

**INDUKSI PRODUKSI ENZIM AZOREDUKTASE
EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia**



Oleh :

MUHAMMAD RAAFI'UD DARAJAT NAZDI

08031381823048

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2022

HALAMAN PENGESAHAN

**INDUKSI PRODUKSI ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER
DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01**

SKRIPSI

Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia

Oleh :

MUHAMMAD RAAFI'UD DARAJAT NAZDI
08031381823048

Indralaya, 4 November 2022

Mengetahui,

Pembimbing I



Dra. Julinar, M. Si.

NIP. 196507251993032002

Pembimbing II



Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si.

NIP. 197211092000032001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph.D

NIP. 197111191997021001

HALAMAN PERSETUJUAN


Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul “Induksi Produksi Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Bacillus tropicus* BD 01” telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 28 Oktober 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 4 November 2022

Ketua:

1. Dr. Desnelli, M. Si.

NIP. 196912251997022001

()

Sekretaris:

1. Fahma Riyanti, M. Si.

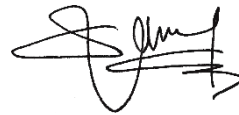
NIP. 197204082000032001

()

Pembimbing:

1. Dra. Julinar, M. Si.

NIP. 196507251993032002

()

2. Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si.

NIP. 197211092000032001

()

Penguji:

1. Dr. Heni Yohandini, M. Si.

NIP. 197011152000122004

()

2. Dr. Zainal Fanani, M. Si.

NIP. 196708211995121001

()

Mengetahui,

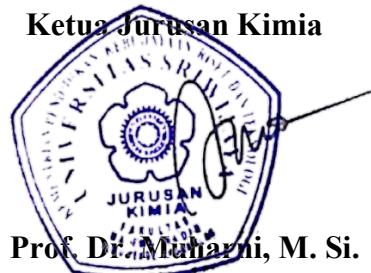
Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph.D

NIP. 197111191997021001

Ketua Jurusan Kimia



Prof. Dr. Maharni, M. Si.

NIP. 196903041994122001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi
NIM : 08031381823048
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar – benarnya.

Indralaya, 4 November 2022

Penulis



Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi

NIM. 08031381823048

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

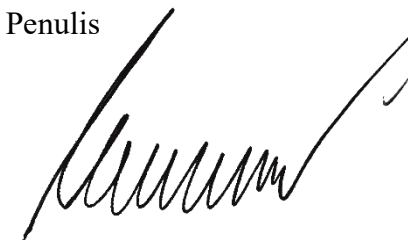
Nama : Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi
NIM : 08031381823048
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah yang berjudul: “Induksi Produksi Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Bacillus tropicus* BD 01”. Dengan hak bebas royalti non eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sungguh – sungguhnya.

Indralaya, 4 November 2022

Penulis



Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi

NIM. 08031381823048

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(QS. Al-Baqarah 2: 216)

“Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan) tetaplah engkau bekerja keras (untuk urusan lainnya)”

(QS. Al-Insyirah 94: 6-7)

“Sebaik-baiknya manusia adalah yang paling bermanfaat bagi orang lain...”

(HR. Ath-Thabrani)

Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada :

Allah SWT

Nabi Muhammad SAW

*Untuk kedua orang tuaku , Bapak dan Bunda, serta keluarga,
Sahabat-sahabat dan orang terdekatku,
Pembimbing - pembimbingku,
Almamaterku (Universitas Sriwijaya).*

“Beguyur bae lur”

(Raafi’ud)

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT dan baginda Nabi Muhammad SAW yang tak henti-hentinya telah memberikan syafaat, kasih sayang, kesabaran, kekuatan, dan pertolongan kepada penulis sehingga penulis akhirnya dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul : “Induksi Produksi Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Bacillus tropicus* BD 01”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini melalui proses yang tidaklah mudah, penulis menyadari bahwa semua ini dapat terwujud karena bantuan dari berbagai pihak baik materi maupun moril hingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Untuk itu penulis mengucapkan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Dra. Julinar, M. Si.** selaku pembimbing I dan Ibu **Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si.** selaku pembimbing II sekaligus dosen pembimbing akademik atas segala bimbingan, kesabaran dan waktu yang diluangkan kepada penulis selama menjalankan penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW, karena atas rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan lancar.
2. Kedua orang tua tersayang, Bapak dan Bunda, terima kasih atas doa, yang selalu kalian curahkan kepadaku dan terima kasih atas dukungan materi maupun non materi serta semangat yang selalu kalian berikan.
3. Bapak Prof. Hermansyah, Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
4. Ibu Prof. Dr. Muharni, M. Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
5. Bapak Dr. Addy Rachmat, M. Si selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya atas motivasi serta informasi yang diberikan berkaitan dengan jurusan kimia. Ibu Dr. Heni Yohandini, M. Si dan Dr. Zainal Fanani, M. Si selaku pembahas dan penguji sidang sarjana yang telah membantu dan

