

**PENGARUH PENAMBAHAN INDUSER TERHADAP ENZIM
AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI
*Aeromonas jendaei***

SKRIPSI

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



**Oleh :
LIDYA ANNISA
08031381823054**

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

2022

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH PENAMBAHAN INDUSER TERHADAP ENZIM
AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI
*Aeromonas jendaei***

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Bidang Kimia

Oleh:

LIDYA ANNISA

08031381823054

Indralaya, 1 November 2022

Mengetahui,

Pembimbing I

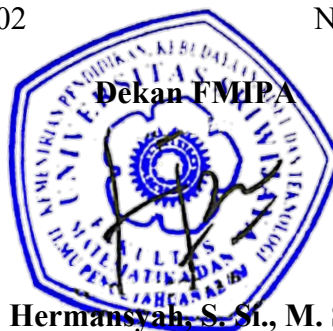


Dra. Julinar, M. Si.
NIP. 196507251993032002

Pembimbing II



Widia Purwaningrum, M. Si.
NIP. 197304031999032001



Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph. D
NIP. 197111191997021001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi ini dengan judul “Pengaruh Penambahan Induser Terhadap Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Aeromonas jendaei*” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 25 Oktober 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 1 November 2022

Ketua:

1. Fahma Riyanti, M. Si.

NIP. 197204082000032001

()

Sekretaris:

2. Nova Yuliasari, M. Si.

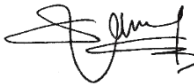
NIP. 197307261999032001

()

Pembimbing:

1. Dra. Julinar, M. Si.

NIP. 196507251993032002

()

2. Widia Purwaningrum, M. Si.

NIP. 197304031999032001

()

Penguji:

1. Dr. Heni Yohandini, M. Si.

NIP. 197011152000122004

()

2. Drs. Dasril Basir, M. Si.

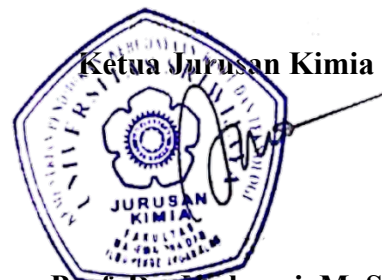
NIP. 195810091986031005

()

Mengetahui,



Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph. D
NIP. 197111191997021001



Prof. Dr. Muharni, M. Si.
NIP. 196903041994122001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lidya Annisa
NIM : 08031381823054
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, 07 November 2022

Penulis



Lidya Annisa

NIM. 08031381823054

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Lidya Annisa
NIM : 08031381823054
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: “Pengaruh Penambahan Induser Terhadap Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Aeromonas jendaei*”. 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, 07 November 2022

Penulis

Lidya Annisa

NIM. 08031381823054

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya, dan sesungguhnya usahanya itu kelak akan diperlihatkan (kepadanya), kemudian akan diberikan balasan kepadanya dengan balasan yang paling sempurna”

(QS. An-Najm (53): 39-41)

“Orang yang bijak adalah orang yang mengetahui bahwa dirinya tidak tahu”

(Socrates)

Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada:

Allah SWT

Nabi Muhammad SAW

Kupersembahkan untuk:

Kedua orang tuaku (Bapak dan Ibu),

Seluruh keluarga,

Sahabat-sahabat dan orang terdekatku,

Pembimbing - pembimbingku,

Almamaterku Universitas Sriwijaya

“Bahkan ketika tidak ada yang percaya, jangan pernah hilang harapan, kamu lebih kuat dari apa yang kamu pikirkan.”

