

**PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0.2 mT PADA ION LOGAM  
Fe dan Zn TERHADAP AKTIVITAS *Bacillus* sp. DALAM  
MENGHASILKAN ENZIM PROTEASE**

**(Tesis)**

**INDAH SELFIANA**



**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

**PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0.2 mT PADA ION LOGAM  
Fe dan Zn TERHADAP AKTIVITAS *Bacillus* sp. DALAM  
MENGHASILKAN ENZIM PROTEASE**

Oleh:

**INDAH SELFIANA**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

## ABSTRAK

### PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0.2 mT PADA ION LOGAM Fe dan Zn TERHADAP AKTIVITAS *Bacillus* sp. DALAM MENGHASILKAN ENZIM PROTEASE

Oleh

Indah Selfiana

Protease banyak dimanfaatkan diberbagai bidang diantaranya industri, kesehatan maupun peternakan. Bakteri dari genus *Bacillus* telah banyak dikembangkan untuk produksi enzim protease dan memiliki keuntungan tersendiri. Faktor lingkungan seperti medan magnet dan ion logam dapat mempengaruhi aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim. Fe dan Zn adalah salah satu ion logam yang dapat berperan sebagai induktor maupun inhibitor pada pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. Tujuan penelitian ini adalah: <sup>1)</sup> Mengetahui pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. <sup>2)</sup> Membedakan pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT antara ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. Penelitian ini dilakukan menggunakan secara bertahap. Tahap pertama meliputi isolasi dan seleksi bakteri. Tahap kedua yaitu uji proteolitik pada media padat dengan 6 perlakuan yaitu M<sub>0</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>1</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>1</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>2</sub> dan M<sub>1</sub>L<sub>2</sub>. Tahap ketiga meliputi produksi enzim protease pada media cair dengan 4 perlakuan yaitu M<sub>0</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>1</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>1</sub>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: <sup>1)</sup> Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada ion logam Fe dan Zn berpengaruh terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. <sup>2)</sup> Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada ion logam Fe meningkatkan aktivitas enzim dan jumlah sel hidup *Bacillus* sp. sedangkan paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada ion logam Zn menghambat aktivitas enzim dan pertumbuhan *Bacillus* sp.

Kata kunci : Protease, *Bacillus* sp., Medan Magnet, Ion Logam Fe dan Zn.

## ABSTRACT

### EFFECT OF 0.2 mT MAGNETIC FIELD EXPOSURE OF Fe AND Zn METAL IONS ON *Bacillus sp.* ACTIVITIES TO PRODUCE PROTEASE ENZYME

By

**Indah Selfiana**

Protease has been widely used in various fields including industry field, health and animal husbandry. Bacteria of the genus *Bacillus* have been developed to produce protease and have many advantages. The environmental factors such as magnetic field can also affect the activity of *Bacillus sp.* to produce enzymes. Fe atoms are one of the ferromagnetic compounds that are used as an inductor on *Bacillus sp.* growth and activity in producing protease while Zn atoms, that are one of diamagnetic group, can be a protease inhibitors. The objectives of this research were: <sup>1)</sup> Determine the effect of 0.2 mT magnetic field exposure of Fe and Zn metal ions on its induction power in the activity of *Bacillus sp.* to produce protease. <sup>2)</sup> Distinguish the effect of 0.2 mT magnetic field exposure of Fe and Zn metal ions on the activity of the protease by using *Bacillus sp.* This research was carried out in stages. The first phase included the isolation and selection of bacteria. The second stage was the proteolysis test on solid media with 6 treatments, M<sub>0</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>1</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>1</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>2</sub> and M<sub>1</sub>L<sub>2</sub>. The third phase included the production of protease on liquid media with 4 treatments, M<sub>0</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>L<sub>0</sub>, M<sub>0</sub>L<sub>1</sub>, and M<sub>1</sub>L<sub>1</sub>. The results showed that: <sup>1)</sup> The exposure of 0.2 mT magnetic field 0.2 for 10 minutes at Fe and Zn metal ions affected the activity of *Bacillus sp.* to produce protease. <sup>2)</sup> The exposure of 0.2 mT magnetic field for 10 minutes at Fe metal ions increased the enzyme activities and living cells of *Bacillus sp.* whereas the exposure of 0.2 mT magnetic field for 10 minutes at Zn metal ions inhibited the enzyme activity and the growth of *Bacillus sp.*

Keyword: Protease, *Bacillus sp.*, Magnetic Field, Fe and Zn Metal Ions.