memberikan saran dalam penyelesaian skripsi serta terima kasih juga atas ilmu pengetahuan yang saya dapatkan dari Ibu dan Bapak.

6. Seluruh Dosen Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah mendidik, membimbing serta memberikan ilmunya selama masa perkuliahan.
7. Staf Analis Laboratorium Kimia FMIPA (yuk Nur, yuk Niar dan yuk Yanti), staf Administrasi Jurusan Kimia (Kak Iin dan Mbak Novi), Analis Laboratorium Biologi FMIPA (kak Agus dan Uni).
8. Keluarga besar Muhammad Toha, saudara dan sepupu, terima kasih telah mendukungu serta ketiga adikku Dela Safitri, Aisyah Zhafira Ayu dan Dzakiyya Talitha Sakhi yang telah memberikan dukungannya.
9. DAMRI SQUAD (Suteja, Iqbal, Tiur, Eko, Prima, Ilyas, Sandi, Irene, Lidya, Dinda, Ade, Raisha, Aza) terima kasih telah menjadi teman dari maba dan penyelesaian misi dalam pengejaran bis saat pergi dan pulang dari perkuliahan.
10. Delapan Naga (Suteja, Iqbal, Saya, Prima, Eko, Sandi, Ilyas dan Tiur) yang sering bercerita dan bersenda gurau selama masa perkuliahan. Semoga tetap bertahan kumpul sampai tua.
11. Team TA Bu Julinar (Lidya dan Tiur), terima kasih telah membersamai dari awal mencari topik penelitian, lembur di lab, penelitian hingga sampai tahap pemberkasan, saya ucapkan terima kasih.
12. Peternak Bakteri (Lidya, Tiur, Iqbal), terima kasih telah membersamai selama proses penelitian berlangsung, baik dari pembelian bahan, sampel, dll sampai tahap pemberkasan, terima kasih.
13. Team TA Laboratorium Biokimia (Raafiud, Tiur, Mahdi, Lidya, Rolis, Bening, Shefira dan Reza), terima kasih atas ilmu dan dukungan semangatnya selama ini, sehat terus serta sukses untuk kita semua.
14. Teman-teman seperjuangan kimia 2018, terima kasih atas bantuan dan kebersamaannya dari maba hingga akhir. Terima kasih untuk semua pengalaman dan pembelajaran yang luar biasa bersama kalian. Semoga sukses untuk kita semua.
15. Seluruh kakak dan adik tingkat Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya serta semua pihak yang telah membantu memberikan saran dan masukan baik secara

langsung maupun tidak langsung dalam pembuatan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu namanya.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari pembaca. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua, Aamiin ya Rabbal Aalamin.

Indralaya, 4 November 2022

Penulis

SUMMARY

INDUCTION PRODUCTION OF AZOREDUCTASE ENZYME FROM *Bacillus tropicus* BD 01 BACTERIA

Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi : Supervised by Dra. Julinar, M.Si. and Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

ix + 42 pages, 8 figures, 6 tables, 9 attachments

Azoreductase enzymes are known to be able to degrade azo dyes. Based on previous research, it was shown that the activity of azoreductase enzyme in degrading azo dyes was still small, so its activity needed to be increased. One way to increase enzyme activity is by induction using an inducer. Therefore, this study aimed to induce the production of extracellular azoreductase enzymes from *Bacillus tropicus* BD 01 bacteria to obtain better activity in degrading azo dyes.

The study was initiated by culturing the bacteria *Bacillus tropicus* BD 01 in nutrient broth media, then incubated for 2x24 hours. The addition of inducer CaCl₂, CaCO₃, and methyl red with a concentration of 1 mM was added to the liquid medium. The liquid culture of *Bacillus tropicus* BD 01 bacteria were then centrifuged at 3000 rpm and at cold temperature and obtained crude extract of the enzyme. The crude extract of the enzyme was further purified by fractionation of ammonium sulfate. Determination of enzyme activity was carried out using the Zimmermann method. The results of the enzyme fraction were used to test the activity, protein content, and specific activity of the extracellular azoreductase enzyme from *Bacillus tropicus* BD 01 bacteria.

