

**UJI AKTIVITAS DAN PENENTUAN SUBSTRAT OPTIMUM
EKSTRAK ENZIM AMILASE DAN PROTEASE
DARI BAKTERI *Bacillus cereus***



Oleh:

Navendra Anjani Putri

23175037A

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

Desember 2020

**UJI AKTIVITAS DAN PENENTUAN SUBSTRAT OPTIMUM
EKSTRAK ENZIM AMILASE DAN PROTEASE
DARI BAKTERI *Bacillus cereus***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)

Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh:

Navendra Anjani Putri

23175037A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
Desember 2020**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

UJI AKTIVITAS DAN PENENTUAN SUBSTRAT OPTIMUM EKSTRAK ENZIM AMILASE DAN PROTEASE DARI BAKTERI *Bacillus cereus*

Oleh :

**Navendra Anjani Putri
23175037A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Pengujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 21 Juli 2021

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc

Pembimbing.



Dr. Ana Indrayati, M.Si

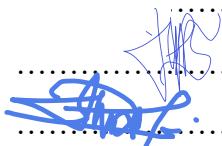
Pembimbing Pendamping,



Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M. Sc

Pengujian :

1. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si
2. Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si
3. apt. Jena Hayu Widyasti, S.Farm., M.Farm
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil dari pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 16 Juni 2021



Navendra Anjani Putri

PERSEMBAHAN

QS. Al – Insyirah: 5-6

“Maka sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya beserta
kesulitan itu ada kemudahan.”

Imam Asy – Syafi’i

“Jika kamu tak sanggup menahan lelahnya belajar, maka kamu harus sanggup
menahan perihnya kebodohan.”

Bismillahirrohmanirrohim,

Dengan penuh rasa syukur, saya dapat menyelesaikan karya ini, dan semoga ini bisa menjadi awal keberhasilan dan kesuksesan dari masa depan saya. Oleh karena itu, saya persembahkan karya ini kepada:

1. Allah SWT terima kasih atas segala nikmat, rezeki, kesabaran, dan keikhlasan yang telah Engkau berikan.
2. Keluarga tercinta terutama Papa, Mama, Nenek, Mas Mahendra, Mbak Sukma, Dek Kai yang selalu mendoakan dan selalu memberi motivasi dalam segala hal.
3. Dr. Ana Indrayati, M. Si dan Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M. Sc selaku dosen pembimbing yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi, pengarahan ataupun masukan sehingga tercapainya karya ini.
4. Nurhaliza Ayu Wulandari sebagai tim peneliti saya yang telah membantu dan memberikan motivasi selama menempuh skripsi ini.
5. Para sahabat sedari SMA yaitu Ade, Anggi, Bella, Billa, Imma, Retsi yang selalu memberikan bantuan dan dukungan kepada saya dalam penelitian ini.
6. Rizka dan Renno serta Teman – teman Teori 1 Farmasi 2017
7. Semua teman – teman S1 Farmasi Angkatan 2017.
8. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya yang begitu besar yang selalu menyertai penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**“UJI AKTIVITAS DAN PENENTUAN SUBSTRAT OPTIMUM EKSTRAK ENZIM AMILASE DAN PROTEASE DARI BAKTERI *Bacillus cereus*”**”. Skripsi ini disusun sebagai hasil dari proses pembelajaran dan sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. Apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M. Si, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta nasehat dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M. Sc, selaku pembimbing pendamping yang memberikan bimbingan, arahan, motivasi, serta nasehat dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini
5. Segenap karyawan laboratorium Universitas Setia Budi dan Universitas Sebelas Maret yang telah membimbing dan membantu selama proses praktikum skripsi ini.
6. Dosen dan karyawan serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Tim penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang membangun untuk perbaikan skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu yang selalu mendengarkan keluh kesahku, memberikan doa, kasih sayang, semangat, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini, serta mendukung baik secara moril maupun materil.

