

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+}
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SELULASE YANG BERASAL
DARI *Bacillus subtilis* SF01**



KETUT AFRILLIANA PRATIWI

2443012075

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2016

**PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+}
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SELULASE YANG BERASAL
DARI *Bacillus subtilis* SF01**

SKRIPSI

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

OLEH :

KETUT AFRILLIANA PRATIWI
2443012075

Telah disetujui pada tanggal 25 Juli 2016 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Dr. Lanny W. Jartanti, 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. Anni Soewandii., Apt.
NIK. 241.00.0444

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Penambahan Ion Logam Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+} Terhadap Aktivitas Enzim Selulase yang Berasal Dari *Bacillus subtilis* SF01** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan UnikaWidya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

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

Surabaya, 25 Juli 2016



Ketut Afrilliana Pratiwi

2443012075

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 hasil plagiarisme,
maka saya bersedia menerima sangsi berupa pembatalan kelulusan dan atau
pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 25 Juli 2016



Ketut Afrilliana Pratiwi

2443012075

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+} TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SELULASE YANG BERASAL DARI *Bacillus subtilis* SF01

Ketut Afrilliana Pratiwi

2443012075

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai pengaruh ion logam Ni^{2+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , dan Al^{3+} terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01. Uji aktivitas dilakukan dengan menambahkan ion logam ke dalam enzim dengan variasi konsentrasi 0,1mM, 0,5mM, 1mM, 5mM, 10mM, kemudian ditambahkan substrat dan pereaksi asam 3,5-Dinitrosalisilat dan selanjutnya diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan *One Way ANOVA* dengan signifikansi 95% kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Test Tukey HSD*. Hasil uji menunjukkan bahwa pemberian ion Hg^{2+} menyebabkan penurunan aktivitas sebesar 24,684% pada konsentrasi 10 mM. Ion logam Ni^{2+} , Sn^{2+} dan Al^{3+} meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase berturut-turut sebesar 10,374%, 16,817% dan 30,844% pada konsentrasi 10 mM. Penggunaan bahan-bahan yang mengandung ion logam Hg^{2+} sebaiknya dihindari karena dapat menurunkan aktivitas enzim selulase, sebaliknya ion logam Al^{3+} , Ni^{2+} dan Sn^{2+} sebaiknya ditambahkan dalam proses produksi, purifikasi maupun aplikasi enzim selulase karena dapat meningkatkan aktivitasnya.

Kata Kunci : Aktivator, *Bacillus subtilis* strain SF01, Ion logam, Inhibitor, Selulase,

ABSTRACT

THE ADDITION OF METAL IONS Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , and Ni^{2+} AGAINST CELLULASE ENZYME ACTIVITY FROM *Bacillus subtilis* SF01

Ketut Afrilliana Pratiwi

2443012075

This study aimed to provide information about the effect of metal ions Ni^{2+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , and Al^{3+} towards the activity of crude extract cellulase from *Bacillus subtilis* SF01. Activity assay was conducted by adding the metal ions to enzyme with varying concentrations of 0.1mM, 0.5mM, 1 mM, 5mM, 10 mM, followed by substrate and 3,5-Dinitrosalicylic acid addition and further observed by spectrophotometer at a wavelength of 550 nm. The data obtained was analyzed by One Way ANOVA with 95% level of confidence proceed by *post hoc* Test Tukey HSD. The results showed that administration of Hg^{2+} ions causes a decreased in the activity of 24.684% at a concentration of 10 mM. Metal ions Ni^{2+} , Sn^{2+} and Al^{3+} at 10 mM increased the activity of crude extract cellulase enzyme 10.374%, 16.817% and 30.844% respectively. The use of materials containing metal ions Hg^{2+} should be avoided because it may decreased the activity of the enzyme cellulase, otherwise the metal ion Al^{3+} , Ni^{2+} and Sn^{2+} should be added in the production process, purification and application of cellulase enzymes because it can increased its activity.

