

**UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE  
EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Pseudomonas stutzeri***

**SKRIPSI**

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



**Oleh :**

**Siti Zuhro**

**08031281722028**

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

**2021**

## **HALAMAN PENGESAHAN**

### **UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Pseudomonas stutzeri***

#### **SKRIPSI**

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

Oleh:

**Siti Zuhro**  
**08031281722028**

Indralaya, Januari 2022

#### **Pembimbing I**

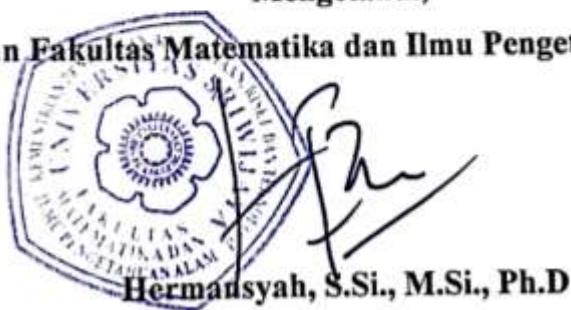
  
**Dra. Julinar, M.Si**  
**NIP. 196507251993032002**

#### **Pembimbing II**

  
**Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si**  
**NIP. 197211092000032001**

Mengetahui,

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Herman syah, S.Si., M.Si., Ph.D**

**NIP. 197111191997021001**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi ini dengan judul "Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Pseudomonas stutzeri*" telah dipertahankan dihadapan Tim Pengaji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universita Sriwijaya pada Tanggal 30 Desember 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, Januari 2022

Ketua:

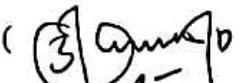
1. **Dra. Julinar, M.Si.**  
NIP. 196903041994122001

(  )

Anggota:

2. **Dr. Nurlisa Iidayati, M.Si.**  
NIP. 197307262000032001
3. **Dr. Eliza, M.Si.**  
NIP. 196407291991022001
4. **Nova Yuliasari, M.Si.**  
NIP. 197307261999032001
5. **Hermansyah, Ph.D.**  
NIP. 197111191997021001

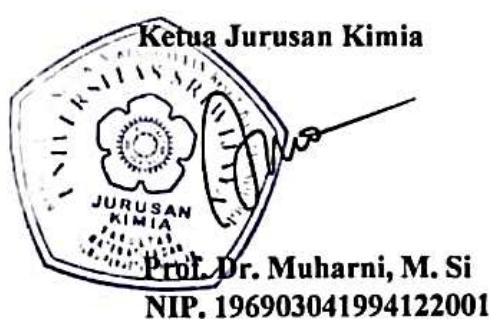
(  )

(  )

(  )

(  )

Mengetahui,



## **PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Siti Zuhro

NIM : 08031281722028

Fakultas/ Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/ Kimia

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 11 Januari 2022



NIM. 08031281722028

## **HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertandatangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Siti Zuhro  
NIM : 08031281722028  
Fakultas/ Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Pseudomonas stutzeri*”. Dengan hak bebas royalty non-ekslusif 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.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 11 Januari 2022

\



Siti Zuhro

NIM. 08031281722028

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Pseudomonas stutzeri*

Siti Zuhro : Dibimbing oleh Dra. Julinar, M. Si dan Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.

Jurusian Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xviii+ 68 halaman, 1 tabel, 15 gambar, 11 lampiran

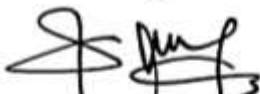
Telah dilakukan Uji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Pseudomonas stutzeri*. Bakteri *P. stutzeri* termasuk bakteri yang memiliki kemampuan dekolorisasi zat warna azo terhadap zat warna metil merah. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. stutzeri*. Ekstrak enzim azoreduktase dari bakteri *P. Stutzeri* diperoleh dengan cara sentrifugasi kultur cair pada media NB yang diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C dalam *shaker* inkubator. Hasil fraksi terpilih digunakan untuk menghitung aktivitas enzim, kadar protein. Penentuan kondisi optimum enzim azoreduktase ekstraseluler dilakukan pada variasi waktu ikubasi, pH, suhu, konsentrasi substrat dan dilakukan perhitungan kinetika enzim  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_m$ . Fraksi tertinggi adalah fraksi 3 dengan tingkat kejenuhan 40%-60% dengan aktivitas enzim sebesar 0,1101 Unit/mL dan aktivitas enzim spesifik sebesar nilai 0,1079 U/mg. Enzim Azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. stutzeri* mempunyai kondisi optimum pada waktu inkubasi 5 menit, pH 7, suhu 37°C dan konsentrasi substrat 70 $\mu$ M dengan aktivitas enzim 0,1166 U/mL. Nilai  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_m$  yang didapatkan sebesar 0,173683 U/mL dan 31,33415  $\mu$ M.