The results of the specific activity of the extracellular azoreductase enzyme crude extract without the addition of an inducer was obtained at 0.0029 U/mg. The results of the ammonium sulfate fractionation on the crude extract of the enzyme without the addition of an inducer had the highest specific activity in fraction 3 with a saturation level of 40-60% ammonium sulfate with an activity of 0.0592 U/mg. Extracellular azoreductase enzyme activity with the addition of inducer also had the highest activity in the third fraction (40-60%). The inducer that gave the highest activity was CaCl₂, which resulted in the specific activity of the extracellular azoreductase enzyme with the addition of a CaCl₂ inducer of 0.140 U/mg, the addition of a CaCO₃ inducer of 0.1159 U/mg and the addition of a methyl red inducer of 0.0659 U/mg.

Keyword: azoreductase enzyme, *Bacillus tropicus* BD-01, enzyme activity induction, methyl red

Citation: 44 (1982-2021)

RINGKASAN

INDUKSI PRODUKSI ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01

Muhammad Raafi'ud Darajat Nazdi : dibimbing oleh Dra. Julinar, M.Si. dan Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.

Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

ix + 42 Halaman, 8 Gambar, 6 Tabel, 9 Lampiran

Enzim azoreduktase diketahui mampu mendegradasi zat warna azo. Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 dalam mendegradasi zat warna azo masih kecil, sehingga aktivitasnya perlu ditingkatkan. Salah satu cara untuk meningkatkan aktivitas enzim yaitu dengan proses induksi menggunakan *inducer*. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menginduksi produksi enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 agar didapat aktivitas yang lebih baik lagi dalam mendegradasi zat warna azo.

Penelitian diawali dengan mengkulturkan bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 pada media nutrient broth, kemudian diinkubasi selama 2x24 jam untuk proses induksi. Penambahan *inducer* CaCl₂, CaCO₃, dan metil merah ditambahkan ke media cair dengan konsentrasi 1 mM. Kultur cair dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm dan pada suhu dingin dan didapat ekstrak kasar enzim. Ekstrak kasar enzim selanjutnya dimurnikan dengan fraksinasi amonium sulfat. Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan metode Zimmermann. Hasil fraksi enzim digunakan untuk uji aktivitas, penentuan kadar protein, dan perhitungan aktivitas spesifik enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01.

Hasil aktivitas spesifik enzim azoreduktase ekstraseluler ekstrak kasar tanpa penambahan *inducer* diperoleh sebesar 0,0029 U/mg. Hasil fraksinasi amonium sulfat pada ekstrak kasar enzim tanpa penambahan *inducer* memiliki aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi 3 dengan tingkat kejenuhan amonium sulfat 40-60% dengan aktivitas sebesar 0,0592 U/mg. Aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dengan penambahan *inducer* juga memiliki aktivitas tertinggi pada fraksi ke 3 (40-60%). *Inducer* yang memberikan aktivitas tertinggi adalah CaCl₂, dengan aktivitas spesifik sebesar 0,1440 U/mg, sedangkan penambahan *inducer* CaCO₃ sebesar 0,1159 U/mg dan penambahan *inducer* metil merah sebesar 0,0659 U/mg.

Kata Kunci : aktivitas Enzim, *Bacillus tropicus* BD-01, enzim azoreduktase, induksi, metil merah

Kutipan : 44 (1982-2021)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY	x
RINGKASAN	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	1
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Enzim.....	4
2.1.1 Aktivitas Enzim	4
2.1.2 Aktivitas Spesifik Enzim	6
2.2 Isolasi Enzim	6
2.3 Induksi Enzim.....	6
2.4 Fraksinasi Amonium Sulfat.....	7
2.5 Dialisis.....	9
2.6 Enzim Azoreduktase.....	10
2.7 Zat Warna Azo Metil Merah	10
2.8 <i>Bacillus tropicus</i> BD 01	11
2.9 Spektrofotometri <i>Ultra Violet – Visible</i> (UV – Vis).....	12