Keywords : Activator, *Bacillus subtilis* strain SF01, Cellulase, Inhibitor, Metal ion

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 Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} dan Ni^{2+} Terhadap Aktivitas Enzim Selulase yang Berasal Dari *Bacillus subtilis* SF01 dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

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

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas berkat yang luar biasa kepada penulis sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ibu Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. dan Bapak Henry Kurnia S., S.Si., M.Si., Apt. selaku Pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga, serta member dukungan, petunjuk, pemikiran dan saran-saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
3. Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi., Apt. dan Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc. Biol. sebagai Tim Penguji skripsi yang telah memberikan saran dan masukan berharga guna penyempurnaan skripsi ini.
4. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph. D sebagai Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
5. Martha Ervina, S. Si., M. Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

6. Henry Kurnia S., S.Si.,M.Si., Apt. sebagai pembimbing akademik yang selalu memberikan nasehat.
7. Dosen-dosen dan staf pengajar yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas ilmu pengetahuan, keahlian dan pengalaman yang telah dibagi.
8. Tim supervisor Lab Proteomik ITD, Mas Ivan, Mbak Anita, Mbak One, Laboran Lab. Analisis Sediaan Farmasi UKWMS, dan laboran lab. Ansedfar Mbak Tyas yang tetap tulus dan sabar dalam meluangkan waktu dan memberikan arahan kepada penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
9. Papah, mamah, adik, kakak dan tante yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan baik moral maupun material, motivasi serta doa sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
10. Kakak sekaligus teman dan sahabat Komang Novhi Indrawathy, S.Psi atas masukan, motivasi dan doa yang selalu diberikan
11. Teman-teman seperjuangan *SF01 Crew* dalam mengerjakan penelitian skripsi Kristian, Lave, Billy, ce Revon, kak Putri dan Paula, yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
12. Sahabat dan teman-teman ku Ika Rissa, Ayu, Cynthia, Fadhal, Ersi, Nathan, Kak Adri, dan priska terimakasih untuk dukungan, motivasi dan semangat yang selalu kalian berikan.
13. Teman-teman seperjuangan angkatan 2012 serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu serta memberikan dukungan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi ini jauh dari sempurna dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Oleh karenanya diharapkan saran dan kritik dari semua pihak agar naskah ini dapat lebih sempurna. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat luas pada umumnya dan bagi dunia kefarmasian pada khususnya.

Surabaya, Juli 2016

Penulis

\

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Hipotesa Penelitian	7
1.5. Manfaat Penelitian	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan tentang Mikroba Selulolitik	9
2.2. Tinjauan tentang Isolat Bakteri Selulolitik Strain SF01 ...	10
2.3. Tinjauan tentang Selulosa	14
2.4. Tinjauan tentang Enzim	15
2.4.1. Mekanisme Kerja Enzim	17
2.4.2. Aktivitas Enzim dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya	21
2.4.2.1. Pengaruh Suhu	23
2.4.2.2. Pengaruh pH	25
2.4.2.3. Pengaruh Inhibitor	26
2.5. Tinjauan tentang Enzim Selulase	30

2.6. Tinjauan Tentang Ion Logam	35
2.6.1. Ion Logam Ni^{2+}	36
2.6.2. Ion Logam Hg^{2+}	37
2.6.3. Ion Logam Sn^{2+}	38
2.6.4. Ion Logam Al^{3+}	38
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	40
3.1. Jenis Penelitian	40
3.2. Sampel, Bahan dan Alat Penelitian	41
3.2.1. Sampel Penelitian	41
3.2.2. Bahan Penelitian	41
3.2.3. Alat Penelitian	41
3.3. Metode Penelitian	42
3.3.1. Pembuatan Media Cair Produksi	42
3.3.2. Pembuatan Media Cair Inokulum	42
3.3.3. Pembuatan Media Padat	42
3.3.4. Pembuatan Buffer niversal pH 5	43
3.3.5. Pembuatan substrat CMC 1%	43
3.3.6. Pembuatan Reagen Asam Dinitrosalisilat (DNS)	43
3.3.7. Pembuatan Reagen Bradford	44
3.3.8. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	44
3.3.9. Pembuatan Kurva Standar Protein BSA	45
3.3.10. Produksi Enzim	45
3.3.11. Penentuan Kadar Protein Enzim	46
3.3.12. Uji Aktivitas Enzim (0 ppm ion)	46
3.3.13. Uji Aktivitas Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion Logam	47
3.4. Analisis Data Kurva Standar Glukosa	47