**Judul Tesis : PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0.2 mT  
PADA ION LOGAM Fe dan Zn TERHADAP  
AKTIVITAS *Bacillus* sp. DALAM MENGHASILKAN  
ENZIM PROTEASE**

**Nama Mahasiswa : Indah Selfiana**

**No. Pokok Mahasiswa : 1427021011**

**Program Studi : Magister Biologi**

**Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

**Dr. Sumardi, M.Si.**

**NIP 19650325 199103 1 003**

**Rochmah Agustrina, Ph.D.**

**NIP 19610803 198903 2 002**

**2. Ketua Program Studi Magister Biologi**

**Dr. Sumardi, M.Si.**

**NIP 19650325 199103 1 003**

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Sumardi, M.Si.**

Sekretaris : **Rochmah Agustrina, Ph.D.**

Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.**  
NIP. 19710212 199512 1 001

3. **Direktur Program Pascasarjana**



**Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.**  
NIP. 19530528 198103 1 002

4. **Tanggal Lulus Ujian : 12 Agustus 2016**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Indah Selfiana

NPM : 1427021011

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang ditulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila demikian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, Agustus 2016

Pembuat Pernyataan



Indah Selfiana

NPM. 1427021011

## **RIWAYAT HIDUP**

Indah Selfiana dilahirkan di Gisting pada tanggal 22 Nopember 1989, anak terakhir dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Slamet Srianto dan Ibu Karinah. Penulis menyelesaikan pendidikan formal di SDN 3 Gisting Atas pada tahun 2001. Tahun 2001 diterima di SMPN 2 Talang Padang yang diselesaikan pada tahun 2004. Tahun 2004 diterima di Madrasah Aliyah Mathla'ul Anwar (MAMA) Gisting yang diselesaikan pada tahun 2007 dan pada tahun yang sama penulis diterima di Institut Agama Islam Negari (IAIN) Raden Intan Lampung Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Program Studi Pendidikan Biologi yang diselesaikan pada tahun 2011.

Pada tahun 2012 penulis diterima bekerja sebagai Dosen Luar Biasa (DLB) di Prodi Pendidikan Biologi IAIN Raden Intan Lampung. Tahun 2014 penulis melanjutkan pendidikan sebagai mahasiswa Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.



## MOTTO

*Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.  
(QS. Surat Al-Insyirah:6).*

*Peluang suksesmu akan bertambah disetiap usaha  
(John Nash)*

## **PERSEMBAHAN**

Dengan rasa syukur kepada Allah SWT, ku persembahkan karya yang sederhana ini untuk orang yang selalu mencintai dan memberi makna dalam hidupku, terutama bagi:

1. Ayahanda Slamet Sianto dan Ibunda Karinah tercinta, yang telah membesarkanku, membimbing serta senantiasa dalam setiap sujud dan tahajudnya, selalu memberikan motivasi dan berdoa untuk keberhasilanku.
2. Kedua kakakku Hartini dan Fitri Rosidah yang selalu mendoakan akan keberhasilanku.
3. Almamaterku Universitas Lampung.

## SANWANCANA

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah SWT, atas ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Pengaruh Paparan Medan Magnet 0.2 mT pada Ion Logam Fe dan Zn Terhadap Aktivitas *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan Enzim Protease”**.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Sumardi, M.Si selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, nasihat, ide, saran, dan kritik dalam penulisan tesis ini.
2. Ibu Rochmah Agustrina, Ph. D selaku pembimbing pembantu yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, nasihat, ide, saran, dan kritik dalam penulisan tesis ini.
3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang diberikan hingga terselesainya tesis ini.
4. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc selaku selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila atas dukungan, kritik dan saran yang telah diberikan.
5. Bapak Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak dan Ibu Dosen, Staf beserta Laboran Jurusan Biologi FMIPA Unila atas ilmu, dukungan dan pengalaman yang telah diberikan kepada penulis.

7. Teristimewa kepada Bapak Slamet Srianto dan Ibu Karinah tercinta atas kasih sayang, doa yang tulus, nasihat, dukungan moril dan materil untuk kesuksesan penulis, kakakku Hartini dan Fitri Rosidah yang selalu memberikan dukungan dan kasih sayang kepada penulis.
8. Teman-teman Magister Biologi FMIPA Unila angkatan 2014, Ajeng Pratiwi, S.Pd., Ana Triana Maiyah, S.Pd., M.Si., Apriliyani, S.P., Eko Nastiti, M.Pd., Fahrul Aksah, S.Pd., Firdaus RA, M.Si., Firtisia, S.Pd., Gardis Andari, S.Pd. M.Si., Hesti Yunilawati, S.Pd., Ika Listiana, S.Pd., Mahmud Rudini, S.Pd., M.Si., dan Ratih Andriyani, S.Pd. Si. atas kebersamaan, canda tawa dan semangat selama ini.
9. Ajeng Pratiwi, S.Pd., Asep Yusuf Hamdani, S.Pd., Fajrin, Yelby, Ambar dan Laras atas bantuan dan kerjasama selama penelitian di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam proses perkuliahan dari awal hingga akhir yang tidak dapat dituliskan satu persatu.
11. Almamater tercinta Universitas Lampung.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin

Bandar Lampung, Agustus 2016  
Penulis

Indah Selfiana

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iv</b>

### I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
C. Manfaat Penelitian .....	4
D. Kerangka Pemikiran .....	4
E. Hipotesis .....	6

### II. TINJAUAN PUSTAKA

A. <i>Bacillus</i> sp. ....	7
B. Enzim Protease .....	9
C. Pengaruh Medan Magnet Terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Mikroba .....	11
D. Ion Logam Fe dan Zn.....	14

### III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
B. Alat dan Bahan.....	17
C. Pelaksanaan .....	18

### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. <i>Bacillus</i> sp. Penghasil Enzim Protease.....	26
B. Nilai Indeks Proteolitik (IP) <i>Bacillus</i> sp. ....	27
C. Bentuk Sel <i>Bacillus</i> sp. ....	34

