

**PENGARUH ION Ca^{2+} , Fe^{3+} DAN Mn^{2+} TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
SELULASE YANG DIHASILKAN BAKTERI *Enterobacter cloacae* DAN
Klebsiella quasipneumoniae DARI SALURAN PENCERNAAN RAYAP**

SKRIPSI

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



Oleh:

MAHDI

08031181823104

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2023

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH ION Ca^{2+} , Fe^{3+} , dan Mn^{2+} TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
SELUL ASE YANG DIHASILKAN BAKTERI *Enterobacter cloacae* DAN
Klasiella quasipneumoniae DARI SALURAN PENCERNAAN RAYAP**

SKRIPSI

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

Oleh :

MAHDI

08031181823104

Pembimbing 1



**Prof. Hermansyah, Ph.D
NIP.197111191997021001**

Pembimbing 2



**Dra. Julinar, M.Si
NIP.1965072519930332002**

**Mengetahui,
Dekan FMIPA**



**Prof. Hermansyah, Ph.D
NIP. 197111191997021001**

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul “Pengaruh Ion Ca^{2+} , Fe^{3+} dan Mn^{2+} Terhadap Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* dari Saluran Pencernaan Rayap”, telah diseminarkan di hadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 03 Januari 2023 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 05 Januari 2023

Ketua:

1. **Dr. Muhammad Said, M. T.**
NIP. 197407212001121001

()

Pembimbing:

1. **Prof. Hermansyah, Ph.D**
NIP. 197111191997021001

()

2. **Dra. Julinar, M.Si**
NIP. 1965072519930332002

()

Penguji:

1. **Dr. Ferlinahayati, M.Si**
NIP. 197402052000032001

()

2. **Dr. Desnelli, M.Si**
NIP. 196912251997122001

()

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, 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 :Mahdi

NIM :08031181823104

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 Januari 2023

Penulis



Mahdi

NIM. 08031181823104

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

Sebagai Civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawahini:

Nama Mahasiswa : Mahdi
NIM : 08031181823104
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Pengaruh Ion Ca^{2+} , Fe^{3+} dan Mn^{2+} Terhadap Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* dari Saluran Pencernaan Rayap”. 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 Januari 2023