3.5. Analisis Data Kurva Standar Protein BSA	49
3.6. Analisis Data Statistik	50
3.7. Rancangan Tabel Hasil Penelitian	50
3.6. Diagram Alir Penelitian	53
3.7. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar	
Enzim Selulase tanpa Penambahan Ion (0ppm)	54
3.8. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar	
Enzim Selulase Dengan Berbagai Ion Logam	55
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	56
4.1. Hasil Percobaan	56
4.1.1. Kurva Baku Glukosa	56
4.1.2. Kurva Standar Protein BSA	58
4.1.3. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat	
<i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01 dengan Penambahan Ion	60
4.1.3.1. Ion Logam Ni^{2+}	60
4.1.3.2. Ion Logam Hg^{2+}	63
4.1.3.3. Ion Logam Sn^{2+}	64
4.1.3.4. Ion Logam Al^{3+}	67
4.2. Pembahasan	69
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	77
5.1. Kesimpulan	77
5.2. Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	78
LAMPIRAN	87

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hasil BLAST Isolat Bakteri SF01	11
2.2. Hidrolisis Berbagai Substrat Oleh Enzim Selulase	35
4.1. Data Kurva Baku Glukosa	57
4.2. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Ni^{2+}	61
4.3. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Hg^{2+}	63
4.4. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Sn^{2+}	65
4.5. Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Al^{3+}	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Aktivitas Enzim Selulase asal Isolat <i>bacillus subtilis</i> Strain SF01 Pada Berbagai Variasi Suhu	13
2.2. Aktivitas Enzim Selulase asal Isolat <i>bacillus subtilis</i> Strain SF01 Pada Berbagai Variasi pH	13
2.3. Struktur Kimia Selulosa	15
2.4. Reaksi Enzimatis	18
2.5. Model <i>Lock and Key</i>	20
2.6. Model <i>Induced Fit</i>	21
2.7. Struktur Tiga Dimensi Enzim Selulase dari <i>Bacillus subtilis</i> 168	30
2.8. Struktur Sisi Pengikatan Substrat pada Enzim Selulase Dari <i>Bacillus subtilis</i> 168	31
2.9. Struktur Sisi Katalitik Substrat pada Enzim Selulase Dari <i>Bacillus subtilis</i> 168	31
2.10. Tahap-Tahap Pemecahan Selulosa	33
2.11. Klasifikasi Enzim Selulase	35
3.1. Digram Alir Penelitian	53
3.2. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase (0ppm)	54
3.3. Diagram Alir Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase Dengan Penambahan Ion Logam	55
4.1. Grafik Kurva Baku Glukosa	57

4.2. Grafik Kurva Standar Protein	59
4.3. Grafik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Ni^{2+}	61
4.4. Hasil <i>Post Hoc Test</i> Tukey HSD Dengan Penambahan Ion Logam Ni^{2+}	62
4.5. Grafik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Hg^{2+}	63
4.6. Hasil <i>Post Hoc Test</i> Tukey HSD Dengan Penambahan Ion Logam Hg^{2+}	64
4.7. Grafik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Sn^{2+}	65
4.8. Hasil <i>Post Hoc Test</i> Tukey HSD Dengan Penambahan Ion Logam Sn^{2+}	66
4.9. Grafik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Al^{3+}	67
4.10. Hasil <i>Post Hoc Test</i> Tukey HSD Dengan Penambahan Ion Logam Al^{3+}	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Data Hasil Pengamatan Kurva Baku Glukosa	87
B. Hasil Uji Statistik Kurva Baku Glukosa	89
C. Kurva Standar Protein dan Contoh Cara Perhitungan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari <i>Bacillus subtilis</i> SF01	91
D. Hasil Uji Statistik Kurva Standar Protein	92
E. Cara Perhitungan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase Dengan Metode DNS	94
F. Data Pengujian Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 Dengan Penambahan Ion Logam Pada Berbagai Macam Konsentrasi	95
G. Data Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 dengan Penambahan Ion Logam Pada Berbagai Macam Konsentrasi	96
H. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 Dengan Penambahan Ion Logam Ni^{2+}	104
I. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 Dengan Penambahan Ion Logam Hg^{2+}	108
J. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 Dengan Penambahan Ion Logam Sn^{2+}	112
K. Hasil Analisis Statistik Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Isolat <i>Bacillus subtilis</i> SF01 Dengan Penambahan Ion Logam Al^{3+}	116