Lidya

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: “Pengaruh Penambahan Induser Terhadap Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Aeromonas jendaei*”. 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 **Widia Purwaningrum, 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 Ibu, 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 Drs. Dasril Basir, 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, saudara dan sepupu, terimakasih untuk materi, nasihat dan semangat untuk bertahan dan berusaha menyelesaikan ini.
9. Fitri Amalia terimakasih untuk semua kebersamaan, kebahagiaan, bantuan baik materi, ilmu, nasihat, dan terimakasih telah menjadi bagian dalam perjalanan yang telah dilalui selama 18 tahun ini, semoga tetap bersama sampai maut, sayang ficih banyak-banyak tak terhingga.
10. Putri Setiani sahabat dari SMP tempat bertukar pendapat dan berbagi hal, serta Ilsa Nabila sahabat SMK sang support system, penyemangat ketika lelah dalam segala hal, dan yang selalu mendoakan dalam segala perjuangan, semoga kita selalu bersama dalam jalan Allah swt.
11. Gandus Kingdom (Dinda, Irene dan Ade) yang telah menemani dari awal maba, berbagi cerita, ilmu, nasihat, kebahagiaan dan kenangan, semoga kebersamaan kita tetap terjalin terus menerus.
12. Team TA Bu Julinar (Piud dan Tiur), terima kasih telah kebersamai dari awal mencari topik penelitian, lembur di lab, penelitian hingga sampai tahap pemberkasan, saya ucapkan terima kasih.
13. Peternak Bakteri (Piud, Tiur, Iqbal), terima kasih telah kebersamai selama proses penelitian berlangsung, baik dari pembelian bahan, sampel, dll sampai tahap pemberkasan, terima kasih.
14. DAMRI SQUAD (Irene, Dinda, Ade, Piud, Tiur, Iqbal, Eko, Ilyas, Suteja, Prima, Sandi, dan Raisha) terima kasih telah menjadi teman dari maba dan penyelesaian misi dalam pengejaran bis saat pergi dan pulang dari perkuliahan.
15. Team TA Laboratorium Biokimia (Raafud, Tiur, Iqbal, Mahdi, Rolis, Bening, Shefira, Reza, kak Getari, Kak Rani, Kak Apres, Kak Melan, Irena dan Venan),

terima kasih atas ilmu dan dukungan semangatnya selama ini, sehat terus serta sukses untuk kita semua.

16. Amanda teman seperjuangan pergi-pulang bareng, teman gibah dan pemberi segala info, terimakasih telah menemani, membantu dan berjuang dalam menyelesaikan skripsi.
17. 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.
18. 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, 07 November 2022

Penulis

SUMMARY

THE EFFECT OF INDUCER'S ADDITION TO EXTRACELLULAR AZOREDUCTASE ENZYME FROM *Aeromonas jendaei*

Lidya annisa: supervised by Dra. Julinar, M.Si and Widia Purwaningrum, M.Si. Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Sriwijaya University XVII+51 pages, 6 tables, 10 figures, 10 appendices

The enzyme azoreductase can be produced by the bacteria *Aeromonas jendaei*. The activity of enzymes produced by the bacteria *A. jendaei* in previous studies is still low. One of the ways used to increase enzyme production is by induction process through the addition of inducers. The inducers added were CaCl₂, CaCO₃ and methyl red dye at a concentration of 1 mM at the time of inoculation and cultureization.

A. jendaei bacteria that have been cultured in a nutrient broth liquid medium with and without the addition of an inducer, incubated at a temperature of 37 °C for 2x24 hours then centrifuged at a speed of 3000 rpm for 15 minutes. The crude extract of the enzyme is then fractionated with ammonium sulfate. The extracellular azoreductase enzyme is then tested for activity using the Zimmerman method, protein levels are determined using the biuret method and specific activity is calculated.

The results of extracellular azoreductase enzyme activity of crude extract without the addition of an inducer of 0,0635 U/mL and a specific activity of 0,0038 U/mg. The results of fractionation of the extracellular azoreductase enzyme without the addition of inducers had the highest activity at fraction 3 (40-60%) with an enzyme activity of 0,0983 U/mL and a specific activity of 0,0431 U/mg. The activity of the enzyme extracellular azoreductase with the addition of several inducers has the same highest activity at fraction 3 with a saturation level of ammonium sulfate of 40-60%. The addition of inducers successfully increases the activity of the enzyme azoreductase, the highest increase was with the CaCl₂ inducer which provided activity of 0.1168 U/mL, followed by the CaCO₃ inducer with an activity of 0.1068 U/mL and the red methyl inducer with an activity of 0.1047 U/mL.