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat.....	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.2.1 Alat	14
3.2.2 Bahan.....	14
3.3 Prosedur Penelitian	14
3.3.1 Sterilisasi Alat	14
3.3.2 Pembuatan Media.....	15
3.3.3 Produksi Enzim	15
3.3.4 Persiapan Substrat Metil Merah	16
3.3.5 Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase dengan Metode Zimmermann	16
3.3.6 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Biuret	17
3.3.7 Fraksinasi Amonium Sulfat.....	17
3.3.8 Dialisis.....	18
3.3.9 Analisis Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Ekstrak Kasar Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri <i>Bacillus tropicus</i> BD 01	20
4.2 Fraksi-fraksi Amonium Sulfat dari Ekstrak Kasar Enzim Azoreduktase Ekstraseluler.....	21
4.3 Pengaruh Penambahan <i>Inducer</i> Terhadap Enzim Azoreduktase Ekstraseluler.....	22
4.3.1 Pengaruh <i>Inducer</i> Terhadap Aktivitas Enzim	22
4.3.2 Pengaruh <i>Inducer</i> Terhadap Kadar Protein	23
4.3.3 Pengaruh <i>Inducer</i> Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan.....	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Garam dengan Kelarutan	8
Gambar 2. Proses dialisis	9
Gambar 3. Struktur Metil Merah.....	11
Gambar 4. <i>Bacillus tropicus</i>	12
Gambar 5. Enzim Azoreduktase bakteri <i>Bacillus tropicus</i> BD 01.....	20
Gambar 6. Diagram aktivitas enzim azoreduktase pengaruh variasi <i>inducer</i>	22
Gambar 7. Diagram kadar protein enzim azoreduktase pengaruh variasi <i>inducer</i>	23
Gambar 8. Diagram aktivitas spesifik enzim azoreduktase pengaruh variasi <i>inducer</i>	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja	33
Lampiran 2. Kurva Kalibrasi Larutan Standar BSA (Bovine Serum Albumin).	34
Lampiran 3. Data dan Perhitungan Aktivitas Enzim, Kadar Protein, dan Aktivitas Spesifik Enzim.....	36
Lampiran 4. Perhitungan Total Amonium Sulfat yang digunakan untuk Fraksinasi	39
Lampiran 5. Tabel Amonium Sulfat	40
Lampiran 6. Data dan Perhitungan Aktivitas Enzim, Kadar Protein, dan Aktivitas Spesifik Enzim Hasil Fraksinasi.....	41
Lampiran 7. Pembuatan Larutan	44

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Zat warna sintetik golongan azo termasuk ke dalam sebuah zat warna terbesar, serbaguna dan banyak digunakan pada industri pengolahan tekstil, kosmetik, pencetakan kertas, dan plastik (Selvam *et al.*, 2003). Penggunaan zat warna sintetik pada industri tekstil dinilai lebih efisien dibanding dengan pewarna alami karena daya ikatnya yang kuat pada serat kain, lebih praktis, efisien, dan ketersediaannya terjamin. Tingginya penggunaan zat warna sintetik golongan azo dan mengakibatkan timbulnya polutan yang berasal dari zat warna sintetik golongan azo tidak dapat terdegradasi secara langsung dalam keadaan anaerob disebabkan struktur molekul dari aromatik yang kompleks (Wesenberg *et al.*, 2002).

Untuk mengatasi masalah polutan ini, maka zat warna sintetik akan didegradasi. Banyak cara yang dapat dilakukan untuk mendegradasi zat warna azo, tetapi menurut Carliell *et al.*, (1995) metode pengolahan konvensional tidak efisien dalam mendegradasi zat warna azo. Terdapat metode lain yang lebih ekonomis serta hasil akhir aman dalam mendegradasi zat warna azo, yaitu dengan biodegradasi (Elfarash *et al.*, 2017).

