

**UPAYA PENINGKATAN AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
SELULASE DARI *Bacillus subtilis* STRAIN SF01 MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI PENUKAR ANION**



MAGDALENA EKA PUTRI

2443013157

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**UPAYA PENINGKATAN AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
SELULASE DARI *Bacillus subtilis* STRAIN SF01 MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI PENUKAR ANION**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagai persyaratan
Memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
Di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH :

**MAGDALENA EKA PUTRI
2443013157**

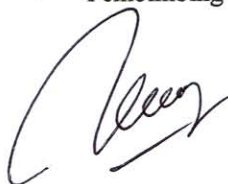
Telah diseujui pada tanggal 13 Oktober 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



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

Mengetahui,
Ketua Penguji



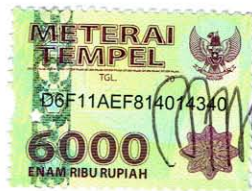
(Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt)
NIK. 241.03.0452

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul **Upaya Peningkatan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *Bacillus subtilis* Strain SF01 Menggunakan Kromatografi Penukar Anion** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Katolik 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, 13 Oktober 2017



Magdalena Eka Putri
2443013157

LEMBAR PERNYATAAN KARYA ILMIAH NON PLAGIAT

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, 13 Oktober 2017



Magdalena Eka Putri
2443013157

ABSTRAK

UPAYA PENINGKATAN AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN SF01 MENGUNAKAN KROMATOGRAFI PENUKAR ANION

MAGDALENA EKA PUTRI
2443013157

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus Subtilis* Strain SF01 yang diisolasi dari ampas tebu menggunakan Kromatografi Penukar Anion. Penelitian dilakukan dengan menentukan aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus Subtilis* Strain SF01 sebelum dan sesudah dikromatografi. Kromatografi dilakukan dengan kolom penukar anion matriks *High Q Resins* dalam kolom berukuran 10 mL menggunakan eluen NaCl 0,1-1 M dalam buffer Universal pH 8,0. Fraksi yang diperoleh dilanjutkan dengan tahap difiltrasi menggunakan *Amicon Ultra 10K device* – 10,000 NMWL, dan analisis SDS-PAGE. Uji aktivitas sesudah kromatografi penukar anion menunjukkan adanya peningkatan aktivitas spesifik enzim selulase SF01 sebanyak 5 kali pada Fraksi 22 hasil eluasi NaCl konsentrasi 0,4 M. Hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya 2 pita protein pada hasil Kromatografi Penukar Anion di semua fraksi terpilih dengan berat molekul masing-masing pita yaitu 31,732 dan 39,811 kDa.

Kata Kunci : enzim selulase, *Bacillus Subtilis* Strain SF01, kromatografi penukar anion, Peningkatan aktivitas.

ABSTRACT

ENHANCEMENT OF THE CRUDE EXTRACT OF CELLULASE ENZYME ACTIVITY FROM *BACILLUS SUBTILIS* SF01 STRAIN USING ANION-EXCHANGE CHROMATOGRAPHY

MAGDALENA EKA PUTRI
2443013157

The purpose of this research is to increase the activity of the crude extract of cellulase enzyme which isolated from bagasse using Anion Exchange Chromatography from *Bacillus subtilis* Strains SF01. Research was conducted by determination of specific activity assay of crude cellulase enzyme of *Bacillus subtilis* strains SF01 before and after chromatography using ion-exchange chromatography use eluen NaCl 0.1-1 M in a buffer Universal pH 8.0 with matrix of the matrik High Q Resins in 10 mL column, diafiltration using amicon ultra-4 centrifugal filter devices measuring Amicon Ultra 10K device – 10.000 NMWL, and SDS-PAGE. The activity after anion-exchange chromatography indicated the spesific activity of cellulase enzyme SF01 5 times at 22th faction by NaCl 0.4 eluted. The result showed there were 2 protein band on the outcome of Anion Exchange Chromatography in all chosen fraction by the molecular weight of each band namely 31.732 and 39.811 kDa.

Key Words : cellulose enzymes, *Bacillus subtilis* Strain SF 01, anion-exchange chromatography, increasing activity.