D. Produksi Enzim Protease .....	35
----------------------------------	----

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

A. Kesimpulan.....	41
B. Saran.....	41

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Metode pengujian aktivitas enzim protease .....	24
Tabel 2. Hasil analisis One-Way-ANOVA nilai indeks proteolitik (IP) 10 jam .....	28
Tabel 3. Hasil analisis One-Way-ANOVA nilai indeks proteolitik (IP) 18 jam.....	28
Tabel 4. Hasil analisis One-Way-ANOVA aktivitas protease <i>Bacillus</i> sp.....	37
Tabel 5. Hasil analisis One-Way-ANOVA jumlah sel hidup <i>Bacillus</i> sp. ....	38

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Perubahan ukuran sel bakteri akibat ELF-MF .....	14
Gambar 2. Isolat bakteri penghasil enzim protease.....	26
Gambar 3. Nilai Indeks Proteolitik (IP) <i>Bacillus</i> sp. 10 Jam. ....	29
Gambar 4. Nilai Indeks Proteolitik (IP) <i>Bacillus</i> sp. 18 Jam .....	29
Gambar 5. Arah domain bahan ferromagnetik dan diamagnetik.....	31
Gambar 6. Koloni <i>Bacillus</i> sp. ....	33
Gambar 7. Bentuk sel <i>Bacillus</i> sp. ....	34
Gambar 8. Ekstrak kasar enzim protease sebelum disentrifuse.....	36
Gambar 9. Aktivitas enzim protease <i>Bacillus</i> sp. ....	37
Gambar 10. Jumlah sel hidup <i>Bacillus</i> sp. ....	40



## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Bioteknologi semakin berkembang dan dimanfaatkan dalam berbagai aspek kehidupan mulai dari bidang kesehatan, pangan, pertanian maupun peternakan. Prinsip-prinsip bioteknologi konvensional yang memanfaatkan mikroorganisme secara langsung banyak digunakan dalam bidang pangan dan untuk memproduksi barang atau jasa, sedangkan bioteknologi modern yang biasanya memanfaatkan metabolit yang dihasilkan mikroba seperti enzim protease banyak digunakan dalam berbagai bidang kesehatan, industri maupun peternakan (Said dan Likadja, 2012). Beberapa mikroorganisme sangat berperan dan memiliki kelebihan tersendiri dalam produksi enzim protease karena dapat memproduksi enzim dalam skala besar, waktu singkat, dan biaya yang relatif murah (Kosim dan Putra, 2010). Contohnya adalah bakteri dari genus *Bacillus* yang terus dikembangkan untuk memproduksi enzim protease (Soeka dkk., 2011).

Protease adalah salah satu enzim yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida kecil dan asam amino. Protease sangat diperlukan dalam semua proses fisiologis

organisme sehingga diproduksi baik oleh tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme (Emanuelle *et al.*, 2013).

Aktivitas mikroorganisme dalam memproduksi enzim, dapat ditingkatkan dengan mengoptimalkan peran berbagai faktor mempengaruhi aktivitasnya aktivitasnya seperti: komposisi medium, pH, suhu, sumber karbon dan nitrogen (Mubarik, 2010). Optimasi medium dapat dilakukan dengan memberikan treatment tertentu pada medium diantaranya dengan perlakuan pemaparan medan magnet. Induksi medan magnet pada sel organisme dapat mengakibatkan konversi energi karena adanya interaksi *hyperfine* yaitu interaksi antara momen magnetik proton dan elektron (Dwi, 2013).

Upaya lain yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan aktivitas *Bacillus* sp. dalam memproduksi protease adalah dengan memberikan perlakuan pada Fe dan Zn. Fe merupakan nutrisi penting untuk aktivitas metabolisme pada hampir semua mikroorganisme karena sebagai kofaktor untuk sejumlah enzim (He *et al.*, 2011). Sedangkan Zn adalah salah satu golongan logam transisi yang dapat berperan sebagai inhibitor protease (Vidyasagar *et al.*, 2006).

Fe sebagai bahan ferromagnetik mempunyai resultan medan magnet atomik yang besar. Di dalam Fe banyak elektron yang tidak berpasangan sehingga akan menimbulkan medan magnet pada masing-masing spin elektronnya (Dilawar *et al.*, 2008). Sedangkan Zn merupakan ion logam transisi yang dapat menurunkan nilai koersivitas (intensitas kemagnetan)

suatu bahan sehingga bahan akan bersifat *soft magnetic* (Sholihah dan Zainuri, 2012).

Penelitian tentang peran medan magnet dalam bidang mikrobiologi saat ini mulai banyak dilakukan. Medan magnet dilaporkan dapat mempengaruhi aktivitas enzim *peroxidase*, *catalase* dan *superoxide dismutase* (Lie *et al.*, 2015). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rohma (2013) menyimpulkan bahwa kuat medan magnet 0.1 mT dengan lama paparan 15'36" dapat meningkatkan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada kacang merah dan kacang buncis hitam (*Phaseolus vulgaris L.*). Sari dkk. (2011) dalam percobaannya juga menyatakan bahwa perendaman pada biji dan pemaparan medan magnet 0.2 mT dapat meningkatkan ukuran sel parenkim, xylem, serta lebar stomata pada tanaman tomat. Kuat medan magnet yang diberikan pada bakteri pun harus tepat karena jika terlalu besar atau terlalu kecil justru akan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian pada bakteri BWS-S5 (Bakteri Waduk Sermo-Strain 5) menunjukkan bahwa perlakuan medan magnet 150 G menghambat pertumbuhannya (Sutariningsih, 2007). Penambahan ion logam seperti Fe pada media pertumbuhan akan menyebabkan pengaruh medan magnet yang lebih besar terhadap bakteri (Nadkarni *et al.*, 2013).

