

**UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER  
DARI BAKTERI *Aeromonas jandaei***

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**DEFI YULIANTI SARI**

**08031381722107**

**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2022**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI  
BAKTERI *Aeromonas jandaei***

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**Defi Yulianti Sari**

**08031381722107**

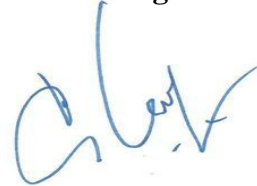
Indralaya, 25 Maret 2022

**Pembimbing I**



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

**Pembimbing II**



**Dra. Fatma, MS.**  
**NIP. 196207131991022001**

**Mengetahui,**

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Prof. 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 *Aeromonas jandaei*” telah diseminarkan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 22 Maret 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 25 Maret 2022

Ketua :

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

NIP : 196507251993032002

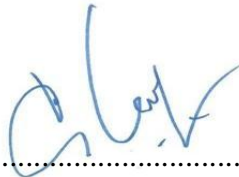


(.....)

Anggota :

**1. Dra. Fatma, MS**

NIP : 196207131991022001



(.....)

**2. Dr. Heni Yohandini, M.Si**

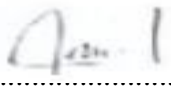
NIP : 197011152000122004



(.....)

**3. Dra. Desneli, M.Si**


NIP : 196912251997022001



(.....)


**4. Widia Purwaningrum, S.Si., M.Si**

NIP : 197304031999032001




(.....)

Mengetahui,



**Dekan FMIPA**  
**Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D**  
NIP. 197111191997021001

**Ketua Jurusan Kimia**  
  
**Prof. Dr. Mitharni, M.Si.**  
NIP. 196903041994122001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Defi Yulianti Sari

NIM : 08031381722107

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, 25 Maret 2022**

**Penulis,**



**Defi Yulianti Sari**

**Nim. 08031381722107**

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

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

Nama Mahasiswa : Defi Yulianti Sari

NIM : 08031381722107

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 *Aeromonas jandaei*”. 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.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 25 Maret 2022

Yang menyatakan



Defi Yulianti Sari

NIM. 08031381722107

## LEMBAR PENGESAHAN

Bismillahirrahmaanirrahiim.....

- Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya” (QS. Al-Baqarah : 286)
- Manusia hanya bisa berencana, tetapi Allah yang tetap menentukan. Ke mana jalan terbaik yang sudah Allah tentukan untuk kita”
- Dan janganlah kamu (merasa) lemah, dan jangan (pula) bersedih hati, sebab kamu paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang yang beriman” (QS. Ali ‘Imran 3: 139)

Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada

- Allah SWT
- Nabi Muhammad SAW

Dan kupersembahkan kepada :

- Ibu, Ayah dan Adik ku tercinta yang selalu mendoakan dan memberikan semangat serta dukungan
- Seluruh keluarga besarku
- Pembimbing dan sahabat-sahabatku
- Almamaterku (Universitas Sriwijaya)

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan krunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase Ekstraseluler dari Bakteri *Aeromonas jandaei*”. Skripsi ini dibuat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Dra. Julinar, M.Si** dan Ibu **Dra. Fatma, MS** yang telah banyak memberikan bimbingan, motivasi, pengalaman, saran dan petunjuk kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Heni Yohandini, M.Si, Ibu Dr. Desneli, M.Si dan Ibu Widia Purwaningrum, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu pengetahuan serta saran hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Bapak Prof. Hermansyah, Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Prof. Muharni, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
4. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
5. Seluruh staf dosen jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya yang telah membantu dalam menyelesaikan administrasi selama kuliah hingga akhir kuliah.
6. Kedua orang tuaku tercinta, Ayah Agusmandedi dan Ibu Fitriani yang tidak lelah memotivasi saya untuk selalu maju dan selalu mendoakan saya disetiap langkah saya. Saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga untuk Ibu tercinta yang mengiringi saya dengan sabar, selalu memberikan nasihat terbaik dan mendoakan saya dengan sungguh-sungguh demi kesuksesan saya. Begitu pula ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada Ayah yang tidak pernah lelah

untuk memberikan yang terbaik kepada saya dalam segala hal dan selalu menunggu saya pulang dengan selamat sampai rumah.