KATA PENGANTAR

Terimakasih dan syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat dan kuasa-Nya, sehingga skripsi dengan judul **“Upaya Peningkatan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *Bacillus Subtilis* Strain SF01 menggunakan Kromatografi Penukar Anion”** sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala dapat terselesaikan tepat pada waktu-Nya.

Keberhasilan dalam penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan serta doa dari banyak pihak. Oleh karena itu disampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si selaku pembimbing I dan Ketua Prodi Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala, Henry K. Setiawan, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaganya untuk membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Prof. Dr. J. S. Ami Soewandi, Apt. selaku penguji I dan Ni Nyoman Purwani, S.Si., M. Si. selaku penguji II yang telah memberikan nasehat, kritik dan saran untuk menyempurnakan penyusunan skripsi ini.
3. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala.
4. Sumi Wijaya, S.Si., PhD., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala.
5. Dr. Y. Lannie Hadisoewignyo, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasehat Akademik..

6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi yang sudah memberikan banyak sekali ilmu pengetahuan.
7. Kepala Laboratorium Bioanalisis, Laboratorium Kimia Analisis, dan Laboratorium Proteomik yang telah memberikan izin menggunakan fasilitas untuk melakukan penelitian.
8. Para petugas laboratorium, yaitu Bu Evi dan Bu Tyas yang telah membantu dalam memfasilitasi alat-alat selama proses penelitian.
9. Para asisten dosen di Laboratorium Proteomik, yaitu Bu Anita, Bu One, Bu Evi, Bu Puput yang telah membantu dalam memberikan saran.
10. Bapak (Ramisanto) dan Ibu (Sulastri Kristowati) yang telah memberikan dukungan kasih sayang dan finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman proyek selulase (Theresia Anggi Wedo, Angela Lia, dan Shinta Yasmien) yang telah bersama-sama untuk meluangkan tenaga, waktu, dan pikiran dalam menyelesaikan proyek ini hingga selesai.
12. Teman-teman Kelompok Tumbuh Bersama (Riky Rebeca, Ayu Elvina, dan Orgilna Awaeh) yang setia untuk mendukung dalam doa dan memberikan semangat dalam setiap pergumulan skripsi ini.
13. Teman-teman Perkantas (Kak Akhung, Kak Isan, Alin, Nana, Joy, Willis, Erti, Elsa, Titin, Rian, Ko Chandra, Filmon, dan Andre) yang telah membantu dan mendoakan.
14. Teman-teman tim SOTEN (Ita, Anita, Devi, Maria, Damay, Nesya, Erna, Dona, Weni, Kim David, Gilang, Daniel Ibo, Chandra, Hardy, Billy, Wahyu, Arlian, dan Bagus) atas kebersamaan dan

dukungannya dalam keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan pengalaman, waktu, tenaga dan pengetahuan penulis.

Surabaya,
September 2017

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.....	6
1.4. Hipotesis Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Tinjauan Tentang Enzim.....	8
2.1.1. Kekhususan Enzim.....	9
2.1.2. Mekanisme Kerja Enzim	10
2.1.3. Aktivitas Enzim	12
2.2. Tinjauan Tentang Enzim Selulase	15
2.3. Tinjauan Tentang Selulosa.....	18
2.4. Tinjauan Tentang Mikroba Selulolitik.....	18
2.5. Tinjauan Tentang Isolat Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01	20
2.6. Aktivitas Enzim.....	22
2.7. Aktivitas Spesifik Enzim Dengan Penambahan Ion Logam.....	22
2.8. Pemurnian Enzim	23

