

**UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER
DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01**

SKRIPSI



Oleh:

PERMATA SETYAWATI

08031381722073

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

2021

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER
DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01**

SKRIPSI

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

Oleh:

PERMATA SETYAWATI

08031381722073

Indralaya, 17 Januari 2022

Pembimbing I



Dra. Julinar, M.Si.

NIP. 196903041994122001

Pembimbing II



Dr. Heni Yohandini Kusumawati M.Si

NIP. 197012041998022001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Hermansyah, 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 *Bacillus tropicus* BD 01” telah diseminarkan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 29 Desember 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Inderalaya, 17 Januari 2022


Ketua:

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

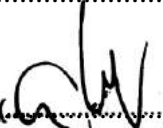
(
.....)

Anggota:


1. Dr. Heni Yohandini Kusumawati M.Si
NIP. 197012041998022001

(
.....)

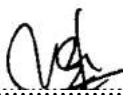
2. Dra. Fatma, M.S.
NIP. 196207131991022001

(
.....)

3. Dr. Miksusanti, M.Si.
NIP. 196807231992032003

(
.....)


4. Dr. Muhammad Said, M.T
NIP. 197407212001121001

(
.....)

Mengetahui,

Dekan FMIPA

Herniansyah, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197111191997021001

Ketua Jurusan Kimia

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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Permata Setyawati

NIM : 08031381722073

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 nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 17 Januari 2022

Penulis,



Permata Setyawati

Nim. 08031381722073

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

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

Nama Mahasiswa : Permata Setyawati

NIM : 08031381722073

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 *Bacillus tropicuss* BD 01”. Dengan hak bebas royalti non-eksklusive 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, 17 Januari 2022

Yang menyatakan



Permata Setyawati

Nim. 08031381722073

LEMBAR PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmaanirrahiimm...

“Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: “Berlapang-lapanglah dalam majelis”, maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu.

Dan apabila dikatakan: “Berdirilah kamu”, maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan.” (QS. Al-Maidah: 11).

“Saudaraku, Janganlah engkau putus asa, karena putus asa bukanlah akhlak seorang muslim. Ketahuilah bahwa kenyataan hari ini adalah mimpi hari kemarin, dan impian hari ini adalah kenyataan di hari esok.” (Syahid Hasan Al-Banna) Ingatlah dimanapun kita berada dan dalam keadaan atau kondisi apapun tetaplah untuk senantiasa mengingat Allah SWT, juga ditanamkan dalam hati kita untuk selalu menebar kebikan

Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada:

- Allah SWT
- Nabi Muhammad SAW

Dan kupersembahkan kepada:

- Mamah, Papah Kakak-kakak dan juga keponakan saya tercinta yang selalu mendoakan dan memberikan semangat serta dukungan
- Seluruh keluarga besar
- Pembimbing tugas akhir penelitian skripsi Ibu Dra. Julinar, M.Si dan Ibu Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si.
- Seluruh dosen FMIPA Universitas Sriwijaya
- Almamater Universitas Sriwijaya

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanyalah milik Allah SWT, kita memujinya, memohon ampunan dan meminta pertolongan kepada-Nya dan pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas 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.

Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai rintangan, mulai dari pengumpulan literatur, penelitian, pengumpulan data dan sampai pada pengolahan data maupun dalam tahap penulisan. Namun dengan kesabaran dan ketekunan yang dilandasi dengan rasa tanggung jawab selaku mahasiswa dan juga bantuan dari berbagai pihak, baik material maupun moril, akhirnya selesai sudah penulisan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Dra. Julinar, M.Si** dan Ibu **Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si** yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan, motivasi, saran dan petunjuk kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan nikmat-Nya yang begitu besar, rasa syukur ku panjatkan atas seluruh karunia-Nya.
2. Bapak Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Prof. Dr. Muharni, 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 Dr. Nirwan Syarif, M.Si. selaku dosen Pembimbing Akademik.
6. Ibu Dra. Fatma, MS., Ibu Dr. Miksusanti, M.Si dan Bapak Dr. Muhammad Said, M.T. selaku pembahas dan penguji sidang sarjana.