7. Adikku Fiddy, terima kasih sudah saling menyayangi dan melindungi serta mendoakan kebaikan untukku, semoga kita dapat membahagiakan masa tua Ayah dan Ibu nantinya.
8. Keluarga besarku terutama Alm. Opa terima kasih yang selalu mendoakan dan senantiasa memberikan dukungan dan motivasi.
9. Keponakan tercintaku yang selalu memberi semangat dan selalu mengembalikan mood mbak yang kadang sedih dan capek selama masa kuliah sampai tugas akhir.
10. Papa dan Mama Galuh, yang tidak pernah lupa selalu kasih semangat dan doa selama saya mengerjakan tugas akhir skripsi.
11. Renny Mutiara Damayanti, my sisturr yang udah setia mendengar keluh kesah, masalah dan segalanya, yang selalu memotivasi dan menyemangatin saya untuk selalu maju sekalipun ketika saya sedang jatuh. Terima kasih selalu menjadi pendengar dan pendukung terbaik.
12. Lily Santika, my sistur telah mau mendengar keluhan ayuk dan selalu memberi semangat yang tiada habisnya. Terima kasih sudah setia menemanin ayuk apapun terjadi.
13. Rizki dwi fahmi, sistaku yang ayuk kenal dari daftar ulang-sekarang, terima kasih telah mau berteman dengan ayuk walaupun sering terjadi kesalahpahaman, merajukan dll wkwk, terima kasih banyak telah menyemangatin ayuk kapanpun. Semoga selalu dipermudah urusan ke depannya.
14. Arcella LDDP sahabat sejak maba yang telah sabar dan bantuin saya selama perkuliahan. Semoga kita sukses selalu dimanapun dan kapanpun.
15. Gusti Yeni RI, Uswatun Khoiran, Revika Fatriani dan Riska Anggraini sudah menjadi teman baik dan mensupport sahabatmu ini untuk terus mengembangkan karirnya wkwkwkw



16. Dian Dwita dan Ipro Hati yang sudah mau menjadi teman dadakan untuk tugas akhir. Terima kasih sudah menjadi partner menghabiskan uang yang berkedok healing dan sudah sabar menghadapi sifat saya yang terlalu santuy.
17. Teman tugas akhir Permata dan Zuhro terima kasih atas saran dan informasi tentang dunia per TA an ini semoga kita sukses selalu. Aamiin
18. Kimia 2017 terima kasih sudah berbagi kenangan selama 4 tahun ini. Terutama Kurnia Ramadina, Ory Adelia dan Fatmawati yang selalu aku repotkan tentang ngechat dosen dan tugas akhir.
19. Terima kasih juga kepada anabul ku tersayang Aneesa dan Oreo yang sudah membuat diriku merasa baik ketika sedih dan gelisah masalah yang ada selama tugas akhir ini.
20. Teruntuk diriku sendiri Defi Yulianti Sari, terima kasih sudah sabar, kuat, tidak menyerah dan selalu bertahan menghadapi badai yang selalu hadir semasa tugas akhir ini.

Demikianlah skripsi ini penulis persembahkan, semoga dapat bermanfaat bagi kita semua. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka dari itu penulis mengharapkan saran dan masukan dari pembaca.

Indralaya, 25 Maret 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Dewi' or similar, written in a cursive style.

Penulis

## SUMMARY

### **EXTRACELLULAR AZOREDUCTASE ACTIVITY TESTING FROM THE BACTERIA *Aeromonas jandaei***

Defi Yulianti Sari : Supervised by Dra. Julinar, M.Si and Dra. Fatma, MS

Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

xi ± 60 pages, 1 table, 13 figures, 10 appendices.

