

**PENGARUH ION Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^{+}
TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR SELULASE
DARI *Bacillus Subtilis* STRAIN SF01
ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**



REVONANDIA IRWANTO

2443009027

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2015**

**PENGARUH ION Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^{+}
TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR SELULASE
DARI *Bacillus Subtilis* STRAIN SF01
ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**

SKRIPSI

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

OLEH:
REVONANDIA IRWANTO
2443009027

Telah disetujui pada tanggal 15 Oktober 2015 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



Dra. Hj. Emi Sukarti, M.Si., Apt.
NIK. 241.81.0081

Mengetahui,
Ketua Penguji



(Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt.)
NIK. 241.02.0542

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Selulase Dari *Bacillus Subtilis* Strain SF01 Asal Limbah Ampas Tebu** 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, 22 Desember 2015



Revonandia Irwanto
2443009027

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

Surabaya, 22 Desember 2015



Revonandia Irwanto
2443009027

ABSTRAK

PENGARUH ION Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR SELULASE DARI *Bacillus subtilis* STRAIN SF01 ASAL LIMBAH AMPAS TEBU

REVONANDIA IRWANTO
2443009027

Selulase adalah enzim yang banyak dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik. Dari penelitian terdahulu diperoleh isolat bakteri murni yang mempunyai aktivitas selulolitik yaitu isolat bakteri *Bacillus subtilis* strain SF01. *Bacillus subtilis* SF01 adalah bakteri selulolitik spesies pertama yang berasal dari ampas tebu, sehingga perlu diteliti lebih lanjut tentang ion logam apa saja yang berfungsi sebagai aktivator maupun inhibitor. Produksi selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 dilakukan dengan fermentasi bakteri di media Nutrient Broth + Carboxymethyl Cellulose (CMC) 1% selama 21 jam. Kadar enzim ditentukan dengan metode Bradford, pembanding BSA. Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0 suhu 60 °C selama 45 menit, kemudian direaksikan dengan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat dan dibandingkan dengan glukosa, diamati secara spektrofotometri pada $\lambda=550$ nm. Sebelum direaksikan dengan substrat enzim diinkubasi terlebih dulu dengan larutan ion logam berbagai konsentrasi selama 20 menit. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa ion Mg^{2+} dan Ca^{2+} pada rentang konsentrasi 0,1 - 10 mM menurunkan aktivitas enzim selulase secara bermakna (One way Anova, post hoc Tukey HSD, $\alpha= 95$). Ion Mn^{2+} dan Na^+ pada rentang konsentrasi 0,5 – 10 mM juga menurunkan aktivitas enzim selulase. Disimpulkan bahwa semua ion logam ini menurunkan aktivitas enzim selulase *Bacillus subtilis* SF01.

Kata Kunci : *Bacillus subtilis* SF01, selulase, magnesium, mangan, kalsium, sodium.

ABSTRACT

EFFECT OF Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} and Na^+ IONS TOWARDS CELLULASE ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OF *Bacillus subtilis* SF01 STRAIN FROM SUGARCANE WASTE

**REVONANDIA IRWANTO
2443009027**

Cellulase is an enzyme produced by many microorganisms such as bacteria having cellulolytic activity. From previous studies pure bacterial isolates with cellulolytic activity, namely *Bacillus subtilis* bacteria strain SF01 was isolated. Cellulolytic bacteria of *Bacillus subtilis* Strain SF01 is the first species that comes from sugarcane waste, so it needs to be examined further on any metal ion that serves as an activator or inhibitor. Cellulase production of *Bacillus subtilis* strain SF01 isolates was conducted by bacterial fermentation in media *Nutrient Broth + Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 1% for 21 hours. Enzyme levels were determined by the method of Bradford, BSA as reference. Cellulase activity was tested using 1% CMC substrate at pH 5.0 temperature 60°C for 45 minutes, and then reacted with 3,5-dinitrosalicylic acid reagent and observed by spectrophotometry at $\lambda=550\text{nm}$ and compared to glucose. Before being reacted with substrate, enzyme was pre-incubated with metal ions solution in various concentration for 20 minutes. This research showed that metal ions Mg^{2+} and Ca^{2+} in the concentration range from 0.1 mM to 10 mM reduced significantly the activity of cellulase enzyme (One way ANOVA, post hoc Tukey HSD, $\alpha=95$). Metal ions Mn^{2+} and Na^+ in the concentration range from 0.5 mM to 10 mM decreased the activity of the cellulase. So it was concluded that all of these metal ions decreased the activity of the cellulose of *Bacillus subtilis* SF01.

Keywords: *Bacillus subtilis* SF01, cellulase, magnesium, manganese, calcium, sodium.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Tuhan Yesus atas segala kasih dan pertolonganNya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH ION Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR SELULASE DARI *Bacillus subtilis* STRAIN SF01 ASAL LIMBAH AMPAS TEBU”**. Adapun skripsi ini merupakan prasyarat untuk memperoleh gelar sarjana 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. Kepada orang tua yang senantiasa selalu mendoakan dan mendukung secara moril dan materiil, serta telah membiayai selama proses perkuliahan, skripsi hingga selesai studi.
3. 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.
4. 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.
5. Ibu Dr. Lanny Hartanti, M.Si. dan Ibu Dra. Hj. Emi Sukarti., M.Si., Apt selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga

serta dukungan, petunjuk, pemikiran, bimbingan, dan saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.