Dalam tesis ini, diajukan penelitian untuk melihat pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn terhadap daya induksinya pada pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus sp.* dalam

menghasilkan enzim protease. Ion logam yang digunakan yaitu Fe dan Zn dalam bentuk garam  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{ZnCl}_2$ .

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1) Mengetahui pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease.
- 2) Membedakan pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT antara ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp.

## **C. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- 1) Memperoleh informasi ilmiah mengenai paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease.
- 2) Memperoleh informasi ilmiah tentang perbedaan pengaruh pemaparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp.

## **D. Kerangka Pemikiran**

Protease adalah enzim yang dapat menghidrolisis protein menjadi peptide-peptida kecil atau asam amino. Adanya protease dalam sistem pencernaan hewan membantu organisme dalam proses penyerapan bahan-bahan

pembangun tubuh. Oleh sebab itu protease juga banyak dimanfaatkan dalam industri pakan ternak seperti unggas misalnya. Perkembangan di bidang bioteknologi saat ini memungkinkan memproduksi enzim protease dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat dengan memanfaatkan mikroorganisme salah satunya *Bacillus* sp..

Medan magnet dapat mempengaruhi aktivitas *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim protease. Medan magnet dilaporkan dapat mempengaruhi aktivitas enzim *peroxidase*, *katalase* dan *superoxide dismutase*. Fe adalah salah satu senyawa ferromagnetik yang digunakan sebagai induktor pada pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. Fe juga merupakan nutrisi penting untuk aktivitas metabolisme pada hampir semua mikroorganisme karena sebagai kofaktor untuk sejumlah enzim sedangkan Zn adalah salah satu golongan logam transisi yang bersifat diamagnetik dapat berperan sebagai inhibitor protease. Zn merupakan ion logam transisi yang dapat menurunkan nilai *koersivitas* (intensitas kemagnetan) suatu bahan sehingga bahan akan bersifat *soft magnetic*.

Paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe dan Zn akan berpengaruh terhadap daya induksinya terhadap pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus* sp. sehingga dapat meningkat aktivitasnya dalam memproduksi enzim protease.

## **E. Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

- 1) Paparan medan magnet pada ion logam Fe dan Zn meningkatkan daya induksinya terhadap pertumbuhan dan ukuran sel *Bacillus* sp..
- 2) Terdapat perbedaan antara paparan medan magnet pada ion logam Fe dan Zn terhadap produksi enzim protease oleh *Bacillus* sp.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Bacillus* sp.

*Bacillus* sp. adalah bakteri gram positif berbentuk batang, berukuran 0.3 – 2.2  $\mu$  x 127 – 7.0  $\mu$ m. Sebagian besar *Bacillus* sp. motil dengan flagelum lateral yang khas. *Bacillus* sp. membentuk endospora yang tidak lebih dari satu dalam satu sel sporangium. Metabolisme *Bacillus* sp. berlangsung baik melalui respirasi sejati maupun fermentasi sejati atau kedua-duanya (Pelczar dan Chan, 2005 dan Backman *et al.*, 1994).

*Bacillus* sp. memiliki karakteristik yang unik yaitu mampu membentuk endospora dalam kondisi lingkungan yang tercekam. Spora *Bacillus* sp. dapat bertahan sampai 60 tahun atau lebih pada kondisi yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya (Wong dan Sadler, 1994). Suhu optimum untuk pertumbuhan *Bacillus* sp. yaitu pada rentang suhu 45 - 60°C dengan pH optimum antara 5.8 – 7.2 (Habibie dkk., 2013).

Menurut Whitman (2009) *Bacillus* sp. memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus

Spesies : *Bacillus* sp.

Beberapa spesies *Bacillus* bersifat: mesofilik (*Bacillus subtilis*) bersifat termofilik fakultatif (*Bacillus coagulans*) atau termofilik obligat (*Bacillus stearothermophilus*) yang sering menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng. Beberapa kelompok bakteri di atas mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menekan pertumbuhan patogen (Backman *et al.*, 1994).

*Bacillus* sp. mampu menghasilkan enzim ekstraseluler seperti *protease*, *lipase*, *amilase*, dan *selulase* yang dapat membantu proses pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa *et al.*, 2007). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus* dapat menghasilkan enzim, penelitian Tarntip dan Thungkao dalam Yusufa dkk. (2013) menunjukkan bahwa beberapa spesies dari genus *Bacillus* sp. memiliki aktivitas protease. *Bacillus licheniformis* dapat menghasilkan enzim xilanase dan protease ( Soeka dkk., 2011). *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan enzim protease (Kosim dan Putra, 2009). Naiola dan Nunuk (2008) berhasil menemukan 8 isolat mikroba amilolitik pada nira dan laru dari pulau Timor, Nusa Tenggara Timur yang teridentifikasi sebagai *Bacillus licheniformis*, *Chromobacterium* sp., *Lactobacillus*, *Micrococcus roseus*, dan *Bacillus coagulans*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus* memiliki kemampuan dalam menghasilkan beberapa enzim termasuk protease.