Keyword : *Aeromonas jendaei*, azoreductase, inducer, CaCl₂, CaCO₃, methyl red

Citation : 66 (1975-2021)

RINGKASAN

PENGARUH PENAMBAHAN INDUSER TERHADAP ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Aeromonas jendaei*

Lidya Annisa: dibimbing oleh Dra. Julinar, M.Si. dan Widia Purwaningrum, M.Si.
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
Sriwijaya

XVII+51 halaman, 6 tabel, 10 gambar, 10 lampiran

Enzim azoreduktase dapat dihasilkan oleh bakteri *Aeromonas jendaei*. Aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri *A. jendaei* pada penelitian sebelumnya masih rendah. Salah satu cara yang digunakan untuk meningkatkan produksi enzim adalah dengan proses induksi melalui penambahan induser. Induser yang ditambahkan yaitu CaCl_2 , CaCO_3 dan metil merah pada konsentrasi 1 mM pada saat inokulasi dan kulturisasi.

Bakteri *A. jendaei* yang telah dikulturkan pada media cair nutrient broth dengan dan tanpa penambahan induser, diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Ekstrak kasar enzim kemudian difraksinasi dengan ammonium sulfat. Enzim azoreduktase ekstraseluler selanjutnya diuji aktivitas menggunakan metode Zimmerman, ditentukan kadar protein menggunakan metode biuret dan dihitung aktivitas spesifik.

Hasil aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari ekstrak kasar tanpa penambahan induser sebesar 0,0635 U/mL dan aktivitas spesifik sebesar 0,0038 U/mg. Hasil fraksinasi enzim azoreduktase ekstraseluler tanpa penambahan induser memiliki aktivitas tertinggi pada fraksi 3 (40-60%) dengan aktivitas enzim sebesar 0,0983 U/mL dan aktivitas spesifik sebesar 0,0431 U/mg. Aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dengan penambahan beberapa induser memiliki aktivitas tertinggi yang sama yaitu pada fraksi 3 dengan tingkat kejenuhan ammonium sulfat 40-60%. Penambahan induser berhasil meningkatkan aktivitas enzim azoreduktase, peningkatan tertinggi dengan induser CaCl_2 yang memberikan aktivitas sebesar 0,1168 U/mL, selanjutnya dengan induser CaCO_3 dengan aktivitas sebesar 0,1068 U/mL dan induser metil merah dengan aktivitas sebesar 0,1047 U/mL.

Kata kunci : *Aeromonas jendaei*, azoreduktase, induser, CaCl_2 , CaCO_3 , metil merah

Kutipan : 66 (1975-2021)

DAFTAR ISI

	Halaman
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	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim	4
2.2 Aktivitas Enzim.....	5
2.3 Aktivitas Spesifik Enzim.....	5
2.4 Induksi Enzim	6
2.5 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	7
2.5.1 pH	7
2.5.2 Suhu.....	7
2.5.3 Konsentrasi Enzim dan Konsentrasi Substrat	8
2.5.4 Kofaktor dan Koenzim	9
2.5.5 Induser.....	10