Yang menyatakan,



Mahdi
NIM. 08031181823104

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Skripsi ini saya persembahkan sepenuhnya untuk umi tercinta, orang terhebat dalam hidupku, pembimbing yang selalu siap memberikan arahan di sela kesibukan dan kelelahan, saudara serta keluarga besarku, sahabat seperjuanganku, orang-orang yang pernah hadir dalam hidupku, serta Almamater tercinta”.

~~~~~

Motto Hidup

*“ Life with Love ”*

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas rahmat dan karunia Allah SWT sehingga penulis akhirnya dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul: “Pengaruh Ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  dan  $\text{Mn}^{2+}$  Terhadap Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* dari Saluran Pencernaan Rayap”. 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 bapak **Prof. Hermansyah, M.Si., Ph.D** yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan, motivasi, saran dan petunjuk kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

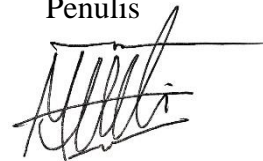
1. Bapak Prof. Hermansyah, M.Si., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya
2. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya
3. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya
4. Ibu Dr. Ferlinahayati, M. Si., Ibu Dr. Desnelli, M.Si selaku pembahas.dan penguji sidang sarjana.
5. Seluruh Dosen FMIPA Kimia Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu, mendidik dan membimbing selama masa kuliah.

6. Ibu Siti Nuraini, S.T., Ibu Yuniar, S.T. M. Sc., dan Ibu Hanida Yanti, A. Md. selaku analis di Laboratorium Kimia yang selalu membantu dalam hal administrasi fasilitas laboratorium keperluan tugas akhir.
7. Ayuk Dwita dan Kak Getari selaku pembimbing yang selalu membantu penelitian.
8. Kepada Umi tercinta yang selalu mendoakan, memberikan segala dukungan dan bantuan terutama ketika penulis sedang berada di titik terendah serta kepada seluruh saudaraku yang senantiasa mendoakan dan memberikan semangat kepada penulis. Tanpa mereka penulis tidak akan bisa bertahan hingga tahap ini.
9. Kepada seluruh keluarga besar yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
10. Mbak Novi dan Kak Chosiin selaku Admin Jurusan Kimia yang banyak membantu dalam proses perkuliahan hingga tugas akhir.
11. Semy azi sahabat jauh di UNTIRTA yang selalu memberi masukan, saran bantuan dan selalu memotivasi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir dan memperoleh gelar sarjana.
12. Rolis kawan TA dan kawan ribut dilab, terimakasih sudah membantu penelitian, selalu mengingatkan dalam penelitian dan berbagi ilmu biokimia selama penelitian tugas akhir.
13. Devi teman satu P.A yang baik hati selalu membantu, menyemangati, mengingatkan penulis selama kuliah. Tetap menjadi orang baik dimanapun berada dan semoga tidak mejadi manusia yang overthinking lagi.
14. Ka apres orang hebat yang telah memberi banyak pelajaran, sharing ilmu, membantu penulis dalam penelitian semoga menjadi orang sukses.
15. Teman-teman penelitian tugas akhir biokimia, fiud, litya, tiur, prof ibal, bening, reza dan sefira, terimakasih telah membantu , berbagi ilmu selama penelitian tugas akhir.
16. Adek-adek penelitian biokimia, Iqbal, agung, Jefri, Kelly, Ragil, Eli, Ocha dan Venan.



17. Dini, Siska, Silvana dan Della yang selalu menghibur dan memberikan warna setiap harinya di laboratorium Biokimia.
18. Teman-teman angkatan 2018 dengan beragam karakter yang telah memberikan banyak warna selama perkuliahan.
19. Kakak-kakak angkatan 2015, 2016, 2017 yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran kepada penulis baik selama praktikum maupun diluar waktu kuliah. Serta adik-adik angkatan 2019, 2020 dan 2021 yang ikut mewarnai hari-hari penulis selama kuliah
20. Untuk semua orang yang pernah hadir dalam hidup penulis, memberikan banyak pelajaran kepada penulis sehingga penulis bisa menjadi sosok seperti sekarang.

Penulis



Mahdi

NIM.08031181823104

## RINGKASAN

### **PENGARUH ION $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$ , dan $\text{Mn}^{2+}$ TERHADAP AKTIVITAS ENZIM SELULASE YANG DIHASILKAN BAKTERI *Enterobacter cloacae* DAN *Klasiella quasipneumoniae* DARI SALURAN PENCERNAAN RAYAP**

Mahdi: Dibimbing oleh Prof. Hermansyah Ph.D. dan Dra. Julinar, M.Si  
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

x + 59 halaman, 2 tabel, 8 gambar, 13 lampiran

