

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Co^{2+} , Fe^{3+} ,
 Ba^{2+} , K^{+} TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR
ENZIM SELULASE DARI ISOLAT *Bacillus subtilis*
STRAIN SF01**



YEHEZKIEL BILLY OENTORO
2443012019

PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2015

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , K^{+}
TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE
DARI ISOLAT *Bacillus subtilis* STRAIN SF01**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana
Farmasi Progam Studi Strata I di Fakultas Farmasi Universitas Katolik
Widya Mandala Surabaya

OLEH:

YEHEZKIEL BILLY OENTORO

2443012019

Telah disetujui pada tanggal 15 Desember 2015 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,



Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt
NIK. 241.97.0283

Mengetahui,
Ketua Penguji



(Prof. Dr. J&S Ami Soewandi., Apt)
NIK. 241.02.0452

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Penambahan Ion Logam Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , K^{+} Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat *Bacillus subtilis* Strain SF01** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 01 Desember 2015



Yehezkiel Billy Oentoro
2443012019

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya
peroleh

Surabaya, 01 Desember 2015



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Yehzekiel Billy Oentoro'.

Yehzekiel Billy Oentoro
2443012019

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , K^{+} TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI ISOLAT *Bacillus subtilis* STRAIN SF01

**YEHEZKIEL BILLY OENTORO
2443012019**

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} dan K^{+} terhadap aktivitas enzim selulase asal bakteri *Bacillus subtilis* SF01. Selulase diproduksi dengan fermentasi isolat bakteri pada media NB + CMC 1% selama 21 jam. Kadar protein dalam ekstrak kasar enzim ditentukan dengan metode Bradford dan pembanding *Bovine Serum Albumin*. Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0, 60°C selama 45 menit. Gula pereduksi yang dihasilkan diuji secara spektrofotometri dengan metode asam 3,5-dinitrosalisilat dan pembanding glukosa. Pengaruh ion logam ditentukan dengan menginkubasi enzim dan larutan ion logam berbagai konsentrasi selama 20 menit sebelum reaksi enzim substrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion Co^{2+} , K^{+} dan Ba^{2+} meningkatkan aktivitas spesifik enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 secara bermakna (*One way Anova, Post Hoc Tukey HSD*, $\alpha = 95\%$), sedangkan ion Fe^{3+} tidak memberikan efek pada aktivitas spesifik enzim selulase.

Kata Kunci : aktivator, *Bacillus subtilis* SF01, selulase, ion logam

ABSTRACT

THE EFFECT OF Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , K^{+} METAL IONS ADDITION ON CELLULASE ENZYME CRUDE EXTRACT ACTIVITIES FROM *Bacillus subtilis* STRAIN SF01 ISOLATE

YEHEZKIEL BILLY OENTORO
2443012019

A study to determine the effect of Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} and K^{+} metal ions addition on cellulase enzyme activity of *Bacillus subtilis* SF01 strain had been conducted. Cellulase was produced by bacterial fermentation in NB media + 1% CMC for 21 hours. Enzyme level was determined by Bradford method with Bovine Serum Albumin as the reference. Cellulase activity was tested using 1% CMC substrate at pH 5.0, 60° C for 45 minutes. The yielded reducing sugar was determined spectrophotometrically by 3,5-dinitrosalicylic acid method with glucose. Metal ion effect was determined by incubating the enzyme with various concentrations of the metal ion solutions for 20 minutes prior to the enzyme substrate reaction. The results showed that Co^{2+} , K^{+} and Ba^{2+} ions significantly increased the specific activity of cellulase enzyme originated from *Bacillus subtilis* SF01 strain (*One way Anova, post hoc Tukey HSD*, $\alpha = 95\%$), whereas Fe^{3+} showed no effect on cellulase enzyme specific activity.