2.6	Pemurnian Enzim.....	10
2.6.1	Fraksinasi Ammonium Sulfat.....	10
2.6.2	Dialisis.....	11
2.7	Enzim Azoreduktase	12
2.8	Zat Warna.....	13
2.9	Zat Warna Azo	14
2.10	Bakteri <i>Aeromonas jendaei</i>	15
2.11	Spektrofotometer UV-Vis	16
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN.....	17
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2	Alat dan Bahan.....	17
3.2.1	Alat	17
3.2.2	Bahan.....	17
3.3	Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1	Sterilisasi Alat.....	17
3.3.2	Pembuatan Media	18
3.3.2.1	Media Nutrient Agar (NA)	18
3.3.2.2	Media Nutrient Broth (NB).....	18
3.3.3	Produksi Enzim.....	18
3.3.3.1	Peremajaan Bakteri	18
3.3.3.2	Penyiapan Inokulum Bakteri	18
3.3.3.2.1	Inokulum Tanpa Induser	18
3.3.3.2.2	Inokulum dengan Penambahan Induser	18
3.3.3.3	Kulturasasi Bakteri	19
3.3.3.3.1	Kultur Tanpa Induser	19
3.3.3.3.2	Kultur dengan Penambahan Induser	19
3.3.3.4	Ekstraksi Enzim	19
3.3.4	Persiapan Substrat Metil Merah	19
3.3.4.1	Pembuatan Larutan Metil Merah 50 μ M	19
3.3.4.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Metil Merah	19

3.3.5 Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase dengan Metode Zimmermann	20
3.3.6 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Biuret.....	20
3.3.6.1 Pembuatan Kurva Standar BSA (<i>Bovin Serum Albumin</i>).....	20
3.3.6.2 Penentuan Kadar Protein Sampel	20
3.3.7 Fraksinasi Ammonium Sulfat.....	20
3.3.8 Dialisis	21
3.3.9 Analisis Data.....	21
3.3.9.1 Penentuan Kadar Protein	21
3.3.9.2 Aktivitas Enzim	22
3.3.9.3 Aktivitas Spesifik.....	22
BAB IV PEMBAHASAN.....	23
4.1 Ekstrak Kasar Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri <i>Aeromonas jendaei</i>	23
4.2 Fraksi-Fraksi Ammonium Sulfat dari Ekstrak Kasar Enzim Azoreduktase Ekstraseluler.....	24
4.3 Pengaruh Penambahan Induser Terhadap Enzim Azoreduktase Ekstraseluler.....	25
4.3.1 Pengaruh Induser Terhadap Aktivitas Enzim.....	25
4.3.2 Pengaruh Induser Terhadap Kadar Protein.....	26
4.3.3 Pengaruh Induser Terhadap Aktivitas Spesifik	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	35
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Hubungan pH dengan aktivitas enzim	7
Gambar 2.	Hubungan konsentrasi enzim dengan laju reaksi enzim.....	8
Gambar 3.	Hubungan konsentrasi substrat dengan laju reaksi enzim	9
Gambar 4.	Biodegradasi zat warna azo dengan proses anaerobik-aerobik.....	13
Gambar 5.	Struktur metil merah	15
Gambar 6.	Bakteri <i>Aeromonas sp.</i>	16
Gambar 7.	Hasil sentrifugasi kultur cair bakteri <i>Aeromonas jendaei</i>	23
Gambar 8.	Aktivitas enzim azoreduktase pengaruh variasi induser.....	25
Gambar 9.	Kadar protein enzim azoreduktase pengaruh variasi induser	26
Gambar 10.	Aktivitas spesifik enzim azoreduktase pengaruh variasi induser ..	27

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nilai kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim dari tiap fraksi	24
Tabel 2. Data pengukuran absorbansi standar protein	37
Tabel 3. Penentuan persamaan garis regresi linier.....	38
Tabel 4. Hasil aktivitas enzim, kadar protein, dan aktivitas spesifik.....	41
Tabel 5. Hasil ammonium sulfat yang digunakan untuk fraksinasi.....	42
Tabel 6. Aktivitas enzim, kadar protein, dan aktivitas spesifik hasil fraksinasi .	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja.....	36
Lampiran 2. Kurva kalibrasi larutan standar BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>).....	37
Lampiran 3. Data dan perhitungan aktivitas enzim, kadar protein, dan aktivitas spesifik.....	39
Lampiran 4. Perhitungan jumlah Ammonium Sulfat yang digunakan untuk fraksinasi.....	42
Lampiran 5. Tabel Ammonium Sulfat	43
Lampiran 6. Data dan perhitungan aktivitas enzim, kadar protein, dan aktivitas spesifik hasil fraksinasi.....	44
Lampiran 7. Perhitungan Purifikasi Enzim	47
Lampiran 8. Pembuatan Larutan	48
Lampiran 9. Gambar.....	49
Lampiran 10. Panjang Gelombang Maksimum Metil Merah	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan dapat dikurangi dengan menggunakan enzim, hal ini karena enzim bersifat biokatalisator, spesifik dan tidak beracun. Pemanfaatan enzim telah banyak dilakukan dalam berbagai kegiatan industri, seperti industri makanan dalam proses produksi makanan, industri farmasi dan kosmetik serta industri tekstil salah satunya pada saat proses pengolahan limbah hasil industri (Akhdia, 2003).