Biodegradasi terjadi disebabkan adanya pemutusan ikatan azo oleh enzim azoreduktase yang terdapat gugus nitrogen berikatan rangkap ganda (-N=N-), yaitu gugus azo pada golongan senyawa aromatik (Ambrósio dan Campos-Takaki, 2004). Pemudaran atau penurunan kepekatan warna merupakan hasil dari perubahan struktur kimia pada zat warna azo yang dapat dilihat secara visual (Permatasari dkk., 2018). Sejauh ini telah banyak dilakukan penelitian tentang bakteri yang mampu mendegradasi pewarna tekstil di dalam limbah cair pewarna mengandung banyak nutrisi organik yang dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Beberapa penelitian tentang penggunaan bakteri pendegradasi pewarna sintetis diperoleh beberapa jenis mikroorganisme diantaranya adalah : *Alcaligenes eutrophus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas stutzeri*, dan *Sphingomonas*

sp (Stolz, 2001). Mega (2020) telah mengisolasi *Bacillus tropicus* BD 01 yang berasal dari limbah pabrik kain jumputan pada wilayah Tuan Kentang Seberang Ulu 1 Kota Palembang dipahami bisa mendekolorisasikan limbah zat warna azo *Direct Red 81* dengan besaran persentase biodekolorisasinya 69,41%.

Dawkar *et al.*, (2009) memaparkan bahwa enzim azoreduktase dapat ditingkatkan aktivitasnya dengan proses induksi enzim. Proses ini dilakukan dengan penambahan *inducer* pada media ekstrak ragi pada saat proses inokulasi berlangsung. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa penambahan *inducer* kalsium klorida mampu mempersingkat waktu degradasi zat warna azo *navy blue* 2GL dari 48 jam tanpa penambahan *inducer* menjadi 18 jam dengan penambahan *inducer*.

Didasarkan pada penjelasan sebelumnya, diperlukan sebuah kajian guna mengetahui pengaruh dari *inducer* terhadap aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01. Induksi dilakukan dengan penambahan *inducer* pada penelitian ini untuk meningkatkan aktivitas enzim azoreduktase. Penelitian ini diharapkan dapat menunjukkan peningkatan aktivitas enzim azoreduktase dengan penambahan *inducer* dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01.

1.2 Rumusan Masalah

Bacillus tropicus BD 01 termasuk ke dalam suatu bakteri yang bisa memperoleh enzim azoreduktase, akan tetapi enzim azoreduktase yang dihasilkan memiliki aktivitas yang masih rendah, sehingga perlu ditingkatkan melalui penambahan *inducer*. Rumusan permasalahan dalam kajian ini ialah:

1. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler ekstrak kasar enzim dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 terhadap zat warna azo metil merah?
2. Bagaimana hasil fraksinasi Amonium sulfat pada enzim azoreduktase dari ekstrak kasar enzim azoreduktase?
3. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 di tiap penambahan *inducer* yang berbeda?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler ekstrak kasar enzim dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 terhadap zat warna azo metil merah.
2. Mengisolasi enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 dengan cara fraksinasi Amonium sulfat.
3. Menginduksi produksi enzim azoreduktase dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 dengan penambahan beberapa *inducer*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang bisa diperoleh dari pelaksanaan kajian ini ialah mendapatkan aktivitas enzim yang lebih besar melalui proses induksi dengan penambahan *inducer*, mendapatkan *inducer* yang tepat dalam meningkatkan aktivitas enzim azoreduktase dan dapat dimanfaatkan untuk memusnahkan zat pewarna dari limbah cair industri secara efisien dan cepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambrósio, S. T., & Campos-Takaki, G. M. (2004). Decolorization of reactive azo dyes by *Cunninghamella elegans* UCP 542 under co-metabolic conditions. *Bioresource Technology*, *91*(1), 69–75.
- Berg, M., Tymoczko J.L., and Stryer, L., 2012, *Biochemistry Seventh Edition*, W. H. Freeman and Company, New York.
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, *23*(2), 382–398.
- Boyer. 1971. *The Enzymes*. Third Edition. Academic Press. New York.
- Carliell, C. M., Barclay, S. J., Naidoo, N., Buckley, C. A., Mulholland, D. A., & Senior, E. (1995). Microbial decolourisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions. *Water SA*, *21*(1), 61–69.
- Christina P, M., S, M. nisatun, & Saptajaji, R. (2007). Studi Pendahuluan Mengenai Degradasi Zat Warna Azo (Metil Orange) Dalam Pelarut Air Menggunakan Mesin Berkas Elektron 350 keV/10 mA. *Jurnal Forum Nuklir*, *1*(1), 31.
- Dawkar, V. V., Jadhav, U. U., Ghodake, G. S., & Govindwar, S. P. (2009). Effect of inducers on the decolorization and biodegradation of textile azo dye Navy blue 2GL by *Bacillus* sp. VUS. *Biodegradation*, *20*(6), 777–787.
- Deutscher, P. (1990). Rethinking Your Purification Procedure. *Purification Procedure*, *182*, 779–780.
- Djarkasi, Sri Raharjo, Z. N. (2017). Isolation and Specific Activity of Indigenous Lipase Enzyme in Canarium Nut. *Jurnal Teknologi Pertanian*, *8*, 28–35.
- Elfarash, A., Mawad, A. M. M., Yousef, N. M. M., & Shoreit, A. A. M. (2017). Azoreductase kinetics and gene expression in the synthetic dyes-degrading *Pseudomonas*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, *4*(4), 315–322.
- Hasnat, M. A., Uddin, M. M., Samed, A. J. F., Alam, S. S., & Hossain, S. (2007). Adsorption and photocatalytic decolorization of a synthetic dye erythrosine on anatase TiO₂ and ZnO surfaces. *Journal of Hazardous Materials*, *147*(1–2), 471–477.
- Heristyara, R., Susilawati, I. O., & Badruzsaufari. (2019). Efek Suhu Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Pereduksi Cr (Vi) Oleh *Bacillus Cereus* Isolat Ab13