## B. Enzim Protease

### 1. Pengertian Enzim

Enzim adalah molekul *biopolymer polypeptide* yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel. Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalisis reaksi antara lain konversi energi dan metabolisme pertahanan sel. Selain di dalam tubuh, aktivitas enzimatik juga dapat terjadi di alam ataupun di dalam bahan makanan. Sebagai katalis, enzim dapat mengubah kecepatan suatu reaksi kimia namun tidak mempengaruhi kesetimbangan akhir reaksi tersebut (Richana, 2002 dan Bintang, 2010).

Enzim hanya akan bekerja pada kondisi yang sesuai, seperti pH, suhu, konsentrasi, kofaktor serta ada atau tidaknya inhibitor. Beberapa ion logam dapat mempengaruhi aktivitas enzim protease. Ion logam  $Cd^{2+}$  dan  $Hg^{2+}$  dapat menghambat aktivitas protease (Nailola dkk., 2007).

Sedangkan beberapa ion logam seperti Ca, Mg, Zn dan Fe justru menginduksi aktivitas enzim protease (Emmanuelle, 2013).

Penamaan enzim diklasifikasikan berdasarkan tipe reaksi katalisnya.

Berikut adalah kelompok utama enzim berdasarkan aktivitas reaksi yang dikatalisnya yaitu: oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, dan ligase (Bintang, 2010).

## 2. Enzim Protease

Protease adalah salah satu enzim kelompok hidrolase yang menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida kecil dan asam amino (Nailola dkk., 2007). Berdasarkan cara pemotongan ikatan peptida, enzim protease dapat dibagi menjadi eksopeptidase dan endopeptidase. Eksopeptidase terdiri atas karboksi-ekso-peptidase yang memotong peptida dari arah gugus karboksil terminal dan amino-eksopeptidase dari gugus amino terminal, sedang endopeptidase memecah ikatan peptida dari dalam (Bergman, 1942 dan Mubarik, 2000).

Enzim protease berperan penting pada sistem pencernaan, karena protease memecah ikatan peptide dari protein sehingga asam-asam amino yang dihasilkan dari pemecahan protein mudah diabsorpsi (Soeka dkk., 2011).

Enzim protease yang diisolasi dari *Bacillus* sp. dapat dimanfaatkan dalam produksi makanan, farmasi, bioremediasi serta dalam industri tekstil untuk menghilangkan noda dari bahan yang mengandung protein ( Lou, 2013).

Enzim protease banyak terdapat di alam, karena protease dapat ditemukan baik pada hewan, tumbuhan maupun mikroorganisme (Kurniawan dan Muchti, 2011). Produksi enzim oleh mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh kondisi optimum lingkungan sekitarnya seperti: komposisi medium, pH medium, suhu maupun sumber karbon dan nitrogen pada medium tersebut (Sumantha *et al.*, 2006).

Enzim protease yang dihasilkan oleh kelompok bakteri termofilik seperti *Bacillus* sp. memiliki aktivitas optimum pada suhu antara 40°C - 50°C dengan menggunakan kasein sebagai substrat (Kosim dan Putra, 2010). Uji pH optimum yang dilakukan pada kisaran 7-10 aktivitas tertinggi diperoleh pada pH 8 (Kurniawan dan Muchti, 2011). Selain suhu dan pH, aktivitas enzim protease juga dipengaruhi oleh lamanya waktu inkubasi yang biasanya mencapai fase pertumbuhan yang stabil berkisar antara 4-6 hari inkubasi (Nailola dkk., 2007).

### **C. Pengaruh Medan Magnet terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Mikroba**

Medan magnet adalah suatu medan atau lapangan yang dapat menimbulkan gaya pada benda atau partikel bermuatan listrik. Medan magnet alami dapat diperoleh dari bumi dengan kutub magnet di Kutub Utara dan Selatan dan dapat pula dihasilkan dari arus listrik yang mengalir dalam kawat (Soesanto, 1996). Besarnya nilai medan magnet yang diperoleh dari aliran listrik dipengaruhi oleh kuat arus listrik yang masuk. Semakin besar arus yang mengalir semakin besar medan magnet dan nilainya bervariasi sesuai dengan daya yang diserap oleh peralatan listrik (Sudarti dkk., 2014).

Induksi medan magnet pada sel biologis dapat mengakibatkan konversi energi karena adanya interaksi *hyperfine* yaitu interaksi antara momen magnetik proton dan elektron. Selain itu, paparan medan magnet dapat memberikan tambahan energi bagi sel (Dwi dkk., 2013).

Pemberian medan magnet berpengaruh langsung terhadap aktivitas metabolisme sel. Secara umum, medan magnet mempengaruhi arah migrasi dan mengubah pertumbuhan, mengubah aliran ionik melalui membran sehingga mengakibatkan perubahan kecepatan reproduksi sel (Sudarti dkk., 2014). Beberapa peneliti menduga bahwa tempat reaksi medan magnet dalam sistem biologi adalah plasma elektromagnetik membran (Setyasih dkk., 2013).