**Kata kunci :** Azoreduktase, *Pseudomonas stutzeri*, Metil merah

**Situsi** : 63 (1977-2019)

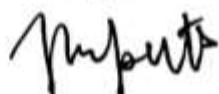
Indralaya, 11 Januari 2022

Pembimbing I

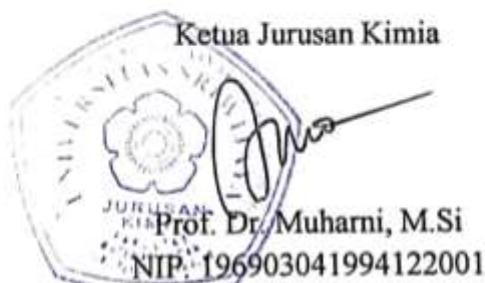


Dra. Julinar, M.Si.  
NIP. 196507251993032002

Pembimbing II



Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.  
NIP. 197211092000032001



## ABSTRACT

### EXTRACELLULAR AZOREDUCTASE ACTIVITY TESTING FROM *Pseudomonas stutzeri* BACTERIA

Siti Zuhro : Supervised by Dra. Julinar, M. Si and Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.

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

xviii+ 68 pages, 1 table, 15 pictures, 11 attachments

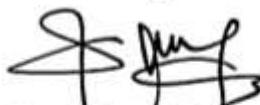
Extracellular azoreductase enzyme activity test has been carried out from the *Pseudomonas stutzeri*. *P. stutzeri* is bacteria bacteria that have the ability to decolorize azo dyes against methyl red dyes. This study aimed to examine the activity of the extracellular azoreductase enzyme from *P. stutzeri*. The azoreductase enzyme extract from *P. Stutzeri* was obtained by centrifugation of the liquid culture on NB media which was incubated for 2x24 hours at 37°C in an incubator shaker. The results of the selected fractions were used to calculate enzyme activity and protein content. Determination of the optimum conditions for the extracellular azoreductase enzyme was carried out at variations in incubation time, pH, temperature, substrate concentration and calculation of enzyme kinetics Vmax and Km. The highest fraction was fraction 3 with a saturation level of 40%-60% with an enzyme activity of 0.1101 Unit/mL and a specific enzyme activity of 0.1079 U/mg. Extracellular Azoreductase enzyme from *P. stutzeri* has optimum conditions at 5 minutes incubation time, pH 7, temperature 37°C and substrate concentration 70µM with enzyme activity 0.1166 U/mL. The values of Vmax and Km obtained are 0.173683 U/mL and 31,33415 M, respectively.

**Keywords :** Azoreductase, *Pseudomonas stutzeri*, Methyl red

**Citation :** 63 (1977-2019)

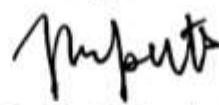
Indralaya, 11 Januari 2022

Pembimbing I



Dra. Julinar, M.Si.  
NIP. 196507251993032002

Pembimbing II



Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.  
NIP. 197211092000032001



## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.  
Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”.*  
*(QS. Al-Insyirah: 5-6)*

*“Sesuatu yang bernyawa tidak akan mati melainkan izin  
Allah, sebagai ketetapan yang telah ditentukan waktunya.  
Barang siapa menghendaki pahala dunia, niscaya Kami  
berikan kepadanya pahala dunia itu, dan barang siapa  
menghendaki pahala akhirat, Kami berikan (pula)  
kepadanya pahala akhirat itu. Dan kami akan memberi  
balasan kepada orang-orang yang bersyukur”.*

*(QS. Al-Imran: 145)*

Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW  
Dan kupersembahkan kepada :

1. Bapak Agustiawang dan Ibu Suhaeni yang selalu mendukung baik secara moril ataupun materil serta semua keluarga besar
2. Pembimbing, Pembahas, Shabat dan semua orang yang membantu hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. Kampusku (Universitas Sriwijaya)

## KATA PENGANTAR

Dengan meyebut nama Allah SWT yang Maha pengasih lagi Maha penyayang. Penulis panjatkan. Penulis panjatkan puji dan syukur atas kehadirat-Nya yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan inayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Pseudomonas stutzeri*”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai rintangan yang dilalui, mulai dari pencarian judul, literatur, penelitian, pengumpulan data, pengolahan data dan penulisan. Naun dengan kesabaran dan ketekunan yang dilandasi dengan rasa tanggung jawab sebagai mahasiswa serta bantuan dari berbagai pihak lain baik berupa moril maupun materil akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Ibu **Dra. Julinar, M.Si** dan Ibu **Dr. Nurlisa, M.Si** yang telah banyak membantu, memberikan bimbingan, bantuan, saran, nasehat dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah S.W.T yang telah memberikan rahmat dan nikmat-Nya yang sangat luar biasa kepada penulis.
2. Bapak Hermasyah, S.Si., M.Si., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Prof. Dr. Muhamni, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
4. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
5. Bapak Hermansyah, Phd., Ibu Nova Yualisari, M.Si, Ibu Dr. Eliza, M.Si selaku pembahas dan penguji sidang sarjana.
6. Serta semua Dosen FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu, mendidik dan membimbing selama masa kuliah.