*Aeromonas jandaei* is a bacterium capable of decolorizing azo dyes. The *A. jandaei* bacteria used are bacteria that have been isolated from textile waste. Azoreductase enzymes can break azo double bonds and produce colorless aromatic amine products. The purpose of this study was to test the activity of the extracellular azoreductase enzyme from *A. jandaei* bacteria against azo methyl red dye.

The azoreductase enzyme extract from the bacteria *A.jandaei* was obtained by culturing the bacteria in nutrient broth media and incubated for 2x24 hours at 37°C in a shaker incubator. The enzyme extract was then fractionated with ammonium sulfate and followed by dialysis. The results of enzyme fractionation with the highest specific activity were used to determine the optimum conditions for the extracellular azoreductase enzyme from *A.jandaei* bacteria with variations in incubation time, incubation temperature, pH and substrate concentration. From the activity substrate concentration, enzyme kinetics were calculated, namely  $V_{max}$  and  $K_m$ .

The crude extract of the azoreductase enzyme had an activity of 0.025 U/mL and a specific enzyme activity of 0.00139 U/mg. The results of the fractionation obtained the highest specific enzyme activity in fraction 3 with a saturation level of 40-60% ammonium sulfate with a specific enzyme activity value of 0.0844 U/mg. Extracellular azoreductase enzyme from *A.jandaei* bacteria has optimum conditions at incubation time of 5 minutes, pH 7, temperature 37°C and substrate concentration of 70µM with enzyme activity of 0.1017 U/mL. Calculation of the enzyme kinetic data obtained a  $V_{max}$  value of 0.1025 U/mg and a  $K_m$  value of 0.6886 µM.

Keywords: *Aeromonas jandaei*, Azoreduktase, Specific Activity and Enzyme Activity.

## RINGKASAN

### UJI AKTIVITAS ENZIM AZOREDUKTASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI *Aeromonas jandaei*

Defi Yulianti Sari : Dibimbing oleh Dra. Julinar, M.Si dan Dra. Fatma, MS

Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xi ± 60 halaman, 1 tabel, 13 gambar, 10 lampiran.

Bakteri *Aeromonas jandaei* merupakan bakteri yang mampu mendekolorisasi zat warna azo. Bakteri *A. jandaei* yang digunakan merupakan bakteri yang telah diisolasi dari limbah tekstil. Enzim azoreduktase dapat memutuskan ikatan rangkap azo dan menghasilkan produk amina aromatik tak berwarna. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk menguji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *A. jandaei* terhadap zat warna azo metil merah.

Ekstrak enzim azoreduktase dari bakteri *A. jandaei* diperoleh dengan cara mengkulturkan bakteri pada media nutrient broth dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C dalam *shaker inkubator*. Ekstrak enzim selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan amonium sulfat dan dilanjutkan dengan dialisis. Hasil fraksinasi enzim dengan aktivitas spesifik tertinggi digunakan untuk penentuan kondisi optimum enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *A. jandaei* dengan variasi waktu inkubasi, suhu inkubasi, pH dan konsentrasi substrat. Dari data aktivitas dengan konsentrasi substrat dilakukan perhitungan kinetika enzim yaitu  $V_{max}$  dan  $K_m$ .

Hasil ekstrak kasar enzim azoreduktase memiliki aktivitas sebesar 0,025 U/mL dan aktivitas spesifik enzim 0,00139 U/mg. Hasil fraksinasi didapatkan aktivitas spesifik enzim tertinggi pada fraksi 3 dengan tingkat kejenuhan amonium sulfat 40-60% dengan nilai aktivitas spesifik enzim sebesar 0,0844 U/mg. Enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *A. jandaei* mempunyai kondisi optimum pada waktu inkubasi 5 menit, pH 7, suhu 37°C dan konsentrasi substrat 70 $\mu$ M dengan aktivitas enzim 0.1017 U/mL. Perhitungan data kinetika enzim didapatkan nilai  $V_{maks}$  sebesar 0,1025 U/mg dan nilai  $K_m$  0,6886  $\mu$ M.