7. Seluruh Dosen FMIPA Kimia Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu, mendidik dan membimbing selama masa kuliah.
8. Mamah dan Papah tercinta yang selalu memberikan cinta kasih, dukungan serta do'a dan juga kakak saya yang terbaik Soraya bunga larasati dan kak reza yang banyak memberikan dukungan dan kasih sayang, serta keponakan saya tersayang Kirana Senja Jingga yang banyak memberikan semangat dalam proses pembuatan skripsi ini (sayangnya skripsi ini gabolet pake emot, intinya saya sayang sekali).
9. Kakak-kakak saya di Pakjo, kak Imam, kak Bowo, mbak Orin, mbak Gita dan mbak Manda yang selalu baik dan membantu saya.
10. Sahabat saya dari maba Firda, Vera dan Farah yang setia tetap mau menemani saya apapun yang terjadi dan menjadi tempat berkeluh kesah terbaik dan tidak pernah pergi sampai hari ini.
11. Sahabat saya dari SMA Dea dan Yunita, terimakasih atas support dan waktu kalian meski kita LDR, terimakasih untuk selalu mau berteman dengan saya, dan juga Nabila dan juga Maria semoga kalian sukses selalu.
12. Teman seperjuangan Tugas Akhir saya, kalian keren gais, untuk Zuhro dan Defi, terimakasih untuk hari-hari penuh warna di penghujung masa kuliah kita, terimakasih semua kebaikan dan pertemanan ini semoga selalu terjalin selalu. Semoga selalu terkenang perjuangan kita sampai kapanpun, semoga kalian bahagia selalu tetaplah semangat apapun yang akan terjadi.
13. Geng BGMIPA saya especially Putri, Nabila, Nimyo dan Arcella serta anggota lain yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Kalian baik banget semua sama saya, semoga allah membalas semua kebaikan kalian, dan kebahagiaan menyertai kalian.
14. Teman saya yang baik yang mungkin beberapa kali saya repotkan selama proses kuliah ini Anissa, Dian, Shely dan Melsy semoga allah membalas kebaikan kalian

15. Teman saya Ramdan, Dely, Putra, Handika dan Ricky terimakasih telah mau direpotkan segala macam hal selama proses dari saya kuliah hingga menyelesaikan tugas akhir.
16. Kakak biokimia saya Kak Virly, Kak Rani, Kak Andrian, Kak Getari dan juga Kak Luvita yang selama ini ikhlas berbagi bahan, ilmu dan literatur penelitian dengan saya.
17. Teman saya ajriya dan raffi, terimakasih sudah banyak kebaikan dengan saya semasa saya kuliah, banyak memberi saran kepada saya semoga kalian bahagia selalu.
18. Seluruh teman-teman seperjuangan saya Chemistry 17 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Bahagia rasanya pernah menjadi bagian dari kalian melewati banyak hari-hari susah senang semasa kuliah, semoga kita senantiasa sukses di masa depan aamiin allahuma aamiin.
19. KM Himaki angkatan 2014,2015, 2016, 2018, dan 2019 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
20. Orang-orang yang cukup banyak datang dan pergi yang saya juga sudah lupa-lupa namanya, yang ig atau wa nya mungkin sekarang sudah saya block, terimakasih beberapa dari kalian juga pernah ada baiknya kok semasa saya kuliah cuma mungkin bukan saya orangnya.
21. Untuk Faisal, Terimakasih ya, banyak kebaikan kamu, banyak juga perjuangan kita yang sudah kita lewatkan susah dan sedih untuk bisa sampai di hari ini. Terimakasih karena kamu, saya menjadi lebih dewasa dan lebih baik sekarang. Apapun yang terjadi sekarang dan kedepannya semoga hal baik selalu menyertai kita dan hubungan kita tetap terjalin baik.