Rayap mampu mendegradasi selulosa karena pada usus rayap terdapat bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik dari saluran pencernaan telah berhasil diisolasi oleh penelitian sebelumnya, dua diantaranya *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* dipilih untuk produksi enzim selulase karena memiliki indeks selulolitik lebih baik sebesar 2,0. Ion-ion logam mempengaruhi aktivitas enzim dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor. Oleh karena itu penelitian penambahan ion logam terhadap enzim selulase perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim selulase. Ekstrak enzim selulase dari *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* diperoleh dengan proses sentrifugasi kultur cair bakteri 10.000 rpm, suhu 4 °C. Enzim selulase ekstrak kasar selanjutnya difaksinasi dengan ammonium sulfat dan didialisis. Hasil fraksi enzim selulase dengan aktivitas spesifik tertinggi digunakan untuk menentukan pengaruh pH, suhu dan ion logam. Aktivitas enzim selulase ditentukan dengan menggunakan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible.

Fraksi enzim selulase dengan aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada fraksi 40 – 60%. Aktivitas enzim selulase untuk bakteri *E. cloacae* sebesar 0,0207 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,0060 U/mg, sedangkan aktivitas enzim selulase bakteri *K. quasipneumoniae* 0,0224 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,0067 U/mg. Aktivitas enzim selulase dari *E. cloacae* diperoleh aktivitas optimum sebesar 0,0313 U/mL pada pH 5, sedangkan enzim selulase dari *K. quasipneumoniae* memperoleh aktivitas optimum sebesar 0,0321 U/mL pada pH 6. Enzim selulase dari bakteri *E. Cloacae* bekerja optimum pada suhu 40 °C dengan aktivitas enzim selulase 0,0363 U/mL dan bakteri *K. quasipneumoniae* bekerja optimum pada suhu 45 °C dengan aktivitas enzim selulase 0,0380 U/mL. Enzim selulase dari bakteri *E. cloacae* dan *K. quasipneumoniae* diperoleh aktivitas tertinggi dengan penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$  5 mM dengan aktivitas enzim selulase 0,0449 U/mL dan 0,0455 U/mL. Penambahan ion  $\text{Mn}^{2+}$  5 mM terhadap enzim selulase dari bakteri *E. cloacae* dan *K. quasipneumoniae* tidak mempengaruhi secara signifikan aktivitas enzim selulase dengan aktivitas enzim selulase 0,0394 U/mL untuk bakteri *E. cloacae* dan 0,0395 U/mL untuk bakteri *K. quasipneumoniae*. Penambahan ion  $\text{Fe}^{3+}$  5 mM menurunkan aktivitas enzim selulase dari bakteri *E. cloacae* dan *K. quasipneumoniae* dengan aktivitas enzim 0,0182 U/mL dan 0,0170 U/mL.

**Kata kunci:** Enzim Selulase, *Enterobacter cloacae*, *Klasiella quasipneumoniae*, aktivitas enzim selulase, ion logam.

## SUMMARY

### THE EFFECT OF $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$ , AND $\text{Mn}^{2+}$ IONS ON CELLULASE ENZYME ACTIVITY PRODUCED BY BACTERIA *Enterobacter cloacae* AND *Klasiella quasipneumoniae* FROM THE TERMITE DIGESTIVE TRACT

Mahdi: Supervised by Prof. Hermansyah, Ph.D dan Dra. Julinar M.Si  
Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,  
Sriwijaya University  
x + 59 Pages, 2 tables, 8 pictures, 13 attachments

Termites are able to degrade cellulose because in the termite intestine there are cellulolytic bacteria. Cellulolytic bacteria from the gastrointestinal tract have been successfully isolated by previous studies, two of which are *Enterobacter cloacae* and *Klasiella quasipneumoniae* selected for the production of cellulase enzymes because they have a better cellulolytic index of 2,0. Metal ions can effect enzyme activity as activator and inhibitor. Therefore research on the additional of metak ions to cellulase enzyme needs to be carried out to determine its effect on cellulase enzyme activity. Crude extracts of cellulase enzyme from *Enterobacter cloacae* and *Klasiella quasipneumoniae* were obtained by centrifugation of culture bacteria at 10.000 rpm, temperature 4 °C. The crude extract of the cellulase enzyme was then fractioned with ammonium sulfate and dialyzed. The results of the cellulase enzyme fraction with the highest specific activity are used to determine the effect of pH, temperature and metal ions. The activity of the cellulase enzyme was determined using the 3,5–dinitrosalicylic acid (DNS) method and measured with a UV-Vis spectrophotometer.

The cellulase enzyme fraction with the highest specific activity is obtained at a fraction of 40–60%. The cellulase enzyme activity for *E. cloacae* bacteria was 0.0207 U/mL with a specific activity of 0.0060 U/mg, while the bacterial cellulase enzyme activity *K. quasipneumoniae* was 0.0224 U/mL with a specific activity of 0.0067 U/mg. The cellulase enzyme activity of *E. cloacae* obtained optimum activity of 0.0313 U/mL at pH 5, while the cellulase enzyme from *K. quasipneumoniae* obtained optimum activity of 0.0321 U/mL at pH 6. The cellulase enzyme of *E. Cloacae* bacteria works optimally at a temperature of 40 °C with cellulase enzyme activity of 0.0363 U/mL and *K. quasipneumoniae* works optimally at a temperature of 45 °C with cellulase enzyme activity of 0.0380 U/mL. The cellulase enzyme from the bacteria *E. cloacae* and *K. quasipneumoniae* obtained the highest activity by the addition of  $\text{Ca}^{2+}$  5 mM ions with cellulase enzyme activity of 0.0449 U/mL and 0.0455 U/mL. The addition of  $\text{Mn}^{2+}$  5 mM ions to the cellulase enzyme from the bacteria *E. cloacae* and *K. quasipneumoniae* did not significantly affect the activity of the cellulase enzyme with cellulase enzyme activity of 0.0394 U/mL for *E. cloacae* bacteria and 0.0395 U/mL for *K. quasipneumoniae* bacteria. The addition of 5 mM  $\text{Fe}^{3+}$  ions decreases cellulase enzyme activity from *E. cloacae* and *K. quasipneumoniae* bacteria with enzyme activity of 0.0182 U/mL and 0.0170 U/mL.