7. Ibu Prof. Dr. Elfita, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih atas bimbingan, masukan dan motivasi yang diberikan selama masa kuliah.
8. Kak Iin dan Mbak Novi selaku Admin Jurusan yang selalu sabar dalam membantu selama masa perkuliahan hingga lulus.
9. Kedua orang tua aku, ayah dan mamah yang selalu memberikan bantuan baik moril dan materil. Terima kasih atas semua jasa-jasa ayah dan mamah dari neng lahir hingga sekarang. Gelar ini neng persembahkan untuk kalian berdua sebagai rasa tanggung jawab kepada orang tua. Maaf kalau neng belum bisa kasih yang terbaik untuk kalian. Maaf juga neng masih banyak sekali perbuatan yang salah dan menyakiti hati ayah dan mamah. Tapi dari lubuk hati yang paling dalam neng selalu berusaha yang terbaik untuk kalian dan berusaha membanggakan kalian semampu dan sekuat tenaga neng. Semoga kita bisa hidup lebih baik, diberi kesehatan lahir dan batin dan selalu diberikan rezeki serta keberkahan dari Allah S.W.T. Neng ingin ayah dan mamah selalu ridho dalam mendoakan dan mendukung apa yang neng lakukan. Doa kalian sangat berarti bagi neng, semoga ayah dan mamah tidak pernah putus dan lelah mendoakan neng untuk seterusnya dan kedepannya. Sekali lagi terima kasih banyak ayahku dan mamahku yang telah berkerja keras untuk anak-anak kalian. Terimakasih ayah dan mamah. Love you♡♡♡.
10. Adik laki-lakiku Achmad Komarudin (Akom) yang telah mendukung dan menjaga kedua orang tua selama aku menjalani perkuliahan. Semoga akom dilancarkan pendidikannya, sehat mental dan fisiknya dan selalu dalam lindungan Allah S.W.T. Semangat terus ya akom pasti ada jalan dan diberikan kemudahan. Kangen banget berantem sama akom dan jalan-jalan bareng. Pokoknya akom pasti bisa ngelewatin semuanya bismillah jangan lupa bersyukur ♡. Tidak lupa juga kepada adik perempuanku Meiwa Almaira (Meimei) yang telah menghiburku disaat banyak hal-hal buruk. Terimakasih atas keceriaannya ya mei. Semoga meiwa selalu diberikan kebahagiaan dan kemudahan dalam hidup serta dilindungi oleh Allah S.W.T. Meiwa semoga tau minat dan bakat meiwa kedepannya. Semangat

terus, insyaallah teteh selalu mendukung meiwa dalam hal-hal baik untuk meiwa. Love you meiwa ♡.

11. Uwakku Samir Hasan S,E. yang telah menjaga, mendukung, dan perhatian selama neng di Palembang. Terima kasih juga atas tempat tinggalnya yang nyaman. Rasa terima kasih ini tidak bisa disebutkan satu-satu karna terlalu banyak hal baik yang diberikan. Semoga uwak selalu sehat, diberikan keberkahan, dan pahala yang berlimpah. Pokoknya terimakasih banyak ya wak atas semua yang telah diberikan semoga neng bisa sedikit membalas kebaikan uwak walaupun tidak pernah bisa terbalaskan ♡.
12. Ayuk-ayuk ku di palembang terkhusus ayuk Lini dan ayuk Tami yang telah menemaniku dan membantu kehidupanku di Palembang, Terimakasih banyak ya yuk atas semua bimbingan dan hal-hal baik lainnya yang tidak dapat disebutkan semoga allah yang membalas semua kebaikan kalian. Maaf ya yuk kalo neng banyak salah dan sifat-sifat menyebalkan lainnya, mohon maaf sekali. Semoga neng menjadi pribadi yang lebih baik atas pelajaran-pelajaran yang didapat. Makasih ya ayuk kalian baik sekali ♡.
13. M. Rifki Rido yang telah menemaniku disaat sedih dan senang. Sabar dalam menghadapi segala sikap aku yang menyebalkan. Terima kasih sudah menjadi orang yang berarti dalam hidup aku selama tugas akhir berlangsung sampai dengan sekarang, menjadi penyemangat dan selalu ada. Pokoknya aku akan selalu mendukung semua kegiatan yang positif buat kebaikan kamu. Semua yang kita lewatin sama-sama tidak akan aku lupa dan pasti jadi kenangan yang indah yaa. Jangan pernah lelah ya menghadapi aku dan buat kedepannya semoga cita-cita yang baik-baik tercapai yaa. Happy terus yaa, kurang-kurangin nakalnyaa biww. See you soon bibiw, love you ♡♡
14. Annisa Amelia (Cibe) sahabatku yang baik hati yang bersedia menemaniku disaat aku sedih dan senang. Makasih banyak ya cibe aku bahagia banget punya cibe sebagai sahabat aku. Aku percaya banget cibe orang yang hebat dan bisa menghadapi semuanya. Semua kenangan kita sangat berarti, sedih banget kita bakalan jauh tapi yang aku pastiin cibe selalu dihati. Inget ya kita punya goals apa, cibe jangan lupain aku yaaa. Maafin aku ya cib kalo aku punya salah pasti banyak banget salahnya. Aku sekali lagi berterima

kasih sama cibe, jaga diri baik baik ya cibe harus bisa mandiri okee. Kita pasti bisaa cibb. Love you banget deh pokoknyaaaa ♡.