Limbah yang dihasilkan akibat industri tekstil berupa limbah cair (air limbah) yang dihasilkan pada proses pemberian warna. Pewarna tekstil yang terkandung dalam limbah umumnya bersifat *non-biodegradable* atau tidak dapat diuraikan secara alami yang berasal dari senyawa azo dan turunannya yang terdiri dari gugus aromatik (Christina *et al.* 2007). Salah satu contoh zat warna yang banyak dipakai industri tekstil adalah metil merah (Tahir dan Wijaya, 2004). Metode alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan zat warna tekstil dari limbah cair adalah dengan menggunakan enzim pendegradasi zat warna azo yang mampu mendegradasi zat warna azo, salah satunya enzim azoreduktase (Ramlana *et al.* 2012). Enzim dapat dimanfaatkan secara langsung menggunakan enzim hasil isolasi atau tidak langsung dengan menggunakan mikroorganisme penghasil enzim yang diinginkan (Thomas, 1989).

Telah banyak dilakukan penelitian mengenai kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim azoreduktase. Beberapa bakteri yang dapat menghasilkan enzim azoreduktase diantaranya *Bacillus tropicus*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas jendaei*, dan *Pseudomonas luteola* (Saratela, 2011). Enzim azoreduktase yang dihasilkan pada proses dekolorisasi dapat mengkatalisis reaksi pemutusan reduktif ikatan azo yang dapat menghilangkan warna azo yang terjadi pada kondisi anaerobik atau fakultatif (Ramlana *et al.* 2012).

Pada penelitian Sari (2021), enzim azoreduktase yang dihasilkan oleh bakteri *Aeromonas jendai* memiliki aktivitas yang masih rendah, sehingga perlu ditingkatkan aktivitasnya. Berdasarkan penelitian Dawkar *et al.* (2009) salah satu

cara dalam meningkatkan aktivitas enzim yaitu melalui proses induksi melalui penambahan induser. Aktivitas enzim azoreduktase yang dihasilkan dari beberapa penambahan induser seperti veratrole (0,5 mM), kalsium klorida (1mM), kalsium karbonat (1 mM), triptofan (2 mM), guaicol (1 mM) dan anilin (1 mM) yang ditambahkan satu per satu dalam 100 mL media ekstrak ragi di waktu inokulasi mendapatkan hasil bahwa penambahan induser diketahui mampu meningkatkan persen biodekolorisasi dan aktivitas enzim. Enzim azoreduktase dengan penambahan induser CaCl_2 mampu mendegradasi zat warna azo *navy blue 2GL* dengan persen biodekolorisasi tertinggi yaitu sebesar 94% dalam waktu 18 jam, sementara itu dibutuhkan 48 jam untuk dekolorisasi tanpa penambahan induser (Dawkar *et al.* 2009). Penelitian ini akan dilakukan pengujian mengenai pengaruh penambahan induser CaCl_2 , CaCO_3 , dan zat warna metil merah terhadap produksi enzim azoreduktase ekstraseluler dari isolat bakteri *Aeromonas jendai*.