**Keywords:** Cellulase Enzyme, *Enterobacter cloacae*, *Klasiella quasipneumoniae*  
Cellulase Enzyme Activity, Metal Ions.

## DAFTAR ISI

|                                                         | <b>Halaman</b> |
|---------------------------------------------------------|----------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                              | <b>i</b>       |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>                          | <b>ii</b>      |
| <b>RINGKASAN .....</b>                                  | <b>iii</b>     |
| <b>SUMMARY .....</b>                                    | <b>iv</b>      |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                  | <b>v</b>       |
| <b>DAFTAR TABEL.....</b>                                | <b>vii</b>     |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                               | <b>viii</b>    |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                            | <b>ix</b>      |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                           | <b>1</b>       |
| 1.1 Latar Belakang .....                                | 1              |
| 1.2 Rumusan masalah .....                               | 2              |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                             | 2              |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                            | 3              |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                     | <b>4</b>       |
| 2.1 Rayap .....                                         | 4              |
| 2.2 Bakteri Selulolitik.....                            | 5              |
| 2.2.1 Bakteri <i>Enterobacter cloaceae</i> .....        | 6              |
| 2.2.2 Bakteri <i>Klasiella quasipneumoniae</i> .....    | 6              |
| 2.3 Selulosa.....                                       | 6              |
| 2.4 Enzim .....                                         | 8              |
| 2.4.1 Definisi Enzim.....                               | 8              |
| 2.4.2 Klasifikasi Enzim .....                           | 8              |
| 2.4.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim ..... | 9              |
| 2.5 Enzim selulase .....                                | 11             |
| 2.6 Fraksinasi Ammonium Sulfat .....                    | 12             |
| 2.7 Dialisis .....                                      | 12             |
| 2.8 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase Metode DNS ..... | 13             |
| 2.9 Spektrofotometer Ultraviolet – Visible.....         | 14             |
| <b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>              | <b>16</b>      |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....                   | 16             |

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2 Alat dan Bahan.....                                                                                              | 16        |
| 3.2.1 Alat.....                                                                                                      | 16        |
| 3.2.2 Bahan.....                                                                                                     | 16        |
| 3.3 Prosedur Penelitian .....                                                                                        | 16        |
| 3.3.1 Pembuatan Media CMC Agar .....                                                                                 | 16        |
| 3.3.2 Pembuatan Media CMC Cair .....                                                                                 | 17        |
| 3.3.3 Peremajaan Isolat Bakteri.....                                                                                 | 17        |
| 3.3.4 Produksi Enzim Selulase Kasar.....                                                                             | 17        |
| 3.3.5 Pembuatan Kurva Standar BSA .....                                                                              | 17        |
| 3.3.6 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Biuret .....                                                             | 18        |
| 3.3.7 Fraksinasi Ammonium Sulfat.....                                                                                | 18        |