15. Sahabat-sahabatku di Tangerang Desti. Viani dan Tania yang selalu mendegarkanku keluh kesah walaupun kita jauh. Terima kasih ya kalian semua sudah menemaniku dengan semua kekuranganku. Nanti kita main bareng lagi yaa. Maafin aku ya kalo aku banyak salah sama kalian. Jangan lupain aku yaaa. Aku seneng banget berteman sama kalian. Teruntuk desti maafin ya kalo selama ini cuekkin desti, tapi aku punya alesan kok buat semuanya tapi tenang aja Desti tetep punya tempat spesial di hati aku kok. Love youu ♡.
16. Permata dan Defi teman seteam ku, terimakasih ya kalian udah nemenin aku selama ini, makasih atas kerja keras kalian kita bisa menyelesaikan penelitian ini, terimakasih sudah memberikan pengalaman yang sangat berarti ngelakuin hal-hal bodoh sama sama. Walaupun kita suka berantem tapi kalian punya tempat tersendiri di hati aku. Maafin aku ya kalo banyak salah bener-bener minta maaf banget. Pokoknya aku tunggu kesuksesan kita. See u on top Guys. Lovee.
17. Teman-teman bajaj ku (Ramdan, Jefri, Obi dan Ilham) terimakasih yaa, udah sabar ngadepin orang kaya aku gini wkwk, pokoknya makasih udah bantu dan jadi temen sepernasaban disini. Pokoknya beruntung punya kalian, jangan lupain ya aku ya kalian!
18. Teman-teman kimia ku (Mela, Nafa, kak Fatmawati, Enggi) yang baik dan selalu membantu, kalian semoga dibalas kebaikannya aminnnn!!.
19. Adik- adik tingkatku (Aulia, Afifah, Imam, Ghafar dan Ghifar) yang telah memberikan semangat, kalian semangat terus juga ya pasti bisa lulus dari kimia, bismillah aja ya kalian. Buat Imam makasih ya udah sempet pernah ngenalin ama orang gajelas ☺, tapi yaudah gapapa dimaafin. Pokoknya makasih banyakakk guyss.
20. Temen temen kimia 2017 terimakasih ya kalian udah jadi pengalaman aku yang baik maupun yang buruk.
21. Semua anak kimia baik yang disebutkan maupun tidak. Terimakasih Banyak. Byeee.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>x</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xviii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Zat Warna Sintetis .....	4
2.1.1 Zat Warna Azo.....	5
2.1.2 Metil Merah .....	5
2.2 Enzim .....	6
2.2.1 Kinetika Enzim .....	7
2.2.2 Aktivitas Enzim .....	9
2.2.3 Aktivitas Spesifik Enzim .....	11
2.3 Enzim Azoreduktase.....	11
2.4 Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	12
2.5 Ekstraksi Enzim.....	13

2.6	Fraksinasi.....	14
2.7	Dialisis.....	15
2.8	Spektrofotometer UV-Vis .....	15
<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN .....</b>		<b>17</b>
3.1	Waktu dan Tempat .....	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 .....	17
3.3.2.1	Medium Nutrient Agar (NA).....	17
3.3.2.2	Medium Nutrient Broth (NB) .....	18
3.3.3	Produksi Enzim.....	18
3.3.2.4	Penyiapan Inokulum Bakteri .....	18
3.3.2.5	Kulturisasi Bakteri .....	18
3.3.2.6	Ekstraksi Enzim Ekstraseluler.....	18
3.3.4	Penentuan Kadar Protein dengan metoda Biuret .....	18
3.3.4.1	Pembuatan Kurva Standar BSA <i>(Bovin Serum Albumin)</i> .....	18
3.3.4.2	Analisis Kadar Protein dengan metoda Biuret	19
3.3.5	Persiapan Substrat Metil Merah .....	19
3.3.5.1	Pembuatan Larutan Metil Merah 50 $\mu$ M .....	19
3.3.5.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Metil Merah.....	19
3.3.6	Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase dengan Metode Zimmerman .....	19
3.3.7	Fraksinasi Ammonium Sulfat.....	20
3.3.8	Dialisis .....	20
3.3.9	Penentuan Kondisi Optimum Enzim Azoreduktase .....	20
3.3.9.1	Waktu Inkubasi.....	20
3.3.9.2	Pengaruh Suhu.....	21
3.3.9.3	Pengaruh pH .....	21
3.3.9.4	Pengaruh Konsentrasi Substrat.....	21