Kata kunci : *Aeromonas jandaei*, Azoreduktase, Aktivitas Spesifik dan Aktivitas Enzim.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN DEPAN</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	<b>v</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>x</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvii</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 .....	4
2.2 Zat Warna Azo Metil Merah.....	4
2.3 Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	5
2.4 Enzim.....	7
2.4.1 Pengertian Enzim.....	7
2.4.2 Enzim Azoreduktase.....	8
2.4.3 Aktivitas Enzim Spesifik .....	8
2.4.4 Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim .....	9
2.4.4.1 Potensial Hidrogen (pH) .....	9
2.4.4.2 Suhu .....	10
2.4.4.3 Konsentrasi Substrat .....	11
2.4.5 Kinetika Enzim .....	11

2.5	Fraksinasi Amonium Sulfat .....	12
2.6	Dialisis .....	13
2.7	Spektrofotometer UV-Vis.....	14
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>		<b>15</b>
3.1	Waktu dan Tempat .....	15
3.2	Alat dan Bahan.....	15
3.2.1	Alat .....	15
3.2.2	Bahan.....	15
3.3	Prosedur Penelitian.....	15
3.3.1	Sterilisasi Alat .....	15
3.3.2	Pembuatan Media.....	16
3.3.2.1	Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) .....	16
3.3.2.2	Pembuatan Media Nutrient Broth (NB) .....	16
3.3.3	Produksi Enzim .....	16
3.3.3.1	Peremajaan Bakteri.....	16
3.3.3.2	Penyiapan Inokulum Bakteri .....	16
3.3.3.3	Kulturisasi Bakteri .....	16
3.3.3.4	Ekstraksi Enzim .....	17
3.3.4	Penentuan Kadar Protein dengan Metode Biuret.....	17
3.3.4.1	Pembuatan Kurva Standar BSA (Bovine Serum Albumin) .....	17
3.3.4.2	Penentuan Kadar Protein dengan Metode Biuret...	17
3.3.5	Persiapan Substrat Metil Merah .....	17
3.3.5.1	Pembuatan Larutan Metil Merah 50 $\mu$ M.....	17
3.3.5.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Metil Merah .....	17
3.3.6	Uji Aktivitas Enzim Azoreduktase.....	18
3.3.7	Fraksinasi Ammonium Sulfat .....	18
3.3.8	Dialisis .....	18
3.3.9	Penentuan Kondisi Optimum Enzim Azoreduktase.....	19

3.3.9.1 Waktu Inkubasi.....	19
3.3.9.2 Pengaruh pH .....	19
3.3.9.3 Pengaruh Suhu .....	19
3.3.9.4 Pengaruh Konsentrasi Substrat .....	19
3.3.10 Analisis Data .....	20
3.3.10.1 Penentuan Kadar Protein .....	20
3.3.10.2 Aktivitas Enzim Azoreduktase .....	20
3.3.10.3 Aktivitas Spesifik.....	20
3.3.10.4 Penentuan $K_m$ dan $V_{max}$ .....	21
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Ekstrak Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas Jandaei</i> .....	22
4.2 Hasil Fraksinasi Amonium Sulfat .....	23
4.3 Kondisi Optimum Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	24
4.3.1 Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	24
4.3.2 Pengaruh Variasi pH Terhadap Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	25
4.3.3 Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	26
4.3.4 Pengaruh Variasi Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	27
4.4 Penentuan Nilai $K_m$ dan Nilai $V_{max}$ Enzim Azoreduktase dari Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	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 9. Foto-foto penelitian .....</b>	<b>58</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Struktur Metil Merah .....	5
Gambar 2. Bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	6
Gambar 3. Pemutusan zat warna azo .....	8
Gambar 4. Pengaruh pH Terhadap Laju Reaksi .....	10
Gambar 5. Pengaruh Suhu Terhadap Laju Reaksi.....	11
Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Laju Reaksi .....	11
Gambar 7. Kurva Lineweaver-Burk .....	13
Gambar 8. Ekstrak enzim azoreduktase dari bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> .....	23
Gambar 9. Aktivitas enzim azoreduktase pengaruh variasi waktu.....	25
Gambar 10. Aktivitas enzim azoreduktase pengaruh variasi pH.....	26
Gambar 11. Aktivitas enzim azoreduktase pengaruh variasi suhu.....	28
Gambar 12. Aktivitas enzim azoreduktase pengaruh konsentrasi substrat .....	29
Gambar 13. Kurva Lineweaver-Burk.....	30