1.1 Rumusan Masalah

Aeromonas jendai adalah salah satu bakteri yang menghasilkan enzim azoreduktase (Saratela, 2011), akan tetapi enzim azoreduktase yang dihasilkan memiliki aktivitas yang masih rendah (Sari, 2021), sehingga perlu ditingkatkan melalui penambahan *induser* (Dawkar *et al.* 2009). Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari ekstrak kasar enzim dari bakteri *Aeromonas jendaei* terhadap zat warna azo metil merah?
2. Bagaimana hasil fraksinasi ammonium sulfat pada enzim azoreduktase ekstraseluler?
3. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jendaei* terhadap penambahan *induser* yang berbeda?

1.2 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari ekstrak kasar enzim dari bakteri *Aeromonas jendaei* terhadap zat warna azo metil merah.

2. Memurnikan enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jendaei* dengan cara fraksinasi Ammonium Sulfat.
3. Menentukan aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Aeromonas jendaei* yang telah diinduksi melalui penambahan beberapa *induser*.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian adalah memperoleh aktivitas enzim yang lebih besar melalui proses induksi dengan penambahan beberapa *induser* dan mendapatkan *induser* yang tepat dalam meningkatkan aktivitas enzim azoreduktase.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer, P.V. 2005. Amylases and Their Applications. *African Journal of Biotechnology*. 4 (13): 1525–1529.
- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah*. 9: 98-102.
- Arjito, I.P.D. 2009. Analisis protein jaringan otak sapi dengan metode isolasi, purifikasi dan visualisasi. *Jurnal GaneÇ Swara*. 3 (2): 55-58.
- Baehaki, A., Rinto, dan Budiman, A. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 22 (1): 37-42.
- Baraniak, P. R., Nelson, D. M., Leeson, C. E., Katakam, A. K., Friz, J. L., Cress, D. E., Hong, Y., Guan, J., and Wagner, W. R. 2011. Spatial control of gene expression with in a scaffold by localized inducer release. *Biomaterials*. 32 (11): 3062–3071.
- Berg, J.M., Tymoczko J.L., and Stryer L. 2012. *Biochemistry 7th edition*. New York: W.H. Freeman.
- Brock, T.D, and Brock, K.M. 1978. *Basic Mikrobiology with Applications. Second edition*. Prentice-hall. New Jersey: Englewood Cliffs.
- Budiman, A dan Setyawan, S. 2009. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan Ph dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Christina P.M., Mu'nisatun, S., Saptajji, R., dan Marjanto, D. 2007. Studi Pendahuluan Mengenai Degradasi Zat Warna Azo (Metil Orange) Dalam Pelarut Air Menggunakan Mesin Berkas Elektron 350 Kev/10 Ma. *Jurnal Fisika Nasional*. 1 (1): 31-44.
- Davidson, V.L. dan Sittman, D.B. 1999. *Biochemistry 4th edition*. Maryland: Lipincott Williams and Wilkins.
- Dawkar, V.V., Jadhav, U.U., Ghodake, G.S., and Govindwar, S.P. 2009. Effect of Inducers on The Decolorization and Biodegradation of Textile Azo Dye Navy Blue 2GL by Bacillus sp. VUS. *International Biodeterior. Biodegradation*. 63 (4): 433-439.
- de Bolster, M.W.G. 1997. Glossary Of Terms Used In Bioinorganic Chemistry. *International Union Of Pure And Applied Chemistry*. 69 (6): 1251-1303.
- Elawati, N.E., Pujiyanto, S., dan Kusdiyantini, E. 2018. Karakteristik Dan Sifat Kinetika Enzim Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria Bassiana*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 5 (1): 1-7.