| 3.3.8 Dialisis.....                                                                                                  | 18        |
| 3.3.9 Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....                                                                           | 19        |
| 3.3.10 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase.....                                                                       | 19        |
| 3.3.11 Pengaruh pH .....                                                                                             | 19        |
| 3.3.12 Pengaruh Suhu .....                                                                                           | 19        |
| 3.3.13 Pengaruh Penambahan Kation .....                                                                              | 20        |
| 3.3.14 Analisis Data .....                                                                                           | 20        |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>                                                                              | <b>22</b> |
| 4.1 Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Bakteri <i>Enterobacter cloacae</i> dan <i>Klasiella quasipneumoniae</i> ..... | 22        |
| 4.2 Fraksi - fraksi Ammonium Sulfat Enzim Selulase .....                                                             | 23        |
| 4.3 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....                                                              | 25        |
| 4.4 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Selulase.....                                                             | 26        |
| 4.5 Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim Selulase.....                                                        | 27        |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                                                              | <b>30</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                                                 | 30        |
| 5.2 Saran .....                                                                                                      | 30        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                                                          | <b>31</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                                                                                                 | <b>36</b> |

## DAFTAR TABEL

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Ekstrak Kasar.....     | 27 |
| Tabel 2 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase Hasil Fraksinasi ..... | 28 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 1. Rayap.....                                                                                                      | 4  |
| Gambar 2. Struktur Selulosa .....                                                                                         | 7  |
| Gambar 3. Reaksi Reagen DNS dengan Glukosa .....                                                                          | 22 |
| Gambar 4. Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari bakteri <i>E. cloacae</i> dan<br><i>K. quasipneumoniae</i> .....              | 22 |
| Gambar 5. Aktivitas Enzim Selulase Hasil Fraksinasi dari Bakteri<br><i>E. cloacae</i> dan <i>K. quasipneumoniae</i> ..... | 24 |
| Gambar 6. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Selulase.....                                                              | 25 |
| Gambar 7. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....                                                           | 26 |
| Gambar 8. Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....                                                      | 28 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1. Skema Kerja .....                                                                                 | 37 |
| Lampiran 2. Pembuatan Larutan .....                                                                           | 38 |
| Lampiran 3. Data Absorbansi Kurva Standar Glukosa .....                                                       | 41 |
| Lampiran 4. Data Aktivitas Enzim Selulase ekstrak Kasar dan<br>Contoh Perhitungan .....                       | 42 |
| Lampiran 5. Jumlah Penambahan Ammonium Sulfat Tiap Fraksi .....                                               | 44 |
| Lampiran 6. Kejenuhan Ammonium Sulfat .....                                                                   | 46 |
| Lampiran 7. Data Aktivitas Enzim Selulase Hasil Fraksinasi dan<br>Contoh Perhitungan.....                     | 47 |
| Lampiran 8. Data Absorbansi Kurva Standar BSA .....                                                           | 49 |