Keywords: activactor, *Bacillus subtilis* SF01, cellulase, metal ion

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Tuhan Yesus atas segala kasih dan pertolongannya sehingga dapat terselesaikannya skripsi yang berjudul **“PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Co^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} , K^{+} TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI ISOLAT *Bacillus subtilis* STRAIN SF01”**. Adapun skripsi ini merupakan prasyarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Menyadari tanpa bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka rasa terima kasih yang sebesar - besarnya disampaikan kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat pertolongan, hikmat dan urapan yang luar biasa kepada saya sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Papa saya Oen Tjiong Hwat, Mama saya Ivone Triwahyuni, Cece saya Ang Karina, Koko saya Ang Tomson dan semua keluarga besar yang telah memberikan dukungan moral maupun materi sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Terima kasih untuk cinta dan kasih sayang kalian.
3. Ibu Dr. Lanny Hartanti, M.Si, dan Bapak Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta dukungan, petunjuk, pemikiran, petuah, wejangan dan saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
4. Lydwina Andriani Yoe dan keluarga besar yang telah memberikan semangat, doa dan tenaganya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi. Terima kasih juga telah menjadi keluarga bagi penulis selama menempuh

pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Bapak Prof. Dr. Ami Soewandi, Apt. dan Bapak Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna bagi penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas sarana dan prasarana serta kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
7. Dekan Fakultas Farmasi Ibu Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt yang telah membantu dalam memberikan sarana dan fasilitas sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
8. Ibu Catherina Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku wali studi yang telah memberikan dorongan dan arahan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
9. Dirjen DIKTI Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi sebagai institusi penyumbang dana selama pengerjaan skripsi.
10. Mbak Tyas, Mas Randy dan Mas Antok yang membantu penulis dalam pengerjaan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
11. Kepala laboratorium Proteomik Institute Tropical Disease Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasana penunjang sehingga skripsi ini boleh selesai dengan baik.
12. Tim *supervisor* Lab Proteomik, Mas Ivan, Mbak Anita dan Mbak One yang tetap tulus dan sabar dalam memberikan penjelasan dan arahan kepada penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
13. Sahabat – sahabat tercinta Kenny Wijaya, Lupita Thalia, Claudio Dassmer, Septin Putri dan Denanda Rosita yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.

14. Teman – teman seperjuangan SF01 *crew* Ce Revon, Kak Sonde, Lavenia, Paula, Liana, Hap-Hap yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
15. Sahabat – sahabat tercinta Y.O.L.O Puni, Mechael, KW, Pika, Lavenia, Feli Ang, Lita, Lanny, Elizabeth yang telah memberikan semangat, doa dan tenaganya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi. Terima kasih juga telah menjadi keluarga bagi penulis selama menempuh pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
16. Teman - teman seperjuangan angkatan 2012 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu serta memberikan dukungan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Menyadari keterbatasan pengetahuan dalam menyajikan skripsi ini, dengan senang hati penulis menerima kritik, saran, dan tanggapan yang positif untuk penyusunan skripsi ini.

Surabaya, 01 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Hipotesa Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan Tentang Mikroba Selulolitik	7
2.2. Isolat Bakteri Selulolitik Strain SF01	8
2.3. Tinjauan tentang Selulosa	11
2.4. Tinjauan tentang Enzim Selulase.....	12
2.5. Aktivitas Enzim	15
2.5.1. Pengaruh suhu.....	17
2.5.2. Pengaruh pH.....	18
2.5.3. Mekanisme Kerja Enzim dan Substrat	20
2.5.4. Aktivator	23

	Halaman
2.5.5. Inhibitor.....	23
2.6. Ion logam	24
2.6.1. Ion Logam K^+	25
2.6.2. Ion LOGam Co^{2+}	25
2.6.3. Ion LOGam Fe^{3+}	26
2.6.4. Ion LOGam Ba^{2+}	26
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1. Jenis Penelitian	28
3.2. Sampel, Bahan dan Alat Penelitian.....	29
3.2.1. Sampel Penelitian	29
3.2.2. Bahan Penelitian	29
3.2.3. Alat Penelitian	29
3.3. Metode penelitian	30
3.3.1. Pembuatan Media Cair Produksi.....	30
3.3.2. Pembuatan Media Cair Inokulum	30
3.3.3. Pembuatan Media Padat.....	30
3.3.4. <i>Buffer universal</i> pH 5.....	30
3.3.5. Substrat CMC 1%.....	31
3.3.6. Pembuatan Reagen Asam Dinitrosalisilat (DNS).....	31
3.3.7. Pembuatan Reagen <i>Bradford</i>	31
3.3.8. Pembuatan Kurva Standar glukosa	32
3.3.9. Pembuatan Kurva Standar Protein BSA.....	32
3.3.10. Produksi Enzim.....	32
3.3.11. Penentuan Kadar Protein Enzim	33
3.3.12. Uji Aktivitas Enzim (0ppm ion).....	33