ABSTRACT

EXTRACELLULAR AZOREDUCTASE ACTIVITY TEST FROM *Bacillus tropicus* BD 01 BACTERIA

Permata Setyawati: Supervised by Dra. Julinar, M.Si and Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si.

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

vii + 62 pages, 1 tables, 12 pictures, 8 attachment

Research on the activity of extracellular azoreductase enzymes from *Bacillus tropicuss* BD 01 has been carried out. Extract of azoreductase enzyme from bacteria *B. tropicuss* BD 01 was produced by centrifugation process of bacterial liquid culture at 3000 rpm and 4°C. The crude extract of the enzyme was then fractionated with ammonium sulfate and dialyzed. The results of the enzyme fraction with the highest specific activity were used to determine the optimum conditions for the extracellular azoreductase enzyme from *B. tropicus* BD 01 bacteria with variations in incubation time, pH, incubation temperature and substrate concentration. Enzyme activity assay was determined using the UV-Vis spectrophotometry method. The enzyme fraction with the highest specific activity was produced in fraction 3 at 40-60% ammonium sulfate saturation with a specific enzyme activity value of 0.00013 mg/mL, an enzyme activity of 0.0254 U/mL, and a protein content of 18.4 U/mg. Optimum conditions The highest azoreductase enzyme activity was at an incubation time of 5 minutes, pH 7, temperature 37°C and substrate concentration of 70 M with an enzyme activity value of 0.1303 U/mL. The extracellular azoreductase enzyme kinetics test from *B. tropicus* BD 01 bacteria against methyl red dye resulted in a V_{\max} value of 0.1526 U/mg and a K_m value of 11.0745 M.

Keywords: Enzyme azoreductase, *Bacillus tropicus* BD 01, Methyl red, Enzyme activity

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Bacillus tropicus* BD 01

Permata Setyawati: Dibimbing oleh Dra. Julinar, M.Si dan Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si.

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

vii + 62 halaman, 1 tabel, 12 gambar, 8 lampiran

Penelitian uji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Bacillus tropicuss* BD 01 telah dilakukan. Ekstrak enzim azoreduktase dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 dihasilkan dengan proses sentrifugasi kultur cair bakteri pada 3000 rpm dan 4°C. Ekstrak kasar enzim selanjutnya difraksinasi dengan ammonium sulfat dan didialisis. Hasil fraksi enzim dengan aktivitas spesifik tertinggi digunakan untuk penentuan kondisi optimum enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *B. tropicus* BD 01 dengan variasi waktu inkubasi, pH, suhu inkubasi dan konsentrasi substrat. Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis. Frkasi enzim dengan aktivitas spesifik tertinggi dihasilkan pada fraksi 3 di kejenuhan ammonium sulfat 40-60% dengan nilai aktivitas spesifik enzim sebesar 0.00013 mg/mL, aktivitas enzim sebesar 0.0254 U/mL, dan kadar protein sebesar 18,4 U/mg. Kondisi optimum Aktivitas enzim azoreduktase tertinggi pada waktu inkubasi 5 menit, pH 7, suhu 37 °C dan konsentrasi substrat 70 µM dengan nilai aktivitas enzim 0,1303 U/mL. Uji kinetika enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *B. tropicus* BD 01 terhadap zat warna metil merah menghasilkan Nilai V_{max} sebesar 0,1526 U/mg dan nilai K_m sebesar 11,0745 µM

Kata kunci : Azoreduktase, *Bacillus tropicus* BD 01, Metil merah, Aktivitas Enzim

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
ABSTRAK	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
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
2.1.1 Definisi Enzim	4
2.1.2 Aktivitas Enzim	5
2.1.3 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	6
2.1.3.1 Potensial Hidrogen (pH).....	6
2.1.3.2 Temperatur.....	7
2.1.3.3 Konsentrasi Substrat	8
2.2 Isolasi Enzim	10
2.2.1 Fraksinasi Amonium Sulfat	11
2.2.2 Dialisis	12
2.3 Enzim Azoreduktase.....	13

