

Eksplorasi enzim pereduksi sitoglobin dari ekstrak hati sapi = Exploration of cytoglobin reducing enzymes from bovine liver extract

Nabilla Sonia Sahara, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20485573&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar belakang: Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa sitoglobin (Cygb) dapat mengikat beberapa jenis gas dengan jenis spektrum yang berbeda. Disisi lain juga ditemukan bahwa Cygb teroksidasi dapat direduksi dengan supernatan homogenat sel hati sapi yang dibuktikan dengan peningkatan produksi Cygb-Fe²⁺ dari Cygb-Fe³⁺. berdasarkan penemuan ini diduga bahwa di jaringan hati sapi, terdapat suatu protein yang berperan sebagai reduktase yang analog dengan *diaphorase* pada metHb dan *cytochrome b5 reductase 3* (CYB5R3) pada metMb.

Metode: dugaan enzim pada homogenat hati sapi diisolasi menggunakan *RIPA lysis buffer* dan dipurifikasi oleh kromatografi *Cibacron blue* dikonfirmasi dengan SDS-PAGE dan *Western blot*. Aktivitas dari dugaan enzim reduktase ditentukan dengan ratio absorbansi maksimum antara Cygb-Fe³⁺ (metCygb) dan Cygb-Fe²⁺ (deoksiCygb).

Hasil: dugaan enzim dari sel lisat dengan *RIPA buffer* dimurnikan menggunakan kromatografi *Cibacron blue* ditunjukkan puncak B diduga sebagai CYB5R3. hasil tersebut dikonfirmasi dengan *Western blot*, yang mampu mereduksi Cygb-Fe³⁺ menjadi Cygb-Fe²⁺ dan menunjukkan kesamaan karakteristik dengan lisat hati sapi. lisat hati sapi menunjukkan kemampuan yang lebih baik dalam mereduksi Cygb-Fe³⁺ menjadi Cygb-Fe²⁺ dibandingkan puncak A eluat kromatografi *Cibacron blue*. Analisis berat molekul dengan SDS-PAGE dibuktikan adanya satu pita dengan berat molekul ~50 kDa pada puncak A, ~60 kDa pada puncak B, dan lisat hati sapi, sedangkan CYB5R3 ditampilkan satu pita dengan berat molekul 34 kDa. Cygb-Fe³⁺ tidak dapat direduksi oleh *diaphorase*.

Simpulan: Kami menyimpulkan bahwa terdapat enzim reduktase yang dapat mereduksi Cygb-Fe³⁺ menjadi Cygb-Fe²⁺ dalam lisat hati sapi dan puncak B dari kromatografi gel *Affi blue*, tapi enzim reduktase tersebut bukan merupakan *diaphorase* maupun CYB5R3.

Kata kunci: kromatografi, hemoglobin, purifikasi, enzim reduktase

Background: In previous studies it has been proven that cytoglobin (Cygb) is able to bind several types of gases with a typical spectrum pattern. On the other hand it was also found that oxidized Cygb can be reduced by supernatant of bovine liver cell homogenate as proven by increased production of Cygb-Fe²⁺ from Cygb-Fe³⁺. Based on these findings we suspected that in bovine liver tissue, there is a protein act as a reductase which is analogous to *diaphorase* in metHb and *cytochrome b5 reductase 3* (CYB5R3) in metMb.

Method: The putative enzyme in bovine liver homogenate was isolated using *RIPA lysis buffer* and purified by *Cibacron blue* chromatography confirmed by SDS-PAGE and *Western blot*. The activity of suspect reductase enzyme is determined by the ratio of maximum absorbance between Cygb-Fe³⁺ (metCygb) and Cygb-Fe²⁺ (deoxyCygb).

Result: The putative enzyme from lysate cell with *RIPA buffer* was purified using *Cibacron blue* chromatography showed the peak B is suspected as CYB5R3. It was confirm by *Western blot*, which was able to reduce Cygb-Fe³⁺ to Cygb-Fe²⁺ and

showed the same characteristic with the lysate bovine liver. Lysate of bovine liver showed a better capability in reducing Cygb-Fe³⁺ to Cygb-Fe²⁺ than peak A of Cibacron blue chromatography eluate. Molecular weight analysis with SDS-PAGE showed a band with ~50 kDa in peak A, ~60 kDa in peak B, and lysate of bovine liver, while CYB5R3 showed a band with 34 kDa. Cygb-Fe³⁺ cannot be reduce by the diaphorase.

Conclusion: We concluded that there is a reductase enzyme which can reduce Cygb-Fe³⁺ to Cygb-Fe²⁺ in the lysate bovine liver and peak B of Affi blue gel chromatography, but it is not a diaphorase nor CYB5R3.