- Falch, E.A. 1991. Industrial Enzymes Developments in Production and Application. *Biotechnology Advances*. 9 (4): 643-658.
- Fatimah, S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-vis. 9(17): 22-33.
- Gorreti, M dan Purwanto, M. 2014. Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visble. *Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*. 7 (1): 1-17.
- Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. dan Rodwell, V.W. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition. New Delhi: Mc Graw-Hill Companies Inc.
- Haedar N., Natsir H., Fahrudin, dan Aryanti W. 2017. Produksi dan karakterisasi enzim kitinase dari bakteri kitinolitik asal kerang *Anadara granosa*. *Jurnal Ilmu Alam Lingkungan*. 8: 14-21.
- Harris, R. S. dan Karmas, E. 1989. *Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan*. Penerjemah: S. Achmadi. Bandung: ITB – Press.
- Hayes, J., 2000. *Aeromonas hydrophila*. Oregon: Oregon State University.
- Heaton, A. 1994. *The Chemical Industry, Second eition, Blackie Academic and Profesional*. London: Chapman & Hal.
- Heristyara, R., Badruzsauhari, dan Susilawati, I.O. 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 (1): 157-162.
- Holt, J.G. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Ed.* Philadelphia: A Wolters Kluwer Company.
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. Editor Bahasa Indonesia: Hartanto, H., Darmaniah, N., dan Wulandari, N. Jakarta: EGC.
- Lalnunhlimi, S., and Krishnaswamy, V. 2016. Decolorization of Azo Dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by Moderately Alkaliphilic Bacterial Consortium. *Braz J. Microbiol.* 47: 39-46.
- Lehninger, A.L. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Matthews, C.K., Van-Holde, K.E., and Ahern, K.G. 2000. *Biochemistry, 3rd edition*. San Fransisco: Addison-Wesley Publishing Company.
- Mulja, M., dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.

- Oxoid. 2006. *Manual Oxoid*. Edisi 9. Oxoid Limited: Bandung.
- Nerland, A.H. 1996. The Nucleotide Sequence of The Gene Encoding GCAT from *Aeromonas salmonicida ssp. J. Fish Dis.* 19: 145-150.
- Noviendri, D. 2008. Teknik isolasi senyawa bioaktif dari kapang yang berasal dari lingkungan laut. *Squalen*. 3: 70–8.
- Permatasari, I., Nugroho, R.A., dan Meitiniarti, V.E. 2018. Dekolorisasi Pewarna Tekstil *Sumifix Blue* Dan *Reactive Red 2* Oleh Mikroba Yang Diisolasi Dari Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 5 (1). 20-26.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerbit UI-Press: Jakarta.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, F.M.T. 2009. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Purkan, P., Baktir, A., dan Sayyidah, A.R. 2016. Produksi Enzim Kitinase Dari *Aspergillus niger* Menggunakan Limbah Cangkang Rajungan Sebagai Induser. *Journal Kimia Riset*. 1 (1): 34-41.
- Purwanti, A. 2015. Induksi dan Uji Sumber Penghasil Enzim β -1,3-Glukanase dan Kitinase yang Terdapat dalam Cairan *Digestive Gland* Bekicot (*Achatina fulica*). *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Ramlana, M.A.M., Azizana, N.A., Hana, B.H., Kima, L.C., Mohamada, S.E., and Ibrahima, Z. 2012. Decolourisation of Reactive Black 5 by Azoreductase Produced by *Brevibacillus panacihumi* ZBI. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 59 (1): 11-16.
- Rawat, D., Mishra, V., and Sharma, R.S. 2016. Detoxification Of Azo Dyes In The Context Of Environmental Processes. *Journal Chemosphere*. 155: 591-605.
- Sadikin, M. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika.
- Sahoo, C., Gupta, A.K., dan Pal, A. 2005. Photocatalytic Degradation of Methyl Red Dye in Aqueous Solutions Under UV Irradiation Using Ag + Doped TiO₂. *Desalination*. 181: 91-100.
- Sana, H.I., Haque, E.M., and Shaha, R.K. 2004. Identification, Purification and Characterization Of Lipase From Germination Oil Seed (*Brassica Napus L.*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7 (2): 246-252.
- Sari, D. Y. 2021. Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler Dari Bakteri *Aeromonas Jandaei*. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.