2.4	Zat Warna Azo	16
2.5	<i>Bacillus tropicuss</i> BD 01.....	18
2.6	Metode Spektrofotometer UV-Vis	18
BAB III METODELOGI PENELITIAN.....		17
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	18
	3.3.3 Produksi Enzim.....	18
	3.3.4 Penentuan Kadar Protein dengan metoda Biuret	19
	3.3.5 Persiapan Substrat Metil Merah	19
	3.3.6 Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase pada Zat Warna Metil Merah	20
	3.3.7 Frasinasi Ammonium Sulfat.....	20
	3.3.8 Dialisis	20
	3.3.9 Penentuan Kondisi Optimum Enzim Azoreduktase	21
	3.3.9.1 Waktu Inkubasi.....	21
	3.3.9.2 Pengaruh Suhu	21
	3.3.9.3 Pengaruh pH	21
	3.3.9.4 Pengaruh Konsentrasi Substrat	21
	3.9.10 Analisis Data.....	22
	3.9.10.1 Penentuan Kadar Protein	22
	3.9.10.2 Aktivitas Enzim Azoreduktase	22
	3.9.10.3 Aktivitas Spesifik Enzim	22
	3.9.10.4 Penentuan Nilai K_m dan V_{max}	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		24

4.1	Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri <i>Bacillus tropicuss</i> BD 01	24
4.2	Fraksi – Fraksi Ammonium Sulfat	25
4.3	Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler pada Bakteri <i>Bacillus tropicus</i> BD 01	26
4.3.1	Variasi Waktu	26
4.3.2	Variasi pH.....	28
4.3.3	Variasi Suhu	29
4.3.4	Konsentrasi Substrat	30
4.4	Nilai V_{max} dan K_m Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri <i>Bacillus tropicus</i> BD 01	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		33
5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN.....		38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Efek pH pada Aktivitas Enzim.....	6
Gambar 2 Efek Temperatur pada Aktivitas Enzim.....	7
Gambar 3 Efek Konsentrasi Substrat pada Aktivitas Enzim.....	7
Gambar 4 Efek Konsentrasi Enzim Pada Aktivitas Enzim.....	8
Gambar 5 Reaksi Enzimatik Azoreduktase.....	9
Gambar 6 Struktur Metil Merah.....	12
Gambar 7 Ekstrak kasar enzim azoreduktase dari bakteri <i>Bacillus tropicus</i> BD 01.....	23
Gambar 8 Grafik waktu optimum.....	26
Gambar 9 Grafik pH optimum.....	27
Gambar 10 Grafik suhu optimum.....	28
Gambar 11 Grafik konsentrasi substrat.....	29
Gambar 12 Kurva Lineweaver-Burk dari enzim azoreduktase.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pembuatan buffer posfat.....	38
Lampiran 2 Skema kerja.....	39
Lampiran 3 Kurva kalibrasi standar BSA.....	40
Lampiran 4 Ammonium sulfat yang digunakan untuk fraksinasi.....	42
Lampiran 5 Tabel ammonium sulfat.....	43
Lampiran 6 Perhitungan kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim.....	44
Lampiran 7 Kondisi optimum aktivitas enzim azoreduktase.....	45
Lampiran 8 Nilai Vmax dan Km enzim azoreduktase.....	46

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim telah banyak digunakan dalam berbagai proses kimiawi, baik dalam bidang industri maupun dalam bidang bioteknologi. Seiring dengan peningkatan penggunaan enzim, berbagai penelitian tentang enzim telah banyak dilakukan (Sulistyowati, 2016). Salah satu proses yang melibatkan kerja enzim dalam penanganan limbah cair industri tekstil yaitu dekolourisasi. Menurut Permatasari dkk (2018) proses dekolourisasi melibatkan enzim azoreduktase dari isolat mikroba yang menyebabkan terjadinya degradasi pewarna azo. Pada umumnya zat warna yang digunakan pada industri tekstil merupakan golongan zat warna azo dan sulit terdegradasi.