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim ekstrak enzim dan fraksi ammonium sulfat .....	23
Tabel 2. Data pengukuran absorbansi standar protein .....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Skema Kerja.....	37
Lampiran 2. Kurva standar BSA .....	38
Lampiran 3. Amonium sulfat yang digunakan untuk fraksi.....	41
Lampiran 4. Tabel amonium sulfat .....	42
Lampiran 5. Data dan perhitungan kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim.....	43
Lampiran 6. Kondisi optimum aktivitas enzim azoreduktase .....	53
Lampiran 7. Nilai Vmax dan Km enzim azoreduktase .....	61
Lampiran 8. Pembuatan larutan.....	63
Lampiran 9. Foto penelitian .....	64

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Industri tekstil merupakan industri yang banyak menghasilkan limbah zat warna (Kriswidatari dkk, 2017). Zat warna yang biasa digunakan oleh industri tekstil umumnya dibuat dari senyawa azo dan turunannya (Komala dkk, 2007). Zat warna azo mempunyai sistem kromofor gugus azo ( $-N=N-$ ) yang berikatan dengan gugus aromatik. Zat warna azo merupakan zat warna sintetik yang bersifat toksik dan karsinogenik yang banyak digunakan oleh industri tekstil. Hal ini menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan perairan. Salah satu zat warna azo yang banyak digunakan dalam industri tekstil sebagai bahan pencelup adalah *methylene blue*, *methyl orange* dan metil merah (Rahmalia dkk, 2019).

Penanganan limbah cair industri tekstil dapat dilakukan dengan proses biodegradasi. Metode biodegradasi mengakibatkan zat warna azo mengalami pemutusan ikatan azo  $-N=N-$  oleh bakteri. Perubahan struktur kimia akibat adanya pemutusan ikatan azo dapat dilihat dari pemudaran atau penurunan kepekatan warna dari zat warna (Permatasari dkk, 2018). Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling sering digunakan sebagai agen dekolonisasi karena pertumbuhannya yang cepat, mudah beradaptasi pada suhu dan mudah dikultivasi (Shah *et al.*, 2013). Penelitian Anugrah (2019), telah mendapatkan *Aeromonas jandaei* terbukti mampu mendekolorisasi zat warna azo *congo red* dengan hasil persen dekolonisasi sebesar 83,01% dan Sari (2020), juga mendapatkan persen dekolonisasi 88,53% pada bakteri *Aeromonas jandaei* menggunakan zat warna azo *direct red-81*.

Terjadinya dekolonisasi oleh bakteri akibat adanya kerja enzim azoreduktase. Azoreduktase dapat memutuskan ikatan rangkap azo dan menghasilkan produk amina tak berwarna. Beberapa bakteri yang mampu menghilangkan zat warna azo telah diidentifikasi dan enzim azoreduktase telah diisolasi dan dikarakterisasi (Leelakriangsak dan Borisut, 2012). Roopa dan Usha (2017), telah melakukan pemurnian dan uji aktivitas enzim azoreduktase dalam degradasi zat warna *Reactive*