- Saratele R. G., Saratele G. D., Chang J.S and Govindwat S. P. 2011. Bacterial Decolorization and Degradation of Dyes. *Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 42: 138-157
- Sastrawidana, I.D.K., Lay, B.W., Fauzi, A.M., & Santosa, D.A. 2008. Pengolahan Limbah Tekstil Sistem Kombinasi Anaerobik-Aerobik Menggunakan Biofilm Bakteri Konsorsium dari Lumpur Limbah Tekstil. *Jurnal Ecotrophic*. 3 (2): 55-60.
- Sastrohamidjojo, H. 2005. *Kromatografi Edisi Ke-2*. Yogyakarta: Liberty.
- Scope, R. K. 1982. *Protein Purification*. New York: Spinger Verlag.
- Scope, R. K. 1993. *Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed*. New York: Spinger Verlag.
- Selvia, R.I., Wuryanti, dan Sriatun. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (*Lepidoptera*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 16 (3): 97 – 101.
- Shahib, M.N. 2005. *Biologi Molekuler Jilid 1*. Bandung: Fakultas Kedokteran UNPAD.
- Slonczewski, Joan, and Watkins, J. 2009. *Microbiology: An Evolving Science*. New York: W.W. Norton.
- Stolz, A. 2001. Basic and Applied Aspects in the Microbial Degradation of Azo Dyes. *Applied Microbiology Biotechnology*. 56 (2): 69-80.
- Sulistiyowati, E., Salirawati, D., dan Amanatie. 2016. Karakterisasi Beberapa Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim Tripsin. *Jurnal Penelitian Saintek*. 21 (2): 107-120.
- Sumardjo, D.D. 2006. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A.A., Holydaziah, D. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva *Hermetia illucens* yang Diberi Pakan Jerami Padi. *Jurnal ISTEK*. 9 (2): 18-32.
- Susanti, R. dan Fibriana, F. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Tahir, I., dan Wijaya, K. 2004. Pembuatan dan Uji Fotoaktivitas Komposit TiO₂-Bentonit Untuk Degradasi Senyawa Pewarna Metilen Biru. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.

- Tazkiah, N.P., Rosahdi, T.D., dan Supriadin, A. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Enzim Amilase Dari Biji Nangka (*Artocarpus Heterophillus*). *Jurnal Al-Kimiya*. 4 (1): 17-22.
- Thomas, A.N.S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Velmurugan, S., and Revikumar, R. 2014. Biodegradation and Decolorization of Reactive Dye Red ME4BL by *Bacillus subtilis*. *International Journal of Environ Bioremed. Biodeg.* 2: 250-255.
- Volesky, B., John, H.T., Luong and Aunstrup, K. 1984. Microbial Enzymes: Production, Purification, and Isolation. *CRC Critical Reviews in Biotechnology*. 2 (2): 119-146.
- Wagner, J.G. 1975. *Fumdamentals of Clinical Pharmacokinetics 1st Edition*. Kanada: Drug Intelligence Publications.
- Wardani, A., dan Ahsanatun S. 2012. *Purifikasi dan Strategi Enzim*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Wirahadikusumah, M. 1981. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat Edisi ke 2*. Bandung: ITB.
- Wuryanti, Indriani, I. dan Agustina, D. 2003. Penentuan aktivitas spesifik heksokinase dari limbah anggur pisang biji. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 7 (3): 14-16.
- Zaoyan, Y., Ke, S., Guangliang, S., Fan, y" Jinshan, D. and Haunian, M. 1992. Anaerobic-aerobic Treatment of a Dye Wstewater by Combination of RBC with Activated Sludge. *Wat. Sci. Tech.* 26 (9): 2093-2096.
- Zimmermann, T., Kulla, H.G., and Leisinger, T. 1982. Properties of Purified Orange II Azoreductase, the Enzyme Initiating Azo Dye Degradation by *Pseudumonas KF46*. *Eur. J. Biochem.* 129: 197-203.