Zat warna sintesis golongan azo yang banyak digunakan dalam industri tekstil sebagai bahan pencelup adalah *methylene blue*, *methyl orange* dan *metil merah* (Rahmalia dkk, 2019). Zat warna azo mempunyai karakteristik utama dimana terdapat gugus nitrogen yang berikatan ganda dengan nitrogen, yang dikenal sebagai rantai azo ($-N=N-$), dan di dalam satu jenis zat warna bisa terdiri dari satu atau lebih rantai azo. Menurut Chacko dan Subramaniam (2011), dekolourisasi biasanya dilakukan dengan pemutusan ikatan azo yang dilakukan oleh enzim azoreduktase. Perubahan struktur kimia yang terjadi akibat adanya pemutusan ikatan azo secara visual dapat dilihat dari pemudaran atau penurunan kepekatan warna (Permatasari dkk, 2018).

Enzim azoreduktase memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan rangkap azo dalam struktur pewarna azo dengan tahap biotransformasi enzimatik untuk menghasilkan produk amina tak berwarna dan mereduksi ikatan azo menjadi produk amina yang lebih stabil (Ramlan, 2012). Azoreduktase memutuskan ikatan azo dengan *Nicotinamide Dinucleotide Adenine Phosphate* (NADPH) sebagai kofaktor (Leelakriangsak and Borisut 2012). Menurut Ramlan (2012) enzim azoreduktase telah diisolasi dan diidentifikasi dari berbagai spesies mikroorganisme. Azoreduktase

dari berbagai sumber mikroorganisme akan memiliki sifat enzim yang berbeda. Oleh karena itu, beberapa penelitian telah dilakukan pada mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim azoreduktase. Beberapa bakteri yang dapat melakukan biodekolorisasi adalah *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophila*, *B. cereus*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas luteola* (Saratela, 2011). Penelitian Mega (2020) *Bacillus tropicus* BD 01 yang diperoleh dari limbah pabrik jumpatan daerah Tuan Kentang Seberang Ulu 1 Palembang diketahui mampu mendegradasi limbah zat warna azo *Direct Red* 81 dengan persen biodekolorisasi sebesar 69,41%. Belum ada penelitian mengenai uji aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 pada zat warna azo metil merah sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas enzim azoreduktase dari isolat bakteri *B. tropicuss* BD 01 terhadap zat warna metil merah.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Bacillus tropicus* BD 01 pada zat warna azo metil merah ?
2. Bagaimana kondisi optimum dari aktivitas enzim azoreduktase dalam proses penghilangan zat warna metil merah ?
3. Bagaimana kinetika enzim dari aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *B. tropicuss* BD 01

