

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} DAN
ION NH_4^+ TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
SELULASE DARI *Bacillus subtilis* Strain SF01**



LAVENIA TANWIJAYA

2443012017

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA

2016

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} DAN
ION NH_4^+ TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
SELULASE DARI *Bacillus subtilis* Strain SF01**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

LAVENIA TANWIJAYA

2443012017

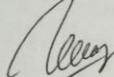
Telah disetujui pada tanggal 15 Januari 2016 dan dinyatakan LULUS

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. 241.02.0542

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi kepentingan ilmu pengetahuan, saya tidak menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Penambahan Ion Logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan Ion NH_4^+ terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *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, Januari 2016



Lavenia Tanwijaya

2443012017

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, Januari 2016



Lavenia Tanwijaya

2443012017

ABSTRAK

Pengaruh Penambahan Ion Logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan Ion NH_4^+ Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *Bacillus subtilis* Strain SF01

Lavenia Tanwijaya

2443012017

Telah dilakukan karakterisasi lanjut terhadap ekstrak kasar enzim selulase asal *Bacillus subtilis* strain SF01, yaitu menentukan manakah dari antara ion logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan ion NH_4^+ yang dapat menjadi aktivator atau inhibitor. Produksi selulase dilakukan dengan fermentasi *Bacillus subtilis* strain SF01 pada media Nutrient Broth (NB) + Karboksimetilselulosa (CMC) 1% selama 20 jam. Enzim ditentukan kadar proteinnya dengan metode Bradford dengan pembanding Bovine Serum Albumin (BSA). Ekstrak kasar enzim selulase ditambahkan larutan ion dengan variasi konsentrasi 0 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM, 100mM dan diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 60°C, kemudian enzim selulase ditambahkan substrat CMC 1% pada pH 5,0 dan diinkubasi kembali dengan suhu 60°C selama 45 menit. Setelah dilakukan inkubasi, ekstrak kasar enzim selulase direaksikan dengan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan diamati secara spektrofotometri pada λ 550 nm. Aktivitas enzim dibandingkan dengan kontrol tanpa ion logam (0 mM) dan dianalisis dengan *One Way* ANOVA ($\alpha=95\%$) dilanjutkan dengan *post hoc* Tukey HSD. Penambahan ion logam Fe^{2+} dan ion NH_4^+ tidak mempengaruhi aktivitas, namun pemberian ion logam Cu^{2+} dan Zn^{2+} mulai pada konsentrasi 5 mM bersifat sebagai inhibitor ekstrak kasar enzim selulase asal *Bacillus subtilis* strain SF01.

Kata kunci : *Bacillus subtilis* strain SF01, aktivator, inhibitor, selulase

ABSTRACT

Effect of the Addition of Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and NH_4^+ Ions on the Activity of Crude Extract of Cellulase Enzyme from *Bacillus subtilis* Strain SF01

Lavenia Tanwijaya

2443012017

This research was to further characterize the activity of metal ions such as Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} and NH_4^+ ion whether it will act as activator or inhibitor on crude extract of cellulase enzyme extracted from *Bacillus subtilis* SF01. Cellulase production was done by fermentation of *Bacillus subtilis* strain SF01 in Nutrient Broth (NB) + Carboxymethyl Cellulose (CMC) 1% medium for 20 hours. Determination of the enzyme's protein concentration was done by Bradford method using Bovine Serum Albumin (BSA) as standard solution. The crude extract of cellulase enzyme was added by ion solutions with concentration varying from 0 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM, 100 mM and incubated at 60°C for 20 minutes, then the crude extract was added by 1% of CMC substrate at pH 5,0 and incubated again at 60°C for 45 minutes. After the incubation, 3,5-dinitrosalysilicacid (DNS) was added to the enzyme and the absorbance of the solution was observed using spectrophotometric method at λ 550nm. The activity of enzyme was compared to control solution which was cellulose enzyme without addition of ions (0 Mm) and statistically compared using *One Way* ANOVA ($\alpha=95\%$) followed by *post hoc* Tukey HSD. The addition of Fe^{2+} metal ion and NH_4^+ ion did not affect the activity, but the addition of Cu^{2+} and Zn^{2+} starting from 5 mM concentration acted as inhibitor of crude extract of cellulase enzyme extracted from *Bacillus subtilis* SF01.

Keywords : *Bacillus subtilis* strain SF01, activator, inhibitor, cellulase

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga skripsi dengan judul **“PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} DAN ION NH_4^+ TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI *Bacillus subtilis* Strain SF01”** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi 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 yang luar biasa kepada penulis sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. 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, dan saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
3. 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.
4. 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.

5. 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.
6. Ibu Catherina Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku wali studi yang telah memberikan dorongan dan arahan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
7. Kepala laboratorium Proteomik Institut Tropical Disease Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasana penunjang sehingga skripsi ini boleh selesai dengan baik.
8. Tim *supervisor* Lab Proteomik ITD, Mas Ivan, Mbak Anita, Mbak One, Laboran Lab. Analisis Sediaan Farmasi UKWMS, Mbak Tyas dan Laboran Lab. Kimia Klinis UKWMS, Mas Rendy yang tetap tulus dan sabar dalam meluangkan waktu dan memberikan arahan kepada penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
9. Papa, Mama, Jefri, Rian dan semua keluarga besar yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Terima kasih untuk cinta dan kasih sayang kalian.
10. Sahabat – sahabat YOLO tercinta, Kevin Goenawan atas dukungan, kasih sayang dan *mood booster* bagi penulis , Elizabeth Adeline, Lanny Hiedarto, Yesika Vikasari, Feli Angelina, Angela Violita, Nana, Kevin Widjaja, Mechael Sutanto dan Billy Oentoro yang telah menghabiskan waktu bersama penulis sejak semester 2. Terima kasih untuk persahabatan yang gila, acara *hunting* makanan dan liburan bareng yang tidak akan penulis lupakan.