| Lampiran 9. Contoh perhitungan dan Data Penentuan Kadar Protein dan<br>Aktivitas Spesifik.....                | 50 |
| Lampiran 10. Data Aktivitas Enzim Selulase pada Pengaruh pH dan Contoh<br>Perhitungan.....                    | 52 |
| Lampiran 11. Data Aktivitas Enzim Selulase pada Pengaruh Suhu dan<br>Contoh perhitungan.....                  | 54 |
| Lampiran 12. Data Aktivitas Enzim Selulase pada Pengaruh Penambahan<br>Ion Logam dan Contoh Perhitungan ..... | 56 |
| Lampiran 13. Lampiran Gambar.....                                                                             | 65 |



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rayap merupakan serangga yang termasuk ke dalam ordo Isopetra. Rayap yang dianggap sebagai hama berasal dari dua famili rayap tanah yaitu Rhinotermitidae dan Termitidae. Rayap ini menyerang kayu dan merusak bangunan secara luas (Savitri dkk, 2016). Meskipun rayap dianggap sebagai hama, rayap juga memiliki fungsi ekologis. Rayap mengkonsumsi 50-100% biomassa dengan 74-99% selulosa dan 65-87% hemiselulosa (Sharma et al., 2015). Rayap mampu menghidrolisis selulosa seperti yang terdapat pada kayu dan serasah. Rayap harus menyediakan enzim selulolitik untuk mencerna selulosa yaitu selulase yang dihasilkan rayap itu sendiri. Rayap mengandung beragam bakteri dalam saluran pencernaannya, yaitu bakteri selulolitik (Ferbiyanto dkk, 2016). Bakteri inilah yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan enzim selulase.

Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan di dalam sel kemudian dikeluarkan ke dalam media tumbuhnya (Rahayu, 2014). Enzim selulase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik yang tumbuh pada substrat yang mengandung selulosa (Idiawati dkk, 2014). Enzim selulase yang diproduksi dengan menggunakan mikroorganisme lebih banyak digunakan dari pada dari tanaman atau hewan karena mikroorganisme dapat memperbanyak diri dengan cepat, pertumbuhan relatif cepat, enzim yang dihasilkan lebih tinggi sehingga ekonomis digunakan untuk industri dan enzim yang dihasilkan lebih stabil (Nababan dkk, 2019). Oktiarni (2021), telah mengisolasi 64 bakteri selulolitik dari saluran pencernaan rayap lahan gambut, dua diantaranya *Enterobacter cloacae* dan *Klasiella quasipneumoniae* yang memiliki indeks selulolitik yang lebih baik dengan nilai indeks selulolitik sebesar 2.0 sehingga dapat digunakan untuk memproduksi enzim selulase.

Ion-ion logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim baik berperan sebagai aktivator maupun inhibitor. Ion logam seperti, ion  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ , dan  $Co^{2+}$  berperan sebagai aktivator enzim selulase. Ion  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ , dan  $Pb^{2+}$

berperan sebagai inhibitor enzim selulase, ion  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  dan  $Cu^{2+}$  dapat berperan sebagai inhibitor dan aktivator terhadap enzim selulase (Pereira *et al*, 2017). Penelitian Oliviani (2019), menyatakan enzim selulase yang dihasilkan isolat bakteri P12 aktif pada penambahan ion  $KCl$ ,  $CaCl_2$  dan  $MnCl_2$  dengan aktivitas tertinggi 0,099 U/mL. Pengaruh ion-ion tersebut berbeda-beda bergantung pada jenis enzim dan asal enzim tersebut diperoleh. Oleh karena itu, pengaruh penambahan ion-ion logam terhadap aktivitas enzim selulase penting dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim selulase yang diperoleh dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae*.

### 1.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana aktivitas enzim selulase ekstrak kasar dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap ?
2. Bagaimana aktivitas enzim selulase hasil fraksinasi dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap ?
3. Bagaimana pengaruh penambahan ion  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  dan  $Mn^{2+}$  terhadap aktivitas enzim selulase dari Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas enzim selulase ekstrak kasar dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap.
2. Menentukan aktivitas enzim selulase hasil fraksinasi dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae*. yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap.
3. Mengetahui pengaruh penambahan ion  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  dan  $Mn^{2+}$  terhadap aktivitas enzim selulase dari Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* .

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memperoleh sumber enzim selulase yang diperoleh dari Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* yang diperoleh dari saluran pencernaan rayap.
2. Memperoleh informasi tentang aktivitas enzim selulase ekstrak kasar dari Bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Klebsiella quasipneumoniae* saluran pencernaan rayap dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa.