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 pada zat warna azo metil merah.
2. Menentukan kondisi optimum kerja enzim azoreduktase dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 meliputi pH, waktu inkubasi, temperatur, dan konsentrasi substrat.
3. Menentukan Nilai V_{max} dan K_m enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *B. tropicuss* BD 01.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan sumber enzim azoreduktase ekstraseluler atau intraseluler dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 sebagai pendegradasi zat warna azo.
2. Mendapatkan informasi tentang aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler atau intraseluler dari bakteri *B. tropicuss* BD 01 dalam penanganan limbah zat warna tekstil.
3. Mendapatkan nilai Nillai V_{max} dan K_m enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *B. tropicuss* BD 01.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. 2017. Isolasi dan Pemurnian Enzim A-Glukosidase dari Beras Ketan Putih (*Oryza Sativa* Var. *Glutinosa*) serta Amobilisasi dengan Matriks Karagenan Secara Mikroenkapsulasi. *Skripsi.*: Universitas Hasanuddin Makassar
- Agil, M dan Sutariningsih, E. 2016. Dekolorisasi Pewarna Indigosol oleh Bakteri Tanah. *Skripsi.* Yogyakarta: Universitas Gajah Madah
- Bafana, A, Chakrabarti, T dan Devi. S.S. (2008). Azoreductase and Dye Detoxification Activities of *Bacillus Velezensis* Strain AB. *Appl Microbiol Biotechnol.* 77(5):1139–1144.
- Bentubo, H. D. L. dan Gompertz, O. 2014. Effects of temperature and incubation time on the in vitro expression of proteases, phospholipases, lipases and DNases by different species of Trichosporon. *SpringerPlus.* 3(1) : 1-10
- Bhaktinegara, A. R. Supriyadi, A dan Raharjo. B. 2015. Biodegradasi Senyawa Hidrokarbon Oleh Strain Bakteri *Bacillus cereus* (VIC) pada Kondisi Salinitas yang Berbeda. *Jurnal Biologi.* 4(3): 62-71.
- Blanco, A and Blanco, G. 2017. *Enzymes Medical Biochemistry.* Academic Press: London. 153–175.
- 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.
- Chacko, J.T. and Subramaniam, K. 2011. Enzymatic Degradation of Azo Dyes A review. *International Journal Environ Science.* 1(6): 1250-1260.
- Chen, H. 2006. Recent Advances in Azo Dye Degrading Enzyme Research. *Current Protein and Peptide Science.* 7(2):101-111.
- Dennison, C., 2002. *A Guide to Protein Isolation,* Kluwer Academic Publisher: New York.
- Djarkasi, G.S.S., Raharjo, S dan Noor, z. 2017. Isolasi dan Akitivitas Spesifik Enzim Lipase Indigenous Biji Kenari. *Jurnal Teknologi Pertanian.*8(1): 28-34.
- Firdaus, Y. 2011. Dekolorisasi Zat Warna Remazol Brilliant Blue Menggunakan Membran Padat Silika. *Skripsi.* Universitas Negeri Semarang
- Gandhimathi,R., Vijayaraj, S and Jyothirmaie, M.S. 2012. Analytical Process of Drugs by Ultraviolet (UV) Spectroscopy – A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis.* 2(2): 72-78