Black 5 dari bakteri *Aeromonas punctata* yang diisolasi dari limbah industri tekstil. Penelitian Chai *et al.*, (2012), telah menguji aktivitas enzim azoreduktase dari bakteri *Pseudomonas putida* dan dimurnikan dengan metode kromatografi. Mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Aeromonas jandaei* sebagai agen pendegradasi zat warna dari limbah pengrajin kain jumputan (Puspa, 2016). Berdasarkan uraian di atas belum ada penelitian tentang uji aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jandaei* maka penelitian dilakukan pengujian aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jandaei*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan Penelitian sebelumnya, bakteri *Aeromonas jandaei* mampu mendegradasi zat warna azo *direct red-81* dengan persen dekolorisasi sebesar 88,53% (Sari, 2020) sehingga diduga bakteri *Aeromonas jandaei* dapat menghasilkan enzim azoreduktase. Rumusan masalah pada penelitian ini :

1. Bagaimana aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jandaei* ?
2. Bagaimana memisahkan protein enzim azoreduktase dari ekstrak kasar enzim azoreduktase ?
3. Bagaimana kondisi optimum kerja enzim azoreduktase dari bakteri *Aeromonas jandaei* ?
4. Bagaimana kinetika enzim azoreduktase dari bakteri *Aeromonas jandaei* ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Menguji aktivitas enzim azoreduktase dari kultur bakteri *Aeromonas jandaei* pada zat warna azo metil merah.
2. Mendapatkan enzim azoreduktase ekstraseluler dengan cara fraksinasi ammonium sulfat.
3. Menentukan kondisi optimum kerja enzim azoreduktase yang meliputi waktu inkubasi, suhu, pH dan konsentrasi substrat.
4. Menentukan nilai  $V_{\max}$  dan  $K_m$  enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jandaei*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan informasi tentang aktivitas enzim azoreduktase ekstraseluler dari bakteri *Aeromonas jandaei*.
2. Mendapatkan sumber enzim azoreduktase dari bakteri *Aeromonas jandaei*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abo-State, M.A.M., Saleh, Y.E., and Hazaa, H.A. 2017. Decolorization of Congo Red dye by Bacterial Isolates. *Journal of Ecology of Health and Environment*. 5(2) : 41-48.
- Adam dan Shovitri, M. 2012. Pengaruh waktu dan ph inkubasi terhadap aktivitas enzim keratinase dari isolat *Bacillus SL II-I*. *Jurnal biologi*. 1 (1): 1-4.
- Arlianti, L. 2020. Metode Biodegradasi untuk Berbagai Limbah Pewarna Sintesis Golongan Azo. *Jurnal Pendidikan dan Aplikasi Industri*. 7(2): 71-74.
- Anugrah, R. 2018. Biodekolorisasi Zat Warna *Congo Red* dan Limbah Industri Tekstil Menggunakan Bakteri *Aeromonas Jandaei*. *Skripsi*. Indralaya : Universitas Sriwijaya.
- Aryani, S. W. 2012. Isolasi dan karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik *Mucor sp*. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Battestin, V and Macedo, G. A. 2007. Effect to temperature, pH and additives on the active produced by *Paecilomyces variotii*. *Journal of Biotechnology*. 10 (2): 9.
- Cholihq, M. 2008. Aktivitas Enzim Protease dari *Mucor javanicus* yang Ditumbuhkan Pada Media Tepung Singkong (*Mannihot Utilissima*). *Jurnal Berila Biologi*. 9(3): 299-302.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Andalas University Press, Padang. Hlm 1.
- Dewi, R. S dan Lestari, S. 2010. Dekolorisasi Limbah Batik Tulis Menggunakan Jamur Indigenous Hasil Isolasi pada Konsentrasi Limah yang Berbeda. *Jurnal Molekul*. 5(2): 75-82.
- Dwidjoseputro, D. 1992. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Haedar, N., Natsir, H., Fahrudin dan Aryanti, W. 2017. Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Bakteri Kitinolitik asal Kerang *Anadara Granosa*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 8(15): 14-21.
- Holderman, M.V., Queljoe, E.D dan Rondonuwu, S.B. 2017. Identifikasi Bakteri pada Pegangan Eskalator di Salah Satu Pusat Perbelanjaan di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1) : 1-6.