	Halaman
3.3.13. Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Ion Logam	34
3.4. Analisis Data Kurva Baku Standar Glukosa Dan Aktivitas Spesifik Enzim Selulase	34
3.5. Analisis Data Kurva Standar Protein BSA, Penentuan Kadar Protein Dan Aktivitas Spesifik Enzim Selulase	35
3.6. Diagram Alir Penelitian	37
3.7. Diagram Alir Penentuan Ekstrak Kasar Enzim Selulase (0 ppm ion)	38
3.8. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Enzim Selulase dengan Berbagai Ion Logam	39
BAB 4. HASIL PEMBAHASAN	40
4.1. Hasil Percobaan	40
4.1.1. Kurva Standar Glukosa	40
4.1.2. Kurva Kadar Protein	42
4.1.3. Kurva Aktivitas Spesifik Ion Logam	43
4.1.3.1. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion K^+	43
4.1.3.2. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion Co^{2+}	45
4.1.3.3. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion Fe^{3+}	46
4.1.3.4. Kurva Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion Ba^{2+}	48
4.2. Pembahasan	49
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	57

	Halaman
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hasil BLAST isolat bakteri SF01.....	9
2.2. Hidrolisis berbagai substrat oleh enzim selulase	14
2.3. Contoh enzim yang memerlukan logam	24
4.1. Data kurva standar glukosa	40
4.2. Data kurva kadar protein.....	42
4.3. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion K^+	44
4.4. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion Co^{2+}	45
4.5. Data kurva aktivitas spesifik ion enzim selulase dengan penambahan ion Fe^{3+}	47
4.6. Data kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion Ba^{2+}	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur 3 dimensi selulase asal <i>Bisillus subtilis</i> 168 (3PZT) dengan kofaktor Mn^{2+} yang terdaftar pada Protein Data Bank	10
2.2. Struktur kimia selulosa	11
2.3. Degradasi selulosa oleh selulase	13
2.4. Klasifikasi enzim selulase.....	15
2.5. Aktivitas enzim selulase asal isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 pada berbagai variasi suhu	18
2.6. Aktivitas enzim selulase asal isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 pada berbagai variasi pH.....	19
2.7. Reaksi enzimatis.....	20
2.8. Interaksi antara substrat dan enzim model <i>Lock and Key</i>	22
2.9. Interaksi antara substrat dan enzim model <i>Induced Fit</i>	22
3.1. Diagram alir penelitian	37
3.2. Diagram alir penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase (0 ppm ion).....	38
3.3. Diagram alir penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan berbagai ion logam	39
4.1. Grafik kurva standar glukosa	41
4.2. Grafik kurva kadar protein.....	42
4.3. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion K^{+}	44
4.4. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion Co^{2+}	46
4.5. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion Fe^{3+}	47

Gambar	Halaman
4.6. Grafik kurva aktivitas spesifik enzim selulase dengan penambahan ion Ba^{2+}	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Pembuatan reagen.....	63
B. Hasil uji statistika kurva standar glukosa.....	65
C. Hasil uji statistika kurva standar BSA	67
D. Penentuan aktivitas enzim selulase dengan metode DNS	68
E. Penentuan kadar protein selulase dengan metode <i>Bradford</i> ..	69
F. Hasil uji SPSS (<i>One Way Anova; Pos Hoc Tukey HSD</i>) ($\alpha = 95\%$) variabel ion Ba^{2+}	70
G. Hasil uji SPSS (<i>One Way Anova; Pos Hoc Tukey HSD</i>) ($\alpha = 95\%$) variabel ion Fe^{3+}	72
H. Hasil uji SPSS (<i>One Way Anova; Pos Hoc Tukey HSD</i>) ($\alpha = 95\%$) variabel ion Co^{2+}	74
I. Hasil uji SPSS (<i>One Way Anova; Pos Hoc Tukey HSD</i>) ($\alpha = 95\%$) variabel ion K^{+}	76
J. Hasil uji SPSS (<i>Independent Sampel T-Test</i> , ($\alpha = 95\%$)) variabel ion K^{+} (konsentrasi 0 mM : 0,1 mM); (konsentrasi 0 mM : 0,5 mM); (konsentrasi 0 mM : 1 mM); (konsentrasi 0 mM : 5 mM); (konsentrasi 0 mM : 10 mM)	78
K. Table r.....	83
L. Tabel F.....	84