- Handayani, S.N., Lestari, P., Oedjijono., Raharjo, T.J dan Matsjeh S. 2011. Karakterisasi Sifat-Sifat Biokimia Ekstrak Kasar Lipase Ekstraseluler Bakteri *Azospirillum Sp.* Prd1. *Jurnal Molekul*. 6(2):74-83.
- Hashem, R.A., Samir, A., Essam, M.A., Ali, A.E and Amin, M. A. 2018. Optimization and Enhancement of Textile Reactive Remazol Black B Decolorization and Detoxification by Environmentally Isolated pH Tolerant *Pseudomonas Aeruginosa* KY284155. *AMB Expr* 8(83):2-12.
- Humbird, D., R *et al.* 2011. Process Design and Economics for biochemical Conversion of *Lignocellulosic* Biomass to Ethanol: Dilute-acid Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover. *National Renewable Energy Lab.*(NREL), Golden, CO (United States). NREL/TP:5100 – 47764.
- Iqbal, M. 2019. Biodekolorisasi Zat Warna Congo Red dari Limbah Industri Tekstil Menggunakan Bakteri *Bacillus Cereus*. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya: Indralaya
- Kusmiyati, M. 2016. *Praktikum Kimia Farmasi*. Pusdik Kesehatan SDM: Jakarta
- Jannah, Rauzatu. 2016. Pengaruh Aplikasi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Produktivitas Tanaman Padi. *Skripsi*. Bandar Aceh Darussalam: Universitas Islam Negeri Ar-Raniry
- Leelakriangsak, M *et al.* 2008. Regulation of Quinone Detoxification by the Thiol Stress Sensing DUF24/MarR-like Repressor, YodB in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*. 67(5):1108-1124.
- Lehninger, A.L.1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga: Jakarta
- Manjunatha, A.S., Sukhdev, A and Puttaswamy. 2013. Oxidative Decolorization of Methyl Red dye with Chloramines-T-Kinetic and Mechanistic Chemistry. *Indian journal of Chemical Technology*. 20(13):416-422.
- Manurung, R., Rosdanelli, H., dan Irvan. 2004. Perombakan Zat Warna Azo Reaktif Secara Anaerob-Aerob. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Mega, T. 2020. Bioadsorpsi Zat Warna *Direct Red 80* Menggunakan Bakteri Indigen dari Limbah Industri Kain Jumputan. *Skripsi*. Indralaya: Universitas Sriwijaya.
- Permatasari, I., Nugroho, A. R dan Meitiniarti, I. V. 2018. Dekolorisasi Pewarna Tekstil Sumfix Blue dan Reactive Red 2 Oleh Mikroba Yang Diisolasi Dari Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. 5(1): 20-26
- Prastika,Z. N. 2018. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan Ph dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. *Skripsi* : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Pricelius *et al.*, 2007. Enzymatic Reduction Of Azo And Indigoid Compounds. *Appl Microbiol Biotechnol* 77:321–327.
- Poedjiadji, A dan Supriyanti, T. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Punj, S and John, H.G. 2008. Purification and Identification of an FMN-dependent NAD (P) H Azoreductase from *Enterococcus faecalis*. *Journal Mol. Biol.* 11(6): 59-66.
- Puspitasari, G., Safrihatini, W dan Umam, k. 2019. Studi Kinetika Reaksi dari Enzim α - Amilase pada Proses Penghilangan Kanji Kain Kapas Study of Kinetics of the α -Amilase Enzyme Reaction in Desizing Process. *Jurnal Arena Tekstil.* 34(1): 1-6.
- Putra, G.P.G., Harijono., Susanto, T., Kumalaningsih, S dan Alunnani'am. 2007. Kstraksi dan Ekstraksi dan karakterisasi enzim Poligalakturonase Oligalakturonase Endojinus pada Pulp Biji Kakao. *Jurnal Teknologi Pertanian.* 8 (1) :1 – 9.
- Ramlan *et al.*, 2012. Decolourisation of Reactive Black 5 by Azoreductase Produced by *Brevibacillus panacihumi* ZBI. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)* 59(1): 11–16.
- Ramlan, M., A., B., M. 2012. Characterization of Azoreductase Produced by *Brevibacillus panacihumi* During the Decolorization of Reactive Black 5. *Disertasi*. Universiti Teknologi Malaysia: Malaysia.
- Rahmalia, S., Azis, Y dan Zahrina, I. 2019. Efisiensi Adsorpsi Beberapa Zat Warna Sintesis Golongan Azo Menggunakan Hidroksiapatit. *Jom Fteknik.* 6(2) : 1-4.
- Rahmawati, E.Y. 2018. Uji Karakteristik Enzim β -1,4-Glukosidase pada Berbagai Yeast Serta Kinetika Reaksi Enzim Campuran. *Skripsi*: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ratnayani, A. A. I. A, Laksmiwati. M, dan Sudiarto. M. 2015. Penentuan Laju Reaksi Maksimal (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis-Menten (K_m) Enzim Lipase Pankreas pada Substrat Minyak Kelapa, Minyak Sawit, dan Minyak Zaitun. *Jurnal Kimia.* 9 (1): 93-97 .
- 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
- Rohmandoni, H. 2016. Validasi Metode Penetapan Kadar Tablet Floating Metformin Hidroklorida dengan Spektrofotometer. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Purwokerto: Purwokerto