3.3.10 Analisis Data.....	21
3.3.10.1 Penentuan Kadar Protein .....	21
3.3.10.2 Aktivitas Enzim .....	22
3.3.10.3 Aktivitas Spesifik Enzim.....	22
3.3.10.4 Penentuan $K_m$ dan $V_{maks}$ .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1 Ekstrak Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	23
4.2 Fraksinasi Ammonium Sulfat.....	24
4.3 Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	25
4.3.1 Waktu Inkubasi Optimum Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> . ....	25
4.3.2 pH Optimum Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	26
4.3.2 Suhu Optimum Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	27
4.3.3 Konsentrasi Substrat Optimum Azoreduktase dari Bakteri <i>Pseudomonas Stutzeri</i> .....	28
4.3.4 Nilai $K_m$ dan $V_{maks}$ .....	29
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
5.1 Kesimpulan.....	31
5.2 Saran .....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>38</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Struktur Metil merah.....	6
Gambar 2.2.	Grafik Kinetika Enzim menurut Persamaan Michaelis-Menten....	8
Gambar 2.3.	Grafik Kinetika Enzim menurut Persamaan <i>Lineweaver-Burk</i> .....	9
Gambar 2.4.	Grafik Aktivitas Enzim terhadap Temperatur.....	9
Gambar 2.5.	Grafik Aktivitas Enzim terhadap pH.....	10
Gambar 2.6.	Grafik Aktivits Enzim terhadap Konsentrasi Subsrat.....	10
Gambar 2.7.	Grafik Aktivitas Enzim terhadap Konsentrasi Enzim.....	11
Gambar 2.8.	Gambar Mekanisme Reduksi Enzim Azoreduktase terhadap Ikatan Azo.....	12
Gambar 2.9.	Bakteri <i>Pseudomonas stutzeri</i> .....	13
Gambar 4.1.	Ekstrak kasar enzim azoreduktase dari bakteri <i>P. Stutzeri</i> .....	23
Gambar 4.2.	Dialisis fraksi ammonium sulfat azoreduktase.....	24
Gambar 4.3.	Grafik waktu inkubasi optimum aktivitas enzim azoreduktase.....	25
Gambar 4.4.	Grafik pH opimum aktivitas enzim azoreduktase.....	26
Gambar 4.5.	Grafik suhu optimum aktivitas enzim azoreduktase.....	27
Gambar 4.6.	Grafik konsentrasi substrat optimum aktivitas enzim azoreduktase.....	28
Gambar 4.7.	Kurva nilai $K_m$ dan $V_{maks}$ pada persamaan <i>Lineweaver-Burk</i> .....	29

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim azoreduktase ekstrak kasar setelah difraksinasi.....	24
--	----

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1.	Pembuatan Buffer fosfat.....	38
Lampiran 2.	Pembuatan Larutan BSA (Bovine Serum Albumin).....	39
Lampiran 3.	Pembuatan Reagen Biuret.....	40
Lampiran 4.	Skema kerja.....	41
Lampiran 5.	Kurva kalibrasi standar larutan BSA ( <i>Bovin Serum Albumin</i> )....	42
Lampiran 6.	Ammonium sulfat yang digunakan untuk fraksinasi .....	44
Lampiran 7.	Perhitungan kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik Enzim .....	46
Lampiran 8.	Kondisi optimum aktivitas enzim azoreduktase.....	53
Lampiran 9.	Kinetika Enzim $V_{maks}$ dan $K_m$ .....	60
Lampiran 10,	Gambar.....	61

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Zat warna tekstil merupakan salah satu pencemar organik yang bersifat *non biodegradable*. Zat warna tekstil umumnya dibuat dari senyawa azo. Senyawa azo bila terlalu lama berada di lingkungan, akan menjadi sumber penyakit karena sifatnya karsinogenik dan mutagenik (Atikah, 2016). Zat warna azo mempunyai karakteristik utama yaitu terdapat gugus nitrogen yang berikatan ganda dengan nitrogen, dikenal sebagai rantai azo (- N = N -), pada satu jenis zat warna terdiri dari satu atau lebih rantai azo (Komala dkk, 2007). Metil merah salah satu senyawa zat warna azo yang sering digunakan. Metil merah mempunyai sistem kromofor gugus azo (-N=N-) yang berikatan dengan gugus aromatik (Widjajanti dkk, 2011). Metil merah adalah pewarna azo khas, yang mengandung ikatan monoazo, tidak memiliki gugus asulfonat, dan diklasifikasikan sebagai mutagenik terhadap lingkungan (Sari and Simarani, 2019).

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam proses biodekolorisasi menurut Chacko dan Subramaniam (2011) adalah biodekolorisasi pewarna dengan pemutusan ikatan azo yang dilakukan oleh enzim azoreduktase. Perubahan struktur kimia akibat adanya pemutusan ikatan azo secara visual dapat dilihat dari pemudaran atau penurunan kepekatan warna (Vijaya *et al.*, 2012). Biodekolorisasi merupakan cara yang paling sering digunakan untuk pendegradasi zat warna azo karena cara kerjanya yang simpel dan tidak memakan biaya terlalu mahal (Adyasari dan Effendi, 2010).

Mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan ragi dapat menghilangkan warna dari pewarna azo dengan proses biodegradasi yang melibatkan dekolorisasi. Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling sering digunakan sebagai agen biodekolorisasi karena pertumbuhannya yang cepat, mudah beradaptasi pada suhu dan salinitas yang ekstrim, dan mudah dikultivasi. Selain itu, keberadaannya dalam limbah juga banyak (Permatasari dkk, 2018). Populasi mikroba yang membentuk bagian dari sistem pengolahan harus dapat bekerja secara efisien baik dalam kondisi anaerobik maupun aerobik (Tripathi and Srivastava, 2011). Safely (2019)

menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas stutzeri* mampu melakukan proses biodekolorisasi terhadap limbah zat warna *congo red* dari industri kecil dengan sebesar 82,70% pada kondisi optimum bakteri.

