0 oC dibanding pada suhu 4 oC dan 25 oC., setelah 12 hari penyimpanan fraksi pemurnian enzim mengalami penurunan aktivitas sebesar 41,51% (ekstrak kasar), 34,63 % (fraksi amonium sulfat) dan 37,42 % (dialisis).

.....Testicular hyaluronidase (E.C.3.2.1.35) is an enzyme that hydrolyzes hyaluronic acid. Extracted Hyaluronidase from Bali bovine testis was fractionated by ammonium sulphate followed by dialysis and purification over affinity chromatography on sepharose blue CL-6B. Spesific activity of purified hyaluronidase was $102,93 \times 10^{-3}$ U/mg with 53,70-fold purification and yielded 64,24 % as to the original crude extract. The fractionated sepharose blue CL-6B was chromatographed by CNBr activated sepharose 4FF which was coupled with rabbit immunoglobulin (IgG) spesific to hyaluronidase. Spesific activity of purified enzyme was $705,89 \times 10^{-3}$ U/mg with 388,86-fold purification and yield 38,62 %. Purification of the fractionated sepharose blue CL-6B by ion exchanger chromatography produced the purified enzyme with spesific activity $307,65 \times 10^{-3}$ U/mg, purification 169,49-fold and yield 48,66 %. The molecular weight of hyaluronidase isolated from Bali bovine testis estimated by SDS-PAGE was 61,52 kDa. The optimum hydrolytic activity of enzyme in glycine buffer was on pH 5,0. The stability of enzyme at 0 oC was better than at 4 oC and 25 oC, the enzyme activity decreased until 41,51 % (crude extract), 34,63 % (ammonium sulphate fractionated) and 37,42 % (dialysis) after 12 days incubation.