Medan magnet dapat mengubah karakteristik membran sel, mempengaruhi reproduksi sel, menyebabkan perubahan pada metabolisme sel serta mempengaruhi karakteristik pertumbuhan seperti kualitas mRNA, ekspresi gen, sintesis protein dan aktivitas enzim (Setyasih dkk., 2012). Medan magnet juga dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim *peroxidase*, *katalase* and *superoxide dismutase* (Lie, 2015).

Kekuatan medan magnet yang diberikan pada bakteri harus tepat karena jika terlalu besar justru akan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Medan magnet dilaporkan dapat membunuh mikroba patogen yang terdapat di dalam bahan makanan seperti *Salmonella typhimurium* (Sudarti dkk., 2014).

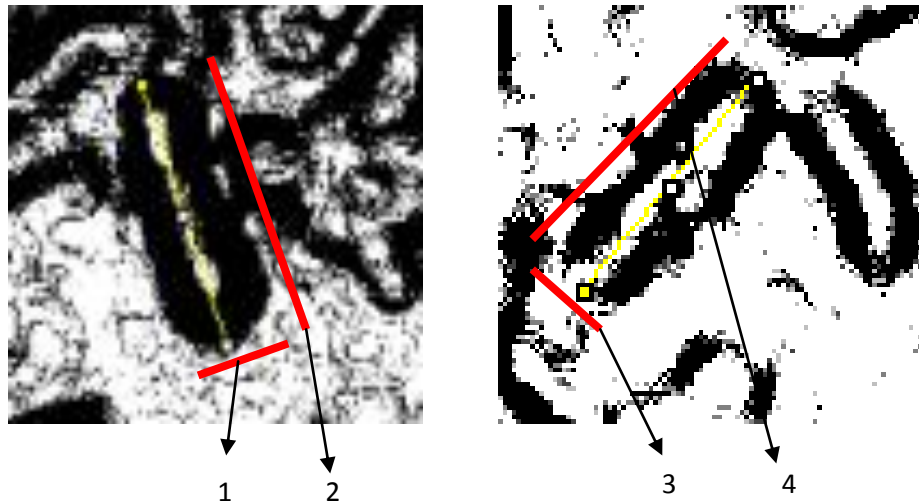
Menurut Setyasih dkk. (2013) perlakuan kuat medan magnet yang terlalu tinggi dan dalam paparan waktu yang tidak tepat akan menyebabkan metabolisme yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan sel atau menyebabkan perubahan pada struktur membran. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri terhambat secara signifikan dengan pemberian perlakuan medan magnet sebesar 150 G (Sutariningsih, 2012).

Persentase kematian populasi *S. typhimurium* cukup tinggi yaitu 33.14% pada

pemberian medan magnet dengan intensitas 646.7  $\mu\text{T}$ , dimana semakin besar intensitas yang digunakan maka semakin besar pula kematian jumlah mikroorganisme. Kematian mikroba dikarenakan medan magnet menyebabkan rusaknya struktur sel pada mikroba seperti membran sel (Sudarti dkk., 2014).

Nascimento *et al.* (2003) menyatakan terjadi peningkatan pertumbuhan *E. coli* setelah terpapar medan magnet selama 8 jam dikarenakan medan magnet memperpendek fase lag dan lebih mempercepat mulainya fase log pada pertumbuhan mikroba. Akibatnya, pada akhirnya fase log akan terjadi lebih panjang dan meningkatkan jumlah koloni untuk tumbuh. Efek medan magnet terhadap pertumbuhan dan reproduksi mikroba diklasifikasikan menjadi: (1) *inhibitory*, (2) *stimulatory* dan (3) *none observable* (Muchtadi dan Sugiono, 2013).

Medan magnet juga diketahui dapat mengubah anatomi sel mikroba seperti perubahan panjang dan diameter. Paparan ELF-MF pada *Salmonella typhimurium* menurunkan rata-rata panjang dan diameter sel masing-masing dari panjang 6.312  $\mu\text{m}$  menjadi 4.341  $\mu\text{m}$  dan diameter dari 1.535  $\mu\text{m}$  menjadi 1.148  $\mu\text{m}$  (Sudarti dkk., 2014). Pada bakteri *E. coli* dimana terjadi penurunan panjang sel *E. coli*, paparan medan magnet selama 6 jam menurunkan ukuran panjang sel sedangkan paparan medan magnet selama 16 jam meningkatkan ukuran panjang sel karena ketebalan dinding sel berkurang dan sebagian besar komponen sitoplasma menghilang (Gaafar *et al.*, dalam Sudarti dkk., 2014).



Gambar 1. Perubahan Ukuran Sel bakteri akibat ELF-MF: (1) Diameter Sel Normal, (2) Panjang Sel Normal, (3) Panjang Sel setelah Terpapar ELF-MF, dan (4) Diameter Sel setelah Terpapar ELF-MF (Sudarti dkk., 2014)

#### D. Ion Logam Fe dan Zn

Besi atau Fe adalah salah satu ion logam yang bersifat ferromagnetik. Unsur atau materi yang bersifat ferromagnetik dan paramagnetik jika berada di sekitar medan magnet akan termagnetisasi yang arahnya searah dengan arah medan magnet tersebut (Sutresna, 2006).