9. Saudara dan sahabat-sahabatku yang selalu memberi semangat dan selalu mendukung penuh serta saling memberikan motivasi satu sama lain.
10. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu tersusunnya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini jauh dari sempurna. Maka dari itu, penulis memohon kritik, saran, dan masukan dari pembaca yang bersifat membangun karena bisa bermanfaat bagi kami, penulis demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membaca.

Surakarta, 24 Mei 2021



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN LOGO UNIVERSITAS	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN JUDUL.....	iv
PERNYATAAN.....	iv
PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRACT	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Ekosistem hutan mangrove.....	Error! Bookmark not defined.
B. Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	4
1. <i>Klasifikasi Bacillus cereus</i>	5
2. Morfologi	5
3. Patogenesis	5
4. Sifat biokimiawi	6
C. Enzim	6
1. Pengertian enzim	6
2. Sifat enzim.....	6
3. Klasifikasi enzim	7
4. Kofaktor	8
5. Cara kerja enzim.....	9
6. Factor – factor yang mempengaruhi kerja enzim	11

D.	Isolasi enzim.....	13
E.	Protease	14
F.	Amilase	16
G.	Media	19
H.	Metode pengukuran kadar Lowry.....	19
I.	Landasan Teori.....	20
J.	Hipotesis	21
	BAB III METODE PENELITIAN.....	23
A.	Populasi dan Sampel.....	23
1.	Populasi	23
2.	Sampel.....	23
B.	Variabel Penelitian	23
1.	Identifikasi variabel utama	23
2.	Klasifikasi variabel utama	23
3.	Definisi Operasional Variable Utama	24
C.	Alat dan Bahan	24
1.	Alat.....	24
2.	Bahan	25
D.	Jalannya Penelitian	25
1.	Sterilisasi	25
2.	Peremajaan bakteri	25
3.	Identifikasi bakteri.....	26
4.	Produksi ekstrak kasar enzim <i>Bacillus cereus</i>	28
5.	Pemurnian ekstrak kasar enzim protease dan amilase <i>Bacillus cereus</i> dengan metode ammonium sulfat	29
6.	Pengukuran kadar ekstrak enzim amilase dan protease menggunakan metode Lowry	29
7.	Uji aktivitas ekstrak enzim protease dan amilase.....	30
E.	Analisa Data	31
F.	Skema Penelitian	32
	BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A.	Peremajaan bakteri <i>Bacillus cereus</i>	38
B.	Hasil identifikasi bakteri <i>Bacillus cereus</i>	38
1.	Identifikasi makroskopis dengan media BCA.....	38
2.	Pewarnaan Gram	40