- Holt, J.G et al., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570
- Husna, N. R., Hasri, H dan Sudding. 2017. Pengaruh pH Terhadap Degradasi Pewarna *Blue* Menggunakan Jamur Pelapuk Kayu (*Pleurotus flabellatus*). *Jurnal Kimia Riset*. 2(2): 140-146.
- Igbinosa, I.H., Igumbor, E.U., Aghdasi, F., Tom, M and Okoh, A.I. 2012. Emerging Aeromonas Species Infections and Their Significance in Public Health. *The Scientific World Journal*. 2012(1) : 1-9.
- Jamialahmadi, K *et al.*, 2011. Enzymatic Production of N-Acetyl-D-Glucosamine from Chitin Using Crude Enzyme Preparation of *Aeromonas sp.* *Journal Biotechnology*. 10 (1): 292-297.
- Jannah, F., Rezaagama, A dan Arianto, F. 2017. Pengolahan Zat Warna Turunan Azo Dengan Metode Fenton ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) dan Ozonasi ( $\text{O}_3$ ). *Jurnal Teknik Lingkungan*. 6(3): 2-9.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kilinc, B. 2019. Aeromonas and Plesiomonas spp. In Fishery Products and Their Effects. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 36(2): 191-199.
- Komala, P.S., Wenten, L.G dan Wisjnuaprpto. 2007. Bioreaktor Membran untuk Pengolahan Zat Warna Azo dalam Air Limbah Industri Pangan. *Skripsi*. Institut Teknologi Bandung: Bandung.
- Lusiana, U. 2012. Penerapan Kurva Kalibrasi, Bagan Kendali Akurasi dan Presisi Sebagai Pengendalian Mutu Internal Pada Pengujian COD Dalam Air Limbah. *Jurnal Biopropal Industri*. 3(1): 1-7.
- Meitiniarti, V.I., Sutarto, E.S., Timotius, K.H., dan Hendrawan, J.T. 2005. Dekolorisasi Pewarna Azo Orange II Oleh *Enterococcus faecalis* ID6017 dan *Chryseobacterium indologenes*. *Jurnal Biologi*. 4(5) : 303-313.
- Misal, S. A., Lingojar, D. P., Lokhande, M. N., Lokhande, P. D and Gawai, K. R. (2014). Enzymatic transformation of nitro-aromatic compounds by a flavin-free NADH azoreductase from *Lysinibacillus sphaericus*. *Biotechnology letters*. 36(1): 127-131

- Mishra, S and Maiti, A. 2019. Applicability of enzymes produced from different biotic species for biodegradation of textile dyes. *Environ Monit Assess.* 1 (1): 1-10.
- Ong, C., Lee, K and Chang, Y. 2020. Biodegradation Of Mono Azo Dye-Reactive Orange 16 By Acclimatizing Biomass System Under An Integrated Anoxic-Aerobic REACT Squencing Batch Moving Bed Biofilm Reactor. *Journal of Water Process Engineering.* 36(1): 1-11.
- Permatasari, I., Nugroho, R.A dan Meitiniarti, V. I. 2018. Dekolorisasi Pewarna Tekstil Sumifix Blue dan Reactive Red2 oleh Mikroba yang Diisolasi dari Limbah Industri. *Jurnal Bioteknologi & Bio Sains Indonesia.* 5(1) : 21-24.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-dasar Biokimia.* Jakarta: UI-Press.
- Punj, S and John, H. 2009. Purification and Identification of an FMN-dependent NAD(P)H Azoreductase from *Enterococcus faecalis*. *Curr Issues Mol Biol.* 11 (2) : 59-65.
- Puspa, S. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Zat Warna dari Limbah Pengrajin Kain Jumputan Dengan Menggunakan Gen Penyandi 16s rRNA. *Skripsi.* Indralaya : Universitas Sriwijaya.
- Rahmalia, S., Azis, Y dan Zahrina, I. 2019. Efisiensi Adsorpsi Beberapa Zat Warna Sintesis Golongan Azo Menggunakan Hidroksiapatit. *Jom Fteknik.* 6(2) : 1-4.
- Ramlan, M.A.M., *et al.* 2012. Decolourisation of Reactive Black 5 by Azoreductase Produced by *Brevibacillus panacihumi* ZBI. *Jurnal Teknologi (Scinces&Enginnering).* 59(1) : 11-16.
- Rejeki, S., Triyanto, dan Murwantoko. 2016. Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas* spp. Dari Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Sakit di Kabupaten Ngawi. *Jurnal Perikanan UGM.* 18(2) : 55-60.
- Roopa, K. B and Usha, M. S. 2017. Partial Purification and Assay of Azoreductase and Laccase in the Degradation of Reactive Black 5 Dye from *Aeromonas Punctata*. *Journal of Latest Research in Engineering and Technology.* 3 (7): 16-19.
- Sari, I. P. 2020. Dekolorisasi Limbah Cair Zat Warna *Direct Red-81* Pada Industri Tekstil Kain Jumputan Di Palembang Menggunakan *Aeromonas jandaei*. *Skripsi.* Indralaya: Universitas Sriwijaya.