Fe merupakan nutrisi penting dalam pertumbuhan optimal suatu sel. Fe bertindak sebagai kofaktor beberapa enzim yang diperlukan untuk proses biokimia di dalam sel, termasuk respirasi dan fotosintesis (He *et al.*, 2011). Sebagai kofaktor, ion logam dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor. Mekanisme ion logam dalam meningkatkan aktivitas enzim melalui yaitu (a) menjadi bagian integral dari sisi aktif, (b) merubah konstanta keseimbangan dari reaksi enzimatik, (c) merubah muatan listrik, (d) mengusir

ion inhibitor, (e) menukar ion yang kurang efektif pada sisi aktif enzim atau substrat. Penghambatan ion logam pada aktivitas protease pada konsentrasi tertentu berkaitan dengan kekuatan ion yang mempengaruhi struktur tiga dimensi dari protein enzim atau protein substrat (Baehaki dkk., 2005).

Bakteri akan lebih mudah memanfaatkan Fe dalam bentuk  $\text{Fe}^{2+}$ , karena  $\text{Fe}^{3+}$  perlu diubah terlebih dahulu menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  sebelum digunakan oleh mikroba dengan sisa energi yang telah digunakan untuk perumbuhannya (Sutariningsih dkk., 2007). Adinarayana *et al.* (2003) melaporkan bahwa dengan penambahan ion  $\text{Fe}^{2+}$  dapat meningkatkan stabilitas bakteri *Bacillus* sp. dalam menghasilkan protease alkali. Akan tetapi jika konsentrasi Fe terlalu tinggi, dapat menyebabkan DNA mikroba terdenaturasi.

Zn merupakan ion logam transisi bersifat diamagnetik yang dapat menurunkan nilai koersivitas (intensitas kemagnetan) suatu bahan sehingga bahan akan bersifat *soft magnetic* (Sholihah dkk., 2012). Zn dapat digolongkan sebagai salah satu inhibitor enzim protease serin (Vidyasagar *et al.*, 2006). Ion logam Zn menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri dan aktivitas enzimatisnya menjadi tidak signifikan yang ditunjukkan dengan terbentuknya luas koloni dan zona hidrolisis yang sedang (Susanto dan Sopiah, 2003).

Menurut Widowati dkk. (2000), penambahan 0.5 mM; 1 mM dan 1.5 mM  $\text{ZnCl}_2$  pada isolat bakteri *Bacillus circulans 9b3* dapat menurunkan, meningkatkan dan kembali menurunkan aktivitas protease *Bacillus circulans 9b3* menjadi 91 %, 101 % dan 95 %, sehingga dapat disimpulkan bahwa

penambahan  $\text{ZnCl}_2$  dengan konsentrasi tertentu dapat menurunkan dan meningkatkan aktivitas protease.



### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada Januari 2016 - Maret 2016 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila dan Laboratorium Botani FMIPA Unila.

#### B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: seperangkat alat gelas, *Spectrophotometer UV* yang digunakan untuk mengukur aktivitas enzim protease dari *Bacillus* sp.; inkubator untuk menginkubasi bakteri pada suhu yang terkontrol; *shaker incubator*, *sentrifuse*, *laminar airflow* untuk perlakuan yang memerlukan kondisi aseptik, termasuk inokulasi bakteri; kumparan medan magnet sebesar 0.2 mT untuk pemberian paparan medan magnet pada induktor pertumbuhan *Bacillus* sp.

Bahan yang digunakan antara lain: isolat bakteri *Bacillus* sp. yang diisolasi dari usus ayam kampung beserta fesesnya. Media untuk kultur yaitu media Mendels yang dimodifikasi (Lampiran 1).  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{ZnCl}_2$  digunakan sebagai induktor untuk memberikan efek lebih dari medan magnet terhadap pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease.

## C. Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan secara bertahap. Tahap pertama, isolasi dan seleksi bakteri. Tahap kedua, uji proteolitik dan perhitungan Indeks Proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Media Mendels yang digunakan diberi induktor  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{ZnCl}_2$  yang dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan. Konsentrasi  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{ZnCl}_2$  yang digunakan masing-masing secara berurutan adalah 0.01% dan 0.005%. Tahap ketiga, produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diinduksi dengan  $\text{FeCl}_3$  yang dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit. Perhitungan aktivitas enzim protease dilakukan dengan menggunakan *spectrophotometer UV* pada panjang gelombang 578 nm (Widowati dkk., 2001).

### 1. Tahap Pertama

Pada tahap pertama dilakukan isolasi dan seleksi bakteri untuk mendapatkan kandidat bakteri dari genus *Bacillus* yang mampu menghasilkan enzim protease. Adapun langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

#### a) Isolasi Bakteri

*Bacillus* sp. diisolasi dari usus ayam kampung dengan cara memotong 1 cm usus ayam kampung kemudian dimasukkan kedalam media cair Mendels yang dimodifikasi. Kultur dipanaskan pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 15 menit untuk membunuh bakteri lain yang tidak diinginkan. Bakteri

dari genus *Bacillus* memiliki spora yang masih dapat bertahan hidup pada suhu tinggi (Pelczar dan Chan, 2005). Setelah dipanaskan, kultur diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama  $2 \times 24$  jam.