- Dari Tanah Serpentin. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 4(April), 157–162.
- Humbird, D., Davis, R., & Tao, L. (2011). Process Design and Economics for Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol. In *National Renewable Energy Laboratory* (Issue May).
- Kasipah, C., Rismayani, S., & Nurachman, Z. (2013). Isolation and Characterization of Bacteriaproducer Extracellular Lipase Enzyme From an Activated Sludge. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, 28(1), 1–7.
- Koelman, K. J. (2005). The Levitation of Copyright: An Economic View of Digital Home Copying, Levies and DRM. *SSRN Electronic Journal*, 15(May 1955), 75–81.
- Kuntadi, & Laksono, E. (2015). Isoterm Adsorpsi Dari Adsorben Nata De Ipomoea Pada Adsorpsi Pewarna Direct Red Teknis. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 7(1), 37–72.
- Kusmiyati, M. 2016. *Praktikum Kimia Farmasi*. Modul Bahan Ajar Cetak. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Liu, W., Jacquioid, S., Brejnrod, A., Russel, J., Burmølle, M., & Sørensen, S. J. (2019). Deciphering links between bacterial interactions and spatial organization in multispecies biofilms. *ISME Journal*, 13(12), 3054–3066.
- Manjunatha, A. S., & Puttaswamy. (2016). Decolorization of ethyl orange azo dye by oxidation process with acidified chloramine-T: spectrophotometric, kinetic and mechanistic approaches. *Desalination and Water Treatment*, 57(5), 2159–2166.
- Matthews, A., Grbin, P. R., & Jiranek, V. (2006). A survey of lactic acid bacteria for enzymes of interest to oenology. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(3), 235–244.
- Mazumder, R., Phelps, T. J., Krieg, N. R., & Benoit, R. E. (1999). Determining chemotactic responses by two subsurface microaerophiles using a simplified capillary assay method. *Journal of Microbiological Methods*, 37(3), 255–263.
- Mega, T. 2020. Bioadsorpsi Zat Warna *Direct Red 80* Menggunakan Bakteri Indigen dari Limbah Industri Kain Jumputan. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.
- Mohan, N., Balasubramanian, N., & Basha, C. A. (2007). Electrochemical oxidation of textile wastewater and its reuse. *Journal of Hazardous Materials*, 147(1–2), 644–651.