3.	Pewarnaan endospora	40
4.	Identifikasi dengan pengujian katalase	41
5.	Uji koagulase	42
6.	Uji fermentasi karbohidrat	43
7.	Skrining enzim protease secara kualitatif	44
8.	Skrining enzim amilase secara kualitatif	45
C.	Ekstraksi enzim protease dan amilase dari bakteri <i>Bacillus cereus</i>	46
D.	Pemurnian ekstrak kasar enzim dengan metode ammonium sulfat.....	48
E.	Pengukuran kadar ekstrak enzim amilase dan protease dengan metode Lowry	49
F.	Pengujian aktivitas ekstrak enzim protease dan amilase secara kuantitatif ..	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		59
1.	Kesimpulan.....	60
2.	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA		61
LAMPIRAN – LAMPIRAN		71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Hutan Mangrove <i>Rizophora sp</i>	4
Gambar 2. Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	6
Gambar 3. Teori <i>Lock and Key</i>	12
Gambar 4. Teori <i>Induced Fit</i>	12
Gambar 5. Cara inhibitor mengganggu pengikatan substrat enzim.....	13
Gambar 6. Grafik pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi.....	14
Gambar 7. Struktur kompleks pati dan iodine.....	19
Gambar 8. Skema alur penelitian.....	33
Gambar 9. Skema produksi enzim amilase.....	34
Gambar 10. Skema produksi enzim protease.....	35
Gambar 11. Skema uji aktivitas enzim protease.....	36
Gambar 12. Skema uji aktivitas enzim amilase.....	37
Gambar 13. Hasil peremajaan bakteri.....	39
Gambar 14. Hasil identifikasi makroskopis.....	39
Gambar 15. Hasil identifikasi pewarnaan Gram.....	40
Gambar 16. Hasil identifikasi pewarnaan endospora.....	41
Gambar 17. Hasil identifikasi pengujian katalase.....	42
Gambar 18. Hasil identifikasi pengujian koagulase.....	43
Gambar 19. Media uji fermentasi karbohidrat sebelum perlakuan.....	44
Gambar 20. Hasil uji fermentasi karbohidrat.....	45
Gambar 21. Hasil skrining enzim protease secara kualitatif.....	46
Gambar 22. Hasil skrining enzim amilase secara kualitatif.....	47
Gambar 23. Kurva absorbansi standar BSA.....	51
Gambar 24. Kurva standar Glukosa.....	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	Hasil identifikasi uji fermentasi karbohidrat.....
Tabel 2.	44
Tabel 3.	Hasil ekstraksi enzim protease dan amilase.....
Tabel 4.	48
Tabel 5.	Hasil ekstraksi enzim setelah pemurnian.....
Tabel 6.	49
Tabel 7.	Nilai absorbansi seri konsentrasi BSA.....
Tabel 8.	51
	Data pengukuran kadar enzim.....
	52
	Hasil uji aktivitas enzim protease.....
	55
	Nilai absorbansi seri konsentrasi glukosa.....
	57
	Hasil uji aktivitas enzim amilase.....
	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman	
Lampiran 1.	Komposisi bahan pereaksi metode Lowry.....	71
Lampiran 2.	Absorbansi baku standar BSA.....	71
Lampiran 3.	Kurva standar BSA.....	72
Lampiran 4.	Absorbansi dan perhitungan kadar sampel.....	72
Lampiran 5.	Data absorbansi dan aktivitas enzim protease.....	73
Lampiran 6.	Perhitungan uji aktivitas protease.....	73
Lampiran 7.	Pembuatan larutan glukosa.....	74
Lampiran 8.	Absorbansi standar glukosa.....	75
Lampiran 9.	Kurva standar glukosa.....	75
Lampiran 10.	Data aktivitas enzim amilase.....	75
Lampiran 11.	Perhitungan aktivitas enzim amilase.....	76
Lampiran 12.	Hasil peremajaan bakteri bacillus cereus.....	77
Lampiran 13.	Hasil identifikasi bacillus cereus pada media bca.....	77
Lampiran 14.	Hasil pewarnaan gram.....	77
Lampiran 15.	Hasil pewarnaan endospora.....	78
Lampiran 16.	Hasil uji katalase.....	78
Lampiran 17.	Hasil uji koagulasi.....	78
Lampiran 18.	Hasil uji fermentasi glukosa.....	78
Lampiran 19.	Skrining kualitatif sebagai penghasil protease.....	79
Lampiran 20.	Skrining kualitatif sebagai penghasil amilase.....	79
Lampiran 21.	Media produksi enzim sebelum diinkubasi.....	79
Lampiran 22.	Media produksi enzim setelah diinkubasi.....	80
Lampiran 23.	Alat inkubator shaker.....	80
Lampiran 24.	Hasil sentrifugasi isolasi enzim amilase.....	80
Lampiran 25.	Alat magnetic stirrer.....	81
Lampiran 26.	Data hasil analisis statistika.....	82

ABSTRAK

PUTRI N. A., 2021, UJI AKTIVITAS DAN PENENTUAN SUBSTRAT OPTIMUM EKSTRAK ENZIM AMILASE DAN PROTEASE DARI BAKTERI *Bacillus cereus*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Enzim adalah biomolekul yang berfungsi sebagai katalis suatu reaksi. Terdapat dua jenis enzim berdasarkan peranannya yaitu enzim ekstraseluler dan enzim intraseluler. Enzim ekstraseluler adalah enzim yang bekerja diluar sel sedangkan intraseluler bekerja didalam sel. Beberapa enzim ekstraseluler yang paling banyak dibutuhkan adalah protease dan amilase. Enzim ekstraseluler seperti protease dan amilase dapat dihasilkan dari bakteri genus *Bacillus* salah satunya *Bacillus cereus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas enzim protease dan amilase pada bakteri *Bacillus cereus* hasil isolasi dari air hutan mangrove.