Azoreduktase adalah enzim penentu yang bertanggung jawab atas degradasi pewarna azo reduktif pada bakteri. Degradasi pewarna azo oleh mikroba biasanya dimulai dengan reduksi ikatan azo oleh enzim azoreduktase yang bergantung pada NADH atau NADPH yang berperan sebagai kofaktor. Pewarna azo dimetabolisme oleh bakteri menjadi amina aromatik tak berwarna. Amina yang dihasilkan selanjutnya terdegradasi secara aerob oleh bakteri (Saranraj *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian diatas pada penelitian ini digunakan pewarna metil merah sebagai subsrat untuk melihat adanya aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler. Parameter yang digunakan untuk menentukan kondisi optimum pada aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Pseudomonas stutzeri* meliputi waktu inkubasi, pH, suhu, konsentrasi substrat dan ditentukan nilai  $V_{maks}$  dan  $K_m$ .

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Safely (2019) bahwa bakteri *P. stutzeri* memiliki kemampuan dalam mendegradasi zat warna azo. Hal ini diduga bakteri menghasilkan enzim azoreduktase Namun, belum diketahui:

1. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler yang dihasilkan dari isolat bakteri *P. stutzeri* ?
2. Bagaimana cara memisahkan protein enzim azoreduktase dari ekstrak kasar enzim azoreduktase?
3. Bagaimana kondisi optimum enzim azoreduktase pada bakteri *P. stutzeri* yang meliputi waktu inkubasi, pH, suhu dan konsentrasi substrat ?
4. Bagaimana nilai  $V_{maks}$  dan  $K_m$  azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. Stutzeri* ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menguji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. stutzeri*.
2. Mendapatkan fraksi enzim azoreduktase dengan cara fraksinasi amonium sulfat.
3. Menentukan kondisi optimum kerja enzim azoreduktase meliputi pH, waktu, temperatur, dan konsentrasi subsrat.
4. Menentukan nilai  $V_{maks}$  dan  $K_m$  azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. stutzeri*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini :

1. Mendapatkan informasi aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *P. stutzeri*.
2. Mendapatkan sumber enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *P. stutzeri*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam dan Shovitri, M. 2014. Pengaruh Waktu dan pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Keratinase dari Isolat *Bacillus* SLII-I. *ITS PAPER*. 1(1): 1-5.
- Adyasari, D dan Effendi, A. J. 2010, Pengaruh Perubahan Konsentrasi Ko-Substrat Terhadap Populasi Mikroorganisme Pemutus Zat Warna Azo di Bioreaktor Membran the Effect of Co-Substrate Concentration on Microbial Population in Membrane Bioreactor. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 16(1): 72-81.
- Agustina, T. E dan Amir, M. 2012. Pengaruh Temperatur Dan Waktu Pada Pengolahan Pewarna Sintetis Procion Menggunakan Reagen Fenton. *Jurnal Teknik Kimia*. 18(3): 54-61.
- Alam, M. S., Sarjono, P. R dan Aminin, A. L. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*. 21(2): 48-53.
- Atikah. 2016. Penurunan Kadar Fenol Dalam Limbah Cair Industri Tenun Songket Dengan Proses Elektrokoagulasi. *Jurnal Redoks*. 1(2): 1-6.
- Benkhaya, S., Rabet, M. S and Harfi E. A. 2020, A Review On Classifications, Recent Synthesis And Applications Of Textile Dyes. *Inorg Chem Commun*. 115(1): 1–35.
- Bentubo, H. D. L and Gompertz, O. F., 2014. Effect of Temperature and Incubation Time on Thein Vitroexpression of Proteases, phospholipases, lipases and Dnases by Different Spesies of Trichosporon. *Springer Plus*, 3, pp. 377.
- Blanco, A and Blanco, G. 2017. Enzymes Medical Biochemistry. Academic Press: London. 153–175.
- Chacko, J. T and Subramiam, K. 2011. Enzymatic Degredation of Azo Dyes-A Review. *International Journal of Environmental Sciences*. 1(6): 1250-1260,
- Cahyani, P., Wijanarka dan Raharjo, B. 2017. Aktivitas Spesifik Selulase Serritia marcescens dengan Variasi Konsentrasi Ammonium Sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) dan pH. *Jurnal Biologi*. 6(2): 41-49.
- Chen, H. 2006. Recent Advances in Azo Dye Degrading Enzyme Research. *HHS Public Access Author manuscript Curr Protein Pept Sci*. 7(2): 101-111.
- Clark, J. M and Switzer, R. 1977. *Experimental Biochemistry*. San Francisco: W.H. Freeman and Company.
- Djarkasi, S., Raharjo, S dan Noor, Z. 2017. Isolasi Dan Akitivitas Spesifik Enzim Lipase Indigenous Biji Kenari Isolation And Specific Activity of Indigenous Lipase Enzyme in Canarium Nut G.S. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(1): 28-35.