11. Teman – teman seperjuangan SF01 crew, Billy, Paula, Liana, Kristian, Ce Revon, Kak Putri yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
12. Teman - teman seperjuangan angkatan 2012, adik kelas, Denanda Rosita yang telah banyak membantu penulis 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, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Hipotesa Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tinjauan tentang Mikroba Selulolitik	7
2.2. Tinjauan tentang Isolat Bakteri Selulolitik Strain SF01	8
2.3. Tinjauan tentang Selulosa.....	11
2.4. Tinjauan tentang Enzim Selulase.....	12
2.4.1. Kerja enzim dan substrat.....	14
2.4.2. Aktivitas Spesifik Enzim	17
2.4.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim	19
2.5. Tinjauan tentang Ion Logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan Ion NH_4^+	22
2.5.1. Ion Fe^{2+}	22

	Halaman
2.5.2. Ion NH_4^+	23
2.5.3. Ion Zn^{2+}	24
2.5.4. Ion Cu^{2+}	24
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1. Jenis Penelitian	26
3.2. Sampel, Bahan dan Alat Penelitian	26
3.2.1. Sampel Penelitian	26
3.2.1. Bahan Penelitian	27
3.2.3. Alat Penelitian.....	27
3.3. Metode Penelitian.....	28
3.3.1. Pembuatan Media	28
3.3.2. Pembuatan Reagen, Larutan dan Substrat.....	29
3.3.3. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	31
3.3.4. Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase	31
3.3.5. Pembuatan Kurva Standar Protein	32
3.3.6. Penentuan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Selulase.....	33
3.3.7. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase.....	33
3.4. Analisis Data	34
3.5. Diagram Alir Penelitian.....	37
3.6. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase Tanpa Ion (0 mM)	38
3.7. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dengan Berbagai Ion.....	39
BAB 4. HASIL PEMBAHASAN	40
4.1. Hasil percobaan	40
4.1.1. Kurva Standar Glukosa	40
4.1.2. Kurva Standar Protein.....	42

4.1.3. Kurva Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion.....	43
4.1.3.1 . Ion Fe^{2+}	43
4.1.3.2 . Ion Zn^{2+}	45
4.1.3.3 . Ion Cu^{2+}	46
4.1.3.4 . Ion NH_4^+	47
4.2. Pembahasan	49
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1. Kesimpulan.....	55
5.2. Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hasil BLAST Isolat Bakteri SF01	9
2.2. Beberapa Elemen Anorganik yang Berguna sebagai Kofaktor Enzim	20
4.1. Data Kurva Standar Glukosa	40
4.2. Data Kurva Standar Protein	42
4.3. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Fe^{2+}	44
4.4. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Zn^{2+}	45
4.5. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Cu^{2+}	46
4.6. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion NH_4^+	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Cincin D-glukopiranososa penyusun selulosa	11
2.2. Struktur selulosa	11
2.3. Struktur 3 dimensi selulase asal <i>Bacillus subtilis</i> 168 (3PZT) dengan kofaktor Mn ²⁺ yang terdaftar pada Protein Data Bank	13
2.4. Skema pemecahan selulosa.....	14
2.5. Reaksi enzimatik.....	15
2.6. Model <i>lock and key</i>	16
2.7. Model <i>induced fit</i>	17
2.8. Inhibitor kompetitif.....	21
2.9. Inhibitor nonkompetitif.....	21
3.1. Diagram alir penelitian	37
3.2. Diagram alir penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tanpa ion (0 mM)	38
3.3. Diagram alir penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan berbagai ion.....	39
4.1. Grafik kurva standar glukosa	41
4.2. Grafik kurva standar protein	42
4.3. Kurva Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Fe ²⁺	44
4.4. Kurva Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Zn ²⁺	45
4.5. Kurva Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion Cu ²⁺	47
4.6. Kurva Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion NH ₄ ⁺	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Hasil Uji Statistik Kurva Standar Glukosa	62
B. Kurva Standar Protein dan Contoh Perhitungan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01.....	64
C. Contoh Perhitungan Penentuan Aktivitas Enzim Selulase Dengan Metode DNS	65
D. Data Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Logam Fe^{2+}	66
E. Data Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Logam Zn^{2+}	68
F. Data Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Logam Cu^{2+}	70
G. Data Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Logam NH_4^+	72
H. Hasil Analisis Statistika Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Fe^{2+}	74
I. Hasil Analisis Statistika Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Zn^{2+}	77
J. Hasil Analisis Statistika Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion Cu^{2+}	80
K. Hasil Analisis Statistika Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01 dengan Penambahan Ion NH_4^+	83
L. Dokumentasi.....	86