Pengujian aktivitas enzim dilaksanakan setelah mengendapkan enzim menggunakan amonium sulfat dengan konsentrasi 50% untuk masing – masing enzim. Uji aktivitas enzim protease dan amilase berbeda. Aktivitas protease diukur menggunakan metode Bergmeyer dan Grassl dengan menghitung absorbansi blanko, standar tirosin, dan sampel enzim menggunakan konsentrasi substrat kasein 1%; 1,5%; dan 2%. Uji aktivitas enzim amilase diukur dengan metode Bailey menggunakan reagen DNS dan konsentrasi substrat amilum sebesar 1%; 1,25%; 1,5% kemudian menghitung aktivitas enzim dengan mensubstitusikan absorbansi sampel enzim ke dalam persamaan kurva standar glukosa.

Bakteri *Bacillus cereus* memiliki aktivitas enzim ekstraseluler protease ditandai dengan terbentuknya zona jernih pada media SMA (*Skim Milk Agar*), sedangkan untuk amilase terdapat zona jernih di sekitar koloni setelah digenangi iodin pada media NA (*Nutrient Agar*) yang dicampur dengan amilum. Konsentrasi substrat yang paling baik untuk aktivitas enzim protease adalah 2% ($628,8 \times 10^{-3}$ U/mL), sedangkan konsentrasi substrat yang paling baik untuk aktivitas enzim amilase adalah 1,5% ($61,2 \times 10^{-3}$ U/mL).

Kata Kunci: *Bacillus cereus*, protease, amilase, aktivitas enzim

ABSTRACT

PUTRI N. A., 2021, EXTRACELLULAR ENZYME ACTIVITY TEST OF *Bacillus cereus* BACTERIA AS A PRODUCER OF PROTEASE AND AMYLASE ENZYMES, ESSAY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The enzyme is a biomolecular that can function as a catalyst in some reactions. There are two types of enzymes based on their role, namely extracellular enzymes and intracellular enzymes. Extracellular enzymes are enzymes that work the outside of a cell, while intracellular enzymes work the inside of a cell. Some of the most needed extracellular enzymes are proteases and amylase. Some bacteria of the genus *Bacillus* one of them are *Bacillus cereus*, can produce extracellular enzymes such as protease and amylase. This research aims to determine the proteases and amylase enzyme activity in *Bacillus cereus* bacteria isolated from mangrove forest water.

Enzyme activity was tested after precipitating the enzyme using ammonium sulfate with a concentration of 50% for each enzyme. There are differences between enzyme activity testing of protease and amylase. Bergmeyer and Grassl's method is used for protease activity tests by calculating the absorbance of the blank, tyrosine standard, and enzyme sample with 1%; 1,5%; 2% of casein substrate concentration. Bailey's method is used for amylase activity tests exerting DNS reagent and 1%; 1,25%; 1,5% of amylose substrate concentration and then enzyme activity calculated by substituting the absorbance of sample to glucose standard curve equation.

Bacillus cereus bacteria have extracellular protease enzyme activity characterized by the formation of clear zones in Sma media (Skim Milk Agar), while for amylase there is a clear zone around the colony after being eddydine in na (Nutrient Agar) media mixed with amyloid. The best concentration of substrates for protease enzyme activity is 2% (628.8×10^{-3} U/mL), while the best concentration of substrates for amylase enzyme activity is 1.5% (61.2×10^{-3} U/mL).