- Ebrahimi H. R. and Modrek. M. 2013. Photocatalytic Decomposition of Methyl Red Dye by Using Nanosized Zinc Oxide Deposited on Glass Beads in Various pH and Various Atmosphere. *Journal of Chemistry*. 1(1): 1-5.
- Haedar, N. Fahrudin. Abdullah, A. Syam, N.A dan Talessang, N. H. 2019. Dekolorisasi dan Degradasi Limbah Zat Warna Naftol oleh Jamur dari Limbah Industri Batik. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 10(2): 1-8.
- Hardinoto, S dan Syukroni, I. 2019. Pengukuran Protein Terlarut Air Cucian Gelembung Renang dan Kulit Ikan Tuna Menggunakan Metode Bradford. *Majalah BIAM*. 15(1): 15-20,
- Irawan, A. 2019. Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1(2): 1-9.
- Irawati, R. 2016. Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh *Bacillus Circulans*. *Skripsi*: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Isnaini, N dan Ihsan, M. N. 2011. Profil Protein Hipofisa Sapi Perah Peranakan Fries Holland (Pfh) Betina Fase Folikuler dan Lutea. *Jurnal Ternak Tropika*. 12(1): 1-9.
- Jannah, F., Rezagama, A dan Arianto, F. 2017. Pengolahan Zat Warna Turunan Azo Dengan Metode Fenton ( $Fe^{2+} + H_2O_2$ ) dan Ozonasi ( $O_3$ ). *Jurnal Teknik Lingkungan*. 6(3): 1-11.
- Javaid, R and Qazi U. Y. 2019. Catalytic Oxidation Process for the Degradation of Synthetic Dyes: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 16(2066): 1-27.
- Komala, P. S., Wisjnuprapto dan Wenten, I. G. 2007. Pengolahan Zat Warna Azo Menggunakan Bioreaktor Membran Konsekuatif Aerob-Anaerob. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses*: 1411 – 4216.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W dan Wijaya, I. M. W. 2019. Optimasi Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase menggunakan Response Surface Methodology (Rsm). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(2): 243-253.
- Leelakriangsak, M and Borisut, S. 2012. Characterization of the decolorizing activity of azo dyes by *Bacillus subtilis* azoreductase AzoR1. *Journal Science Technology*. 34(5): 509-516.
- Mani, A and Hameed, S. A. S. 2016. Accelerated Production of Oxygen-Insensitive Azoreductase from Mutant *Pseudomonas* Species for Degradation Azo Dyes under Aerobic Condition. *Asian Journal of Chemistry*. 28(11): 2562-2570,

- Mardawati, E., Harahap, B.M., Robi, A., Wulandari,N dan Rahmah, D. M. 2019. Proses Karakterisasi Produk dan Pemodelan Kinetika Enzimatik Alfa-Amilase Pada Produksi Sirup Glukosa dari Pati Jagung (*Zea Mays*). *Jurnal Industri Pertanian*. 1(1): 11-20,
- Mayasari. 2016. Pemurnian Enzim Amilase Kasar Dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat. *Skripsi*: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mendes, S., Pereira, L and Batista, C. 2011. Molecular determinants of Azo Reduction Activity in The Strain *Pseudomonas putida* MET94. Portugal: Springer Appl Microbiol Biotechnol.
- Misal, S. A and Gawai, K. R. 2018. Azoreductase: a key player of Xenobiotic Metabolism. *Springer Bioresources and Bioprocessing*. 5(17): 1-9.
- Misal, S. A and Lingojwar, D. P. 2013. *Properties of NAD (P) H Azoreductase from Alkaliphilic Bacteria Aquiflexum sp. DL6*. India : Springer University of Pune.
- Naimah, S., Ardhanie, S., Jati, B. N., Aidha, N dan Arianita, A.C. 2014. Degradasi Zat Warna pada Limbah Cair Industri Tekstil dengan Metode Fotokatalitik menggunakan Nanokomposit TiO<sub>2</sub> – Zeolit. *Jurnal Kimia Kemasan*. 36(1): 225-236.
- Nopiani., Yandri. A.S dan Hadi, S. 2016. Peningkatn Kestabilan Enzim Lipase dari*Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853 dengan Amobilisasi Menggunakan Bentonit. *Jurnal Analis Kesehatan*. 5(1): 504-510,
- Oh, A. E., Hassan, S. H. A and Joo, J. H. 2009. Biosorption of heavy metals by lyophilized cells of *Pseudomonas stutzeri*. *World Journal Microbiol Biotechnol*. 25(1): 1771–1778.
- Pandey, A. K and Dubey, V. 2012. Biodegradation of Azo Dye Reactive Red BL by Alcaligene Sp. AA09. *International Journal of Engineering and Science*. 1(12): 54-60,
- Permatasari, I., Nugroho, A dan Meitiniarti, V. I. 2018. Dekolorisasi Pewarna Tekstil Sumifix Blue Dan Reactive Red 2 Oleh Mikroba Yang Diisolasi Dari Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Bioteknol Biosains Indonesia*. 5(1): 20-26.
- Prastika, E. Z. 2018. Pengaruh Konsentrasi Subsrat dan Lama Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Protease yang Diproduksi oleh *Bacillus subtilis*. *Skripsi*: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Purwanti A. C. 2015. Pengaruh Suhu dan ph terhadap Aktivitas Enzim Xilanase dari *Trichoderma viride* yang ditumbuhkan pada Media Tongkol Jagung. *Skripsi*: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Punj, S and John, G. H. 2008. Purification and Identification of an FMN-dependent NAD(P)H Azoreductase from *Enterococcus faecalis*. *Curent Issues in Molecular Biology*. 11(1): 59-66.
- Risma, M. D. 2012. Isolasi Dan Karakterisasi Enzim A-Glukosidase Dari Beras Lapuk (*Oryza sativa*). *Skripsi*: Universitas Indonesia.
- Rohishoh, N. 2012. Produksi dan Pemurnian Enzim Pektinase (Poligalakturonase) dari Bakteri *Pseudomonas Stutzeri*. *Skripsi*: Universitas Airlangga.
- Rosyida, A dan Zulfiya, A. 2013. Pewarnaan Bahan Tekstil dengan Menggunakan Ekstrak Kayu Nangka dan Teknik Pewarnaannya untuk Mendapatkan Hasil yang Optimal. *Jurnal Rekayasa Proses*. 7(2): 52-58.
- Safely, V. A. 2019. Dekolorisasi Zat Warna Congo Red Dan Limbah Zat Warna Industri Tekstil Menggunakan *Pseudomonas Stutzeri*. *Skripsi*: Universitas Sriwijaya.
- Saranraj, P., Stella, D and Sivasakthivelan, P. 2014. Separation, purification and characterization of dye degrading enzyme azoreductase from bacterial isolates. *Scholars Research Library Central European Journal of Experimental Biology*. 3(2): 19-25.
- Sari, I. P and Simarani, K. 2019. Decolorization Of Selected Azo Dye by Lysinibacillus Fusiformis W1B6: Biodegradation Optimization, Isotherm, and Kinetic Study Biosorption Mechanism. *Adsorption Science & Technology*. 1(1): 1-17.
- Sarkar, P., Fakhruddin, A. M. N., Pramanik, M. D. K and Al-mahin, A. 2011. Decolorization of Methyl Red by *Staphylococcus Arlettae* PF4 Isolated from Garden Soil. *International Journal of Environment*. 1(1): 34-39.
- Saropah, D. A., Jannah, A dan Manuatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*. 2(1): 34-45.
- Shah, M. P., Patel, K. A and Darji, A. M. 2013. Microbial Decolorization of Reactive Black by *Pseudomonas stutzeri* ETL-79. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 1(2): 47-42.
- Sharma, N., Tiwari, D.P and Singh, S. K. 2012. Decolourisation of Synthetic Dyes by Agricultural Waste A Review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 3(2): 1-10,
- Sholihati, A.M., Baharuddin, M dan Santi. 2016. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Al-Kimia*. 1(3): 78-90,
- Siddiqui, H. N., Karkun, D. A and Jangir, S. 2015. Research Article 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*. 3(6): 541-557.