- Sarip, M., Nugroho, T, T dan Teruna, H. Y. 2015. Isolasi, Uji Aktivitas Spesifik Enzim Selulase *Penicillium sp.* LBKURCC27 Semimurni Melalui Pengendapan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . *Jurnal Kimia*. 1(1): 12-17.
- Sastrawidana, I.D.K. 2011. Studi Perombakan Zat Warna Tekstil Remazol Red RB Secara Aerob menggunakan Bakteri *Enterobacter Aeroogenes* yang Diisolasi dari Lumpur Tekstil. *Jurnal Kimia*. 5(2) : 117-124.
- Sastrawidana, I.D.K., Lay,B.W., Fauzi, A.M dan 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.
- Seftiono, H. 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Manase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia dan Peranannya dalam Bidang Pangan: Kajian Pustaka. *Jurnal Agrotek*. 11 (1): 14-19
- Sholihati, A. M., Baharuddin, M., & Santi, S. (2015). Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Al-Kimia*, 3(2), 78-90
- Sriyanti, S. (2017). Pengaruh Pemerangkapan Enzim Alkalin Fosfatase ke dalam Silika dari Abu Sekam Padi terhadap Aktivitas Enzimatiknya. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 20(1): 42-47.
- Sumardjo, D.D. 2006. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Supriyatna, A., 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): 18-28.
- Susilo, B. 2012. Studi Optimasi Esterifikasi Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa dengan Glukosa menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimmobilisasi pada Matriks Zeolit. *Skripsi*. Depok : Universitas Indonesia.
- Thirumagal, J and Panneersalvam, A. 2015. Isolation of Azoreductase Enzyme in Its Various Forms from *Chlorella pyrenoidosa* and Its Immobilization Efficiency for Treatment of Water. *International Journal of Science and Research*. 5(5): 2131-2137
- Triyati, E. 1985. Spektrofotometer Ultra Violet dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya Dalam Oseanologi. *Journal Oseana*. 10(1): 39-47.
- Utari, S. A. S. S. L., Darmayasa, I. B. G dan Suyasa, I. W. B. 2015. Isolasi, Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri yang Berperan pada Pengolahan Air



Limbah yang Mengandung Rhodamin B dalam Biosistem Tanaman. *Jurnal Simbiosis*. 3(1): 301-312.

Vijaya, P. P *et al.*, 2012. Isolation, Purification and Characterization of Oxygen Insensitive Azoreductase from *Pseudomonas aeruginosa* and Biodegradation of Azo Dye-Methyl Red. *Journal of Advanced Laboratory in Biology*. 3 (4): 285-288.

Wulandari, F. Y., Ratnaningtyas, N.I dan Dewi, R. S. 2014. Dekolorisasi Limbah Batik Menggunakan Limbah Medium Tanam *Pleurotus ostreatus* Pada Waktu Inkubasi yang Berbeda. *Jurnal Scripta Biologica*. 1(1): 71-75.