3. Memperoleh informasi tentang ion-ion logam yang mampu meningkatkan aktivitas enzim selulase dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baharuddin, M., Patong, A.R., Ahmad, A dan Nafie, N.L. 2014. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Hidrolisis CMC Oleh Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Larva Kupu-Kupu *Cossus cossus*. *Jurnal Teknosains*. 8(3): 343-353.
- Brisse, S., Passet, V and Grimont, P.A.D. 2014. Description of *Klasiella quasipneumoniae* sp. nov., Isolated from Human Infections, with Two Subspecies, *Klasiella quasipneumoniae* Subsp. *Similipneumonia* subsp. Nov., and Demonstration that *Klasiella singaporensis* is a Junior Heterotypic Synonym of *Klasiella variicola*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64: 3146-3152.
- Fallo, G. and Yuni, S. 2016. Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*. 1 (2) : 27-29.
- Ferbiyanto, A., Rusman, I and Rafiudin, R. 2016. Characterization and Identification of Cellulolytic Bacteria from gut of Worker *Macrotermes gilvus*. *Hayati Journal Biosciences*. 1-4.
- Glazer A.N and Hiroshi N. 2007. *Microbial Biotechnology*. Fundamentals of Applied Microbiology. Cambridge University Press.
- Hasanah, N. dan Saskiawan, I. 2015. Aktivitas Selulase Isolat Jamur dari Limbah Media Tanam Jamur Merang. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(5): 1110-1115.
- Idiawati, N., Harfinda, E.M dan Arianie, L. 2015. Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu. *Jurnal Sains*. 13(3): 33-38.
- Irawati, R. 2016. *Karakterisasi pH, Suhu, dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh Bacillus cisculans*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q and Nadeem, M. 2012. Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity. *Turkish Journal of Biochemistry*. 37(3): 287-293.
- Kodri., Argo, B.D dan Yulianingsih, R. 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Biokomoditas Tropis*. 1(1): 36-43.
- Kurniawati, L., Kusdiyantini, E dan Wijanarka. 2019. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal Akademika Biologi*. 18(1): 1-9.

- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I*. Jakarta: Airlangga.
- Listyaningrum dan Prawesti, I. 2017. *Isolasi dan Karakteristik Enzim Selulase dari Bacillus sp. 13843 B15 dan Bacillus licheniformis C55*. Tesis Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.
- Lokapirnasari, W.P., Nazar, D.S., Nurhajati, T. Supranianondo, K and Yulianto, A.B. 2015. Production and Assay of Cellulolytic Enzyme Activity of Enterobacter Cloacae WPL 214 Isolated from Bovine Rumen Fluid Waste of Surabaya Abbatoir, Indonesia. *Veterinary World*. 8 : 367-371.
- Meryandini, A., Asma, R dan Silaban, M. 2010. Uji Aktivitas Enzim Selulolitik dari Bekicot Achatina fulica pada Beberapa Substrat Limbah Pertanian. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*. 4(1): 1-12.
- Mokodompit, A., Ngangi, J dan Moko, E.M. 2020. Karakterisasi Enzim Selulase Isolat Bakteri pada Saluran Pencernaan Rayap Rayap *Odontotermes javanicus*. *Jurnal Ilmu Hayati*. 1(2): 47-54.
- Mulyadi, I. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Selulosa. *Jurnal Saintika UNPAM*. 1(2):177-182.
- Murtiyaningsih, H. dan Hazmi, M. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Jurnal Agritrop*. 15(2): 293-308.
- Nababan, M., Gunam, W dan Wijaya, I.M.M. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(2): 190-199.
- Nurhajati, T., Soprnianodo., K dan Lokapirnasari, W.P. 2011. Uji Aktivitas Pertumbuhan *Enterobacter cloacae* Selulolitik Aerob Rumen-1 Isolat Asal Limbah cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner*. 17(3): 383-388.
- Octavia, S., Kalisvar, M., Venkatachalam, I., et al. 2019. *Klasiella quasipneumonia* and *Klasiella quasipneumoniae* Define the Population structure of Bla<sub>KPC-2</sub> *Klasiellai*: a 5 Year Retrospective Genomic Study in Singapore. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 74: 3205-3210.
- Oktiarni, D., Hasanudin., Hermansyah dan Miksusanti. 2022. Diversity of Cellulolytic Bacteria from *Macrotermes gilvus* gut isolated from Indralaya Peatland Region, Indonesia. *Biodiversitas*. 23(1): 486-495.
- Oktiarni, D., Hermansyah., Hasanudin., Miksusanti., Nofyan, E Kasmiarti, G. 2021. *Isolation and Identification Cellulolytic Bacteria from Termite Gut Obtained from Indralaya Peatland Area*. Conference Series: Earth and Environmental Science. Palembang.

- Oliviani, K. 2019. *Identifikasi Bakteri dan Karakterisasi Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Selulolitik P12 Asal Mata Air Gunung Merapi*. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Omposunggu, H.E.S., Juwita., dan Silaban, R. 2013. Kajian Biomedik Enzim Amilase dan Pemanfaatannya dalam Industri. *Jurnal Pendidikan Kimia*. 182-191.