Keyword: *Bacillus cereus*, protease, amylase, enzyme activity

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Enzim merupakan beberapa kumpulan protein yang memiliki peran penting dalam proses metabolisme dalam tubuh manusia dan diketahui enzim bekerja secara spesifik. Diantara beberapa macam enzim, protease dan amilase adalah enzim yang paling sering mendapatkan perhatian. berbagai jenis organisme baik mikroskopis atau makroskopis telah lama dimanfaatkan sebagai sarana untuk menghasilkan berbagai jenis enzim. Enzim ekstraseluler dari bakteri biasanya mampu mencerna nutrisi yang tidak larut dalam jumlah yang banyak seperti protein, selulosa, dan pati serta menyediakan energi untuk sel tersebut guna menjalankan fungsinya. Protease dari mikroba mempunyai nilai komersial tertinggi dibandingkan dengan protease yang berasal dari hewan maupun tanaman. Beberapa mikroba seperti bakteri dan fungi, telah dilaporkan dapat memproduksi protease tetapi hanya sedikit yang dapat dipertimbangkan untuk produksi secara komersial. (Banerjee *et al.*, 2016). Produksi amilase dari mikroba seperti bakteri dan jamur lebih dipilih oleh bidang industri karena kestabilan pH dan suhu dari produk amilase tersebut, dibandingkan dengan produksi amilase dari hewan atau tanaman (Tanyildizi *et al.*, 2005). Protease maupun amilase dapat diproduksi dari beberapa bakteri yang berbeda seperti *Bacillus*, *Chromohalobacter*, *Halobacillus*, *Rhodothermus*, *Halomonas*, dan *Xenorhabdus* (Gupta *et al.*, 2003). Enzim yang bersumber dari bakteri biasanya digunakan secara luas oleh beberapa bidang industri seperti makanan, tekstil, minuman, dan pengolahan limbah. Maka dari itu produksi, purifikasi, dan karakterisasi enzim sangat penting dalam kaitannya dengan manajemen di industri.

Salah satu spesies bakteri yang diketahui menghasilkan protease dan amilase yaitu *Bacillus cereus*. Menurut penelitian Saptarini D (2019), bakteri ini dapat dihasilkan dari isolasi air Hutan Mangrove Maron Edupark, Semarang, Jawa Tengah. Ekosistem mangrove merupakan sumber berbagai mikroba yang mampu

menghasilkan enzim dan molekul yang bermanfaat. Bakteri *Bacillus cereus* dalam penelitian tersebut dilaporkan dapat menghasilkan enzim superokksida dismutase (SOD). Enzim tersebut merupakan salah satu enzim antioksidan yang dihasilkan tubuh. Superokksida dismutase (SOD) berperan sebagai penghambat reaktivitas radikal bebas yang merusak struktur dan fungsi sel. Berdasarkan uraian di atas, menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus cereus* memiliki potensi sebagai penghasil enzim protease yang mampu mengubah protein menjadi molekul yang lebih sederhana, dan enzim amilase yang berfungsi memecah pati dalam makanan sehingga dapat digunakan oleh tubuh, maka dari itu peneliti pada penelitian ini ingin mengetahui seberapa besar aktivitas enzim amilase dan protease dari bakteri *Bacillus cereus*. Penelitian ini dilakukan untuk menguji kemampuan aktivitas ekstrak kasar enzim amilase dan protease dari bakteri *Bacillus cereus* yang diisolasi dari hutan mangrove Maron Edupark Semarang.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah *Bacillus cereus* menghasilkan enzim protease dan amilase?

Kedua, berapakah konsentrasi substrat ekstrak kasar enzim protease dan amilase yang menghasilkan aktivitas enzim paling baik?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui bahwa *Bacillus cereus* menghasilkan enzim amilase dan protease.

Kedua, untuk mengetahui konsentrasi substrat ekstrak kasar enzim protease dan amilase yang memiliki aktivitas enzim paling baik.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan menunjang pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang

bioteknologi. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi solusi akan obat alternatif dan keperluan industri dari berbagai bidang serta meningkatkan potensi bahan alam sebagai penghasil enzim protease dan amilase yang berasal dari alam.