- Oxoid. 2006. *Manual Oxoid*. Edisi 9. Oxoid Limited. Bandung.
- Permata S. 2021. Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Bacillus tropicus* BD 01. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.
- Permatasari, I., Nugroho, R. A., & Meitiniarti, V. I. (2018). Dekolorisasi Pewarna Tekstil Sumifix Blue Dan Reactive Red 2 Oleh Bakteri Yang Diisolasi Dari Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 5(1), 20.
- Purwandaka. (2016). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pada Saluran Pencernaan Ikan Sidat (*Anguilla Bicolor*) Yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik. *SKRIPSI*.
- Purwanto, M. G. M. (2014). Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut Dengan Berbagai Metode Spektroskopi Uv-Visible. *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 7, 1–71.
- Rachmawaty, R., & Madihah, M. (2013). Potensi Perlakuan Awal Limbah Kulit Udang untuk Produksi Enzim Kitinase oleh *Trichoderma Virens* Pada Fermentasi Substrat Padat. *BIONATURE "Jurnal Kajian, Penelitian, Dan Pengajaran Biologi,"* 14(1), 33–37.
- Richardson, T.H *et al.* 2002. High Performance Enzyme for Starch Liquefaction Discovery and Optimization of a Low pH, Thermostable α -amylase. *Journal of Biological Chemistry*. 277(29): 26501 – 26507.
- Russ, A. P., Wattler, S., Colledge, W. H., Aparicio, S. A. J. R., Carlton, M. B. L., Pearce, J. J., Barton, S. C., Azim Surani, M., Ryan, K., Nehls, M. C., Wilsons, V., & Evans, M. J. (2000). Eomesodermin is required for mouse trophoblast development and mesoderm formation. *Nature*, 404(6773), 95–99.
- Salirawati, D., Sulistyowati, E., & Amanatie. (2016). Karakterisasi Beberapa Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim Tripsin. *Jurnal Penelitian Saintek*, 21(2), 107. <https://doi.org/10.21831/jps.v21i2.12581>
- Sana, B., Ghosh, D., Saha, M., & Mukherjee, J. (2008). Purification and characterization of an extracellular, uracil specific ribonuclease from a *Bizionia* species isolated from the marine environment of the Sundarbans. *Microbiological Research*, 163(1), 31–38.
- Saranraj, P., Stella, D., & Sivasakthivelan, P. (2014). Scholars Research Library Separation, purification and characterization of dye degrading enzyme azoreduktase from bacterial isolates. *Central European Journal of Experimental Biology*, 3(2), 19–25.

- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Scopes, R. K. (2002). Enzyme Activity and Assays. *Encyclopedia Of Life Sciences*, 1–6.
- Seftiono, H. (2017). Penentuan Aktivitas Enzim Mananase Dari Berbagai Mikroorganisme Di Indonesia Dan Peranannya Dalam Bidang Pangan: Kajian Pustaka. *Agrointek*, 11(1), 14.
- Selvam, K., Swaminathan, K., & Chae, K. S. (2003). Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp. *Bioresource Technology*, 88(2), 115–119.
- Selvia, R. I., Wuryanti, W., & Sriatun, S. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 16(3), 97–101.
- Sholihati, A. M., Baharuddin, M., & Santi, S. (2015). Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Al-Kimia*, 3(2), 78–90.
- Siddiqui, H. N., Karkun, A. and Jangir, S. 2015. Isolation and Identification of Microorganism to Study of Their Potential to Degrade Harmful Azo Dyes by the Enzyme Azoreductase Produced by the Microorganism. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB) Sch. Acad. J. Biosci.* 3(6):541-557.
- Stolz, A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(1–2), 69–80.
- Su'i, M., & Suprihana. (2014). Fraksinasi Enzim Lipase Dari Endosperm Kelapa Dengan Metode Salting Out. *Agrotech*, 33(04), 377–383.
- Sutandi, C. 2003. Analisis Potensi Enzim Protease Lokal. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Wardani, A. K., & Lia Nindita, O. (2012). Purifikasi Dan Karakterisasi Protease Dari Bakteri Hasil Isolasi Dari Whey Tahu. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(3), 149–156.
- Wesenberg, D., Buchon, F., & Agathos, S. N. (2002). Degradation of dye-containing textile effluent by the agaric white-rot fungus *Clitocybula dussenii*. *Biotechnology Letters*, 24(12), 989–993.
- Xiuqin, C., Chunxia, B., Weiqi, S., Wei, Z., Jie, S., Yumei, D., Bin, W., Meiyong, Y., and Zhiyong, Y. 2013. Purification and Stability Characteristics of an Extracellular Alkaline Serine Protease from a Newly Isolated

Stenotrophomonas maltophilia Strain D2. *African Journal of Microbiology Research*. 7(33): 4244–4250.

Yunita, S.P. 2002. Skrining dan Uji Aktivitas Enzim Protease Bakteri dari Limbah Rumah Pemotongan Hewan. *Skripsi*. Universitas Airlangga: Surabaya.

Zimmermann, T., Kulla, H. G., & Leisinger, T. (1982). Properties of Purified Orange II Azoreductase, the Enzyme Initiating Azo Dye Degradation by *Pseudomonas* KF46. *European Journal of Biochemistry*, 129(1), 197–203.