- Russ, R., Rau, J and Stolz, A. 2000. The Function of Cytoplasmic Flavin Reductase in the Reduction of Azo Dyes by Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 66(1): 1429-1434
- Saranraj, P.D., Stella and Sivasakthivelan, P. 2014. Separation, Purification and Characterization of Dye Degrading Enzyme Azoreductase from Bacterial Isolates. *Central European Journal of Experimental Biology*. 3 (2):19-25.
- 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.
- Scopes, R. K. 2002. *Enzyme Activity and Assays*. Encyclopedia of Life Sciences. Victoria: Australia.
- Seftiono, H. 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Mananase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia dan Peranannya dalam Bidang Pangan. *Jurnal Argointek*. 11(1): 16-19.
- Selvia, R.I., Wuryanti, W dan Sriatun. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik Berasal dari Kupu-Kupu (*Lepidoptera*). *Jurnal Sains Kimia dan Aplikasi*. 16(3): 97-101.
- Shah, M.P., Patel, K.A., Nasir, S.S and Darji, A.M. 2013. Potential Effect of Two *Bacillus Spp* on Decolorization of Azo Dye. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. 4(7):1-4.
- Shah, M.P., Kavita, A.P., Sunu, S.N., and Darji, A.M. 2013. Microbial Decolorization of Methyl Orange Dye by *Pseudomonas spp*. ETL-M. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 1(2): 54-59.
- Sholihati, A.M., Bhaharudin, M dan Santi. 2012. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus Subtilis*. *Jurnal Kimia*. 3(1): 81.
- 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.
- Situmorang, N. 2014. Aktivitas Protease dan Uji Fisiologi Isolat Bakteri Proteolitik dari Limbah Cair Nanas. *Skripsi*. Universitas Lampung: Lampung
- Sonia N.M.O. dan Kusnadi J. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4):11-19.
- Stolz, A. 2001. Basic and Applied Aspects in the Microbial Degradation of Azo Dyes *Applied Microbiology Biotechnology*. 56(2): 69-80.

- Sugayana, K and Revathi, K. 2016. Purification and Characterization of Azoreductase from *B. licheniformis*. *Int. J. Pure App. Biosci.* 4 (4): 238-243
- Suhito, I.M. 2016. Ekstraksi, Purifikasi, dan Karakterisasi Alkalin Protease dari Limbah Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*). *Skripsi*. Universitas Surabaya: Surabaya.
- Su'i, M dan Suprihana. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out. *Jurnal Agritech.* 33(4): 377-383.
- Sulistiyowati, E., Salirawati, D dan Amanatie. 2016. Karakterisasi Beberapa Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim Tripsin. *Jurnal Penelitian Sainstek.* 21(2):2-4
- Sumardjo D. 2006. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran.
- Wang, H et al. 2009. Biological Decolorization of the Reactive Dyes Reactive Black 5 by A Novel Isolated Bacterial Strain *Enterobacter sp.* EC3. *Journal of Hazardous Materials.* 171(18): 654-659
- Wardani, A.K dan Nindita, L. O. 2012. Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Hasil Isolasi dari Whey Tahu. *Jurnal Teknologi Pertanian.* 13(3): 149-156.
- Widjajanti, E., Tutik 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: Universitas Negeri Yogyakarta.*
- Yoga, W.K.I.B. 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.* 317-318.
- Yunita, S.P. 2002. Skrining dan Uji Aktivitas Enzim Protease Bakteri dari Limbah Rumah Pematangan Hewan. *Skripsi*. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Zee, V.D. 2002. Anaerobic azo dye reduction. *Doctoral Thesis*. Wageningen University: Netherlands.
- Zimmermann, T., Kulla, H. G and Leisinger, T. 1982. Properties of purified Orange II Azoreductase, the enzyme Initiating Azo Dye degradation by *Pseudomonas KF46*. *Journal Biochem.* 129:197-203
- Zusfahair dan Fatoni, A. 2011. Amobilisasi Protease Dari *Bacillus Sp.* Bt 1 Menggunakan Poliakrilamida. *Jurnal Molekul.* 6(2): 84-92.