- Siregar, A. H. 2016. Pembuatan Zat Warna Alam Dari Tumbuhan Berasal Dari Daun. *Bina Teknika*. 12(1): 103-110,
- Su'i, M dan Suprihana. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase Dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out. *Agritech*. 33(4): 377-383.
- Suhito, I. R. 2016. Ekstraksi, Purifikasi dan Karakterisasi Alkalin Protease Dari Limbah Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Skripsi*: Universitas Surabaya.
- Susanti, R dan Fibriana, F. 2007. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: CV Andi OFFSET.
- Tripathi, A and Srivastava, S.K. 2011. Ecofriendly Treatment of Azo Dyes: Biodecolorization using Bacterial Strains. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 1(1): 37-40,
- Verma, K., Saha, G., Kundu, L. M and Dubey, V. K. 2018. Biochemical Characterization of a Stable Azoreductase Enzyme from *Chromobacterium violaceum*: Application in industrial effluent dye degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 121(2019): 1011-1018.
- Vijaya, P. P., Aishwaryalaksmi, R., Yogananth, N and Ali, M. S. 2012. Isolation, Purification and Characterization of Oxygen Insensitive Azoreductase from *Pseudomonas aeruginosa* and Biodegradation of Azo Dye - Methyl Red. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*. 3(4): 285-289.
- Warono, D dan Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Konversi*. 2(2): 57-65.
- Widjajanti, E., Tutik, P. R dan Utomo, M.P. 2011. Pola Adsorpsi Zeolit Terhadap Pewarna Azo Metil Merah Dan Metil Jingga. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*: 1-6.
- Wuryanti. 2004. Isolasi dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comusus L.*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 7(3): 78-82.
- Yohan dkk. 2018. Pembuatan Spektrofotometer Edukasi Untuk Analisis Senyawa Pewarna Makanan. *Chimica et Natura*. 6(3): 111-115.
- Yoga, I. B. K. W. 2015. Penentuan Konsentrasi Optimum Kurva Standar Antioksidan; Asam Galat, Asam Askorbat dan Trolox terhadap Radikal Bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0,1 mM. *Proceedings Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA V*: 316-321.
- Yu *et al.* 2011. Complete Genome Sequence of the Nitrogen-Fixing and Rhizosphere Associated Bacterium *Pseudomonas stutzeri* Strain DSM4166. *Journal of Bacteriology*. 193(13): 3422–3423.

Zahran, S. A., Tammam, M. A., Hashem, A. M., Aziz, R. K and Ali, A. E. 2019.  
Azoreductase Activity of Dyedecolorizing Bacteria Isolated From the Human  
Gut Microbiota. *Scientific Reports*. 9: 5508.