6. Bapak Prof. Dr. Ami Soewandi, Apt. dan Ibu Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt. selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna bagi penyusunan skripsi ini.
7. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt selaku penasehat akademik yang telah memberikan dorongan dan arahan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
8. Bapak Henry Kurnia Setiawan, M.Si., Apt yang telah memberikan arahan dalam menyelesaikan pengolahan data secara statistik.
9. Kepala Laboratorium Proteomik Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasana penunjang sehingga skripsi ini boleh selesai dengan baik.
10. 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 penelitian berlangsung.
11. Teman – teman seperjuangan SF01 *crew* Putri, Billy, Lavenia, Paula, Liana, Kristian yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
12. Kepada sahabat saya Henry Indrawan, Andriana Febiyani dan Kevin Costner yang selalu memberi dukungan, mendoakan dan meluangkan waktu untuk memberi masukan selama proses pengerjaan skripsi ini hingga terselesaikan.

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

Surabaya, 22 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
Bab 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
Bab 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan tentang Enzim	6
2.2 Tinjauan tentang Enzim Selulase.....	7
2.3 Tinjauan tentang Isolat Bakteri SF01.....	10
2.4 Tinjauan tentang Bakteri Selulolitik	12
Bab 3 METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Jenis Penelitian	14
3.2 Bahan dan Alat	14
3.2.1 Bahan	14

	Halaman
3.2.2 Alat.....	15
3.3 Rancangan Penelitian.....	15
3.4 Tahapan Penelitian.....	16
3.4.1 Pembuatan Media Padat Nutrient Agar (NA)	16
3.4.2 Pembuatan Media Cair Nutrient Broth + CMC-Na.....	17
3.4.3 Pembuatan Reagensia Dapar Universal.....	17
3.4.4 Pembuatan Reagensia Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS)	18
3.4.5 Pembuatan Larutan Standar Bovine Serum Albumin (BSA)	18
3.4.6 Pembuatan Larutan Standar Glukosa.....	19
3.4.7 Pembuatan Larutan ion Logam	19
3.4.8 Cara Peremajaan Isolat Bakteri SF01	20
3.4.9 Produksi Sel (inokulum) Isolat Bakteri SF01	20
3.4.10 Produksi Enzim Selulase	20
3.4.11 Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	21
3.4.12 Pembuatan Blanko Enzim.....	21
3.4.13 Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase.....	21
3.4.14 Penentuan Aktivitas Enzim Tanpa Ion Logam (0 ppm)	23
3.4.15 Penentuan Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Selulase.....	23
3.5 Analisis Data.....	23
3.6 Diagram Alir	24

	Halaman
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil Penelitian.....	26
4.1.1 Kurva Standar Glukosa.....	26
4.1.2 Kadar Protein Enzim Selulase Asal <i>Basillus subtilis</i> SF01	28
4.1.3 Aktivitas Enzim Selulase dengan Penambahan Ion Logam Mg ²⁺	29
4.1.4 Aktivitas Enzim Selulase dengan Penambahan Ion Logam Mn ²⁺	31
4.1.5 Aktivitas Enzim Selulase dengan Penambahan Ion Logam Na ⁺	33
4.1.6 Aktivitas Enzim Selulase dengan Penambahan Ion Logam Ca ²⁺	35
4.2 Pembahasan.....	37
Bab 5 KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Hasil Pengamatan Kurva Standar Glukosa	26
4.2	Hubungan antara konsentrasi BSA dan absorbansi pada Penentuan Kadar Protein dengan Metode Bradford	28
4.3	Aktivitas Enzim dengan Penambahan Ion Logam Mg^{2+}	29
4.4	Aktivitas Enzim dengan Penambahan Ion Logam Mn^{2+}	31
4.5	Aktivitas Enzim dengan Penambahan Ion Logam Na^{+}	33
4.6	Aktivitas Enzim dengan Penambahan Ion Logam Ca^{2+}	35
L.1	Hasil Pengecatan Gram <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01	47
L.2	Hasil Perhitungan Kurva Standar Glukosa.....	49
L.3	Data Kadar Protein Enzim Selulase.....	51
L.4	Pergitungan Aktivitas Spesifik Enzim dengan Penambahan Ion	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Mekanisme Hidrolisis Selulosa	9
3.1 Skema Diagram Alir Penelitian.....	25
3.2 Skema Diagram Alir Uji Aktivitas Enzim Selulase.....	26
4.1 GrafikKurva Standar Glukosa	28
4.2 Grafik Kurva Standar BSA	29
4.3 Grafik Aktivitas Spesifik Enzim dengan Penambahan Ion Logam Mg^{2+}	31
4.4 Grafik Aktivitas Spesifik Enzim dengan Penambahan Ion Logam Mn^{2+}	33
4.5 Grafik Aktivitas Spesifik Enzim dengan Penambahan Ion Logam Na^{+}	35
4.6 Grafik Aktivitas Spesifik Enzim dengan Penambahan Ion Logam Ca^{2+}	37
4.7 Grafik aktivitas spesifik enzim dengan Penambahan Ion Logam Mg^{2+} , Mn^{2+} , Na^{+} , dan Ca^{2+}	38
L.1 Makroskopis <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pengecatan Gram <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01	47
2. Pengamatan Makroskopis <i>Bacillus subtilis</i> Strain SF01	48
3. Hasil Perhitungan Kurva Standar Glukosa.....	49
4. Perhitungan Kadar Protein	51
5. Penentuan Aktivitas Enzim dengan Metode DNS	52
6. Penentuan Kadar Protein Enzim dengan Metode Bradford...	53
7. Perhitungan Aktivitas Spesifik Ion Logam	54
8. Output Analisis Statistik	55