- Pereira, J.D.C., Giese, E.C., Moretti, M.M.D.S., et al. 2017. Effect of Metal Ions, Chemical Agents and Organic Compounds on Lignocellulolytic Enzymes Activities. *Intech*. 141-151.
- Putri, S. 2016. *Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan oleh Lactobacillus plantarum pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim: Malang.
- Rahmadini, I. 2012. Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Selulase yang Diisolasi dari Limbah Rumput Laut. Disertasi. Insitut Pertanian Bogor.
- Ratnayani, O., Yulianthi, P.E dan Wirajana, I.N. 2021. Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik dengan Ammonium Sulfat dan Amobilasi pada Agar-agar Komersial. *Indonesia Journal of Applied Chemistry*. 9(1): 1-9.
- Regli, A.D. and Pages, J.M. 2015. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; Versatile Bacterial Pathogens Confronting Antibiotic Treatment. *Frontiers in Microbiology*. 6: 1-10.
- Rosmania dan Yanti, F. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometer. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2): 76-86.
- Sari, S.L.A., Triyanto., Zuprizal and Prijambada, I. D. 2021. Cellulytic and Mannanolytic Aerobic Bacteria Isolated from Buffalo Rumen (*Bubalus babalis*) and its Potensi to Degrade Fiber in palm Kernel Meal. *Biodiversitas*. 22: 2829-2837.
- Saropah, D.A., Jannah, A dan Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *ALCHEMY*. 2(1): 34-45.
- Satioko, T.R., Wahyuni, S dan Santoso, N.B. 2013. Pemanfaatan Bagas Limbah Pabrik Gula Jatibarang Brebes Menjadi Bioetanol. *Indonesian Journal of Science*. 2(3): 208-211.
- Savitri, A., Martini dan Yuliawati, S. 2016. Keanekaragaman Jenis Rayap Tanah dan Dampak Serangga pada Bangunan Rumah di Perumahan Kawasan Mijen Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(1): 100-105.

- 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.
- Sharma, D., Joshi, B., Bhatt, M.R., Joshi, J., Malla, R dan Bhattarai, T. 2015. Isolasi Organisme Selulolitik dari Isi Usus Rayap Asli Nepal dan Kegunaanya dalam Sakarifikasi dan Fermentasi Biomassa Lignoselulosa. *Jurnal Biomassa Biofuel*. 2: 11-20.
- Sher, H., Muhammad, F., Abdul, G and Rashid, M. 2017. Optimization of Celullase Enzyme Production from *Aspergillus oryzae* for Industrial Application. *World Journal of Biology and Biotechnology*. 2(2): 155-158.
- Sheti, S., Aparna, D.B., Lal, G and Saksham, G. 2013. Optimization of Cellulase Production from Bacteria Isolated from Soil. *Journal ISRN Biotechnology*. 7. 1-8.
- Sinatari, H.M., Aminin, A.L.N dan Sarjono, P. R. 2013. Pemurnian Selulase dari Isolat KB Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Ammonium Sulfat. *Chem Info*. 1(1): 130-140.
- Sivakumar, N., Amira, A.Z., Saif, A.I.B., Abdulkhadir, E and Elsadig, A.E. 2016. Isolation and Charazteritaton of Cellulolytic *Bacillus licheniformis* from Compost. *African Journal of Biotechnology*. 15(43): 2434-2446.
- Stryer, L., Tymozko, J.L. and Berg, J.M. 2002. *Biochemistry*. New York: WH Freeman.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometer Uv-Vis dan Spektrofotometer Massa untuk Penentuan Senyawa Organik*. Lampung: AURA.
- Suhito, I. M. 2016. Ekstraksi, Purifikasi, dan Karakterisasi Alkalin Protease dari Limbah Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizu*). *Skripsi*. Universitas Surabaya: Surabaya.
- Sukoco, D., Fikrinda dan Hifnalisa. 2020. Eksplorasi Bakteri Selulolitik pada Ekosistem Mangrove. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 5(3): 35-42.
- Sulistyowati, E., Saalirawati, D. dan Amanatie. 2016. Karakterisasi Beberapa Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim Tripsin. *Jurnal Penelitian Saintek*. 21(2): 107-120.
- Sulyman, A.O., Igunnu, A. dan Malomo, S.O. 2022. Effect of Metal Ions on the Activity of Cellulase Produced by *Aspergillus niger* Using *Arachis hypogaea* Shells. *Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 37(1): 58-63.
- Taylor, K.B. 2004. *Enzyme Kinetics and Mechanisms*. Kluwer Academic Publishers.

- Tejirian, A and Xu, F. 2010. Inhibition of Cellulase Catalyzed Lignocellulosic Hydrolysis by Iron and Oxidative Metal Ions and Complexes. *Appl Environ Microbiol.* 76(23): 7673-7682.
- Wahyuni, S. 2017. *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Sulawesi: Unimal Press.
- Wang, M., Mu, Z., Wang, J., et al. 2013. The Identification of and Relief from Fe<sup>3+</sup> Inhibition for Both Cellulose and Cellulase in Cellulose Sacarification Catalysed by Cellulases from *Penicillium decumbens*. *Bioresource Technology.* 133. 507-512.
- 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.
- Warono, D dan Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Konversi.* 2(2): 57-65)
- Wibawa, A.A.P.P. 2019. *Bahan Ajar Biokimia Karbohidrat* (E-book). Universitas Udayana. Tersedia pada <https://simdos.unud.ac.id> diakses pada tanggal 16 Juli 2022.
- Wiesman, A. 1975. *Enzyme Biotechnology*. New York: Jhon Willey an Sons Inc.