	Halaman
2.9. Tinjauan Tentang Kromatografi	23
2.10. Tinjauan Tentang Kromatografi Penukar Ion.....	24
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	28
3.1. Jenis Penelitian.....	28
3.2. Sampel, Bahan, dan Alat Penelitian.....	28
3.2.1. Sampel Penelitian.....	28
3.2.2. Bahan Penelitian	28
3.2.3. Alat Penelitian	29
3.3. Metode Penelitian.....	29
3.3.1. Pembuatan Media.....	29
3.3.2. Pembuatan Reagen, Larutan dan Substrat	30
3.3.3. Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	31
3.3.4. Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase.....	32
3.3.5. Pembuatan Kurva Standar Protein	33
3.3.6. Pembuatan Pembanding Substrat.....	33
3.3.7. Pembuatan Pembanding Enzim	34
3.3.8. Penentuan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Selulase	34
3.3.9. Uji Aktivitas Kasar Enzim Selulase	34
3.3.10. Peningkatan Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Dengan Alat Kromatografi Penukar Anion	35
3.3.11. Diafiltrasi Menggunakan Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Devices	36
3.3.12. Analisis zimogram dan SDS-PAGE.....	36
3.4. Analisis Data	38
3.5. Skema Kerja.....	40

	Halaman
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
4.1. Hasil Penelitian	41
4.1.1. Kurva Standar Glukosa	41
4.1.2. Kurva Standar Protein	42
4.1.3. Kurva Aktivitas Enzim Selulase Dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 Setelah Dimurnikan Dengan Kromatografi Penukar Ion.....	44
4.1.4. Hasil Diafiltrasi Menggunakan Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Devices	48
4.1.5. Hasil Analisis Zimogram dan SDS-PAGE	50
4.2. Pembahasan.....	53
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1. Kesimpulan	58
5.2. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hidrolisis berbagai substrat oleh enzim selulase	17
2.2. Hasil BLAST isolat bakteri SF01	21
2.3. Muatan pada gugus fungsi asam amino dalam pH 5 dan 7.....	26
2.4. Gugus fungsi pada resin penukar anion dan kation.....	27
4.1. Data Kurva Standar Glukosa	41
4.2. Data Kurva Standar Protein.....	42
4.3. Data kurva pengamatan pemurnian Enzim Selulase Menggunakan Kromatografi Penukar Anion	45
4.4. Data kurva pengamatan Enzim Selulase setelah Diafiltrasi menggunakan <i>amicon ultra-4 centrifugal filter devices</i>	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Interaksi substrat dan enzim model <i>induced fit</i>	12
2.2. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap laju reaksi	13
2.3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi.....	13
2.4. Pengaruh suhu terhadap laju reaksi	14
2.5. Pengaruh pH terhadap laju reaksi.....	15
2.6. Degradasi selulosa oleh selulase	16
2.7. Klasifikasi Enzim Selulase.....	17
2.8. Kurva pH titrasi untuk glisin.....	25
3.1. Diagram Alur Penelitian	40
4.1. Grafik kurva standar glukosa	41
4.2. Grafik kurva standar protein	43
4.3. Grafik kurva pengamatan pemurnian Enzim Selulase menggunakan kromatografi penukar anion.....	47
4.4. Grafik kurva pengamatan aktivitas spesifik Enzim Selulase sebelum Diafiltrasi dengan keterangan angka dan setelah Diafiltrasi menggunakan <i>amicon ultra-4</i> <i>centrifugal filter devices</i> dengan keterangan abjad.....	49
4.5. Grafik kurva pengamatan protein total Enzim Selulase sebelum sebelum Diafiltrasi dengan keterangan angka dan setelah Diafiltrasi menggunakan <i>amicon</i> <i>ultra-4 centrifugal filter devices</i> dengan keterangan abjad	50
4.6. Hasil SDS-PAGE Fraksi Terpilih dari Kromatografi Penukar Anion.....	51
4.7. Grafik Kurva Regresi Linier Berat Molekul Marker Protein	52
4.8. Hasil Zimogram Fraksi Terpilih Anion Dari Kromatografi Penukarr Anion	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Hasil Uji Statistik Kurva Standar Glukosa.....	63
B. Kurva Standar Protein dan Contoh Perhitungan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Selulase <i>Bacillus subtilis</i> strain SF 01	65
C. Cara Perhitungan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase Dengan Metode DNS.....	67
D. Data Pengujian Enzimatis Enzim Selulase Dari Isolat <i>Bacillus Subtilis</i> Sf01 Menggunakan Kromatografi Penukar Anion.....	68
E. Data Kurva Pengamatan Diafiltrasi Menggunakan Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Devices Enzim Selulase.....	71
F. Analisis Data Hasil SDS-PAGE Dan Zimogram.....	72