#### b) Seleksi Bakteri Penghasil Protease

Seleksi bakteri penghasil protease dilakukan dengan cara : satu ose suspensi bakteri diinokulasikan pada media padat Mendels yang dimodifikasi kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Adanya aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghidrolisis protein ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni bakteri (Vijayaraghavan *et al.*, 2013).

## 2. Tahap Kedua

Pada tahap kedua dilakukan uji proteolitik dan perhitungan Indeks Proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media padat Mendels yang dimodifikasi.  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{ZnCl}_2$  yang telah dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit digunakan sebagai induktor pada media pertumbuhan.

#### a) Uji proteolitik pada media padat Mendels yang dimodifikasi

Uji proteolitik terdiri dari 6 perlakuan sebagai berikut:

**Perlakuan 1 ( $M_0L_0$ ).** Perlakuan  $M_0L_0$  merupakan perlakuan kontrol dimana media padat Mendels yang dimodifikasi tidak diberi paparan medan magnet dan tidak diberi induktor.

**Perlakuan 2 ( $M_1L_0$ ).** Perlakuan  $M_1L_0$  adalah perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit tetapi tanpa diberi induktor.

**Perlakuan 3 ( $M_0L_1$ ).** Perlakuan  $M_0L_1$  adalah perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $FeCl_3$ . Baik media maupun induktor tidak dipapar medan magnet.

**Perlakuan 4 ( $M_1L_1$ ).** Perlakuan  $M_1L_1$  adalah perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $FeCl_3$ .  $FeCl_3$  dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

**Perlakuan 5 ( $M_0L_2$ ).** Perlakuan  $M_0L_2$  adalah perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $ZnCl_2$ . Baik media maupun induktor tidak dipapar medan magnet.

**Perlakuan 6 ( $M_1L_2$ ).** Perlakuan  $M_1L_2$  adalah perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $ZnCl_2$ .  $ZnCl_2$  dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Pengamatan keberadaan zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri dilakukan saat kultur bakteri diinkubasi selama 10 jam dan 18 jam pada suhu 37°C.

**b) Perhitungan nilai indeks proteolitik (IP)**

Indeks Proteolitik (IP) merupakan ukuran yang menunjukkan nisbah antara diameter zona jernih terhadap diameter koloni (Durham *et al.*, 1987). Nilai IP isolat  $\geq 3$  menunjukkan bahwa isolat memiliki potensi besar dan maksimal sebagai sumber protease (Said dan Likadja, 2012). Indeks proteolitik dapat dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{B}{A}$$

Ket:

IP : Indeks Proteolitik

A : Diameter koloni

B : Diameter Zona jernih (Sumardi dan Dewi, 2010).

Isolat yang menunjukkan aktivitas enzimatis dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni bakteri dijadikan acuan pada tahap selanjutnya.

**3. Tahap Ketiga**

Tahap ketiga adalah produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $\text{FeCl}_3$  dengan konsentrasi 0.01%. Paparan medan magnet sebesar 0.2 mT diberikan pada  $\text{FeCl}_3$  dengan lama waktu pemaparan 10 menit sebelum digunakan. Uji aktivitas enzim protease dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer uv pada panjang gelombang 578 nm (Widowati dkk., 2001).

a) **Produksi Enzim Protease pada Media Cair Mendels yang dimodifikasi dan Diberi Induktor  $\text{FeCl}_3$  0.01% yang dipapar Medan Magnet 0.2 mT selama 10 menit**

Produksi enzim protease dilakukan dengan menginokulasikan 5 ml starter *Bacillus* sp. pada 45 ml media cair Mendels yang dimodifikasi dengan perlakuan sebagai berikut:

**Perlakuan 1 ( $M_0L_0$ ).** Perlakuan  $M_0L_0$  merupakan perlakuan kontrol dimana media cair Mendels yang dimodifikasi tidak diberi paparan medan magnet dan tidak diberi induktor.

**Perlakuan 2 ( $M_1L_0$ ).** Perlakuan  $M_1L_0$  adalah perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit tetapi tanpa diberi induktor.

**Perlakuan 3 ( $M_0L_1$ ).** Perlakuan  $M_0L_1$  adalah perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $\text{FeCl}_3$ . Baik media maupun induktor tidak dipapar medan magnet.

**Perlakuan 4 ( $M_1L_1$ ).** Perlakuan  $M_1L_1$  adalah perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi induktor  $\text{FeCl}_3$ .  $\text{FeCl}_3$  dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Semua perlakuan kultur diinkubasi dalam inkubator goyang dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 40°C dengan lama waktu inkubasi 24 jam yang disesuaikan dengan penelitian sebelumnya.

Ekstraksi enzim protease dilakukan dengan cara sentrifugasi media pertumbuhan bakteri dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Dengan teknik ini, sel akan mengendap oleh adanya gaya gravitasi sedangkan enzim tetap terdapat pada supernatan. Supernatan diambil sebagai sampel uji aktivitas enzim protease (Yusufa dkk., 2013).

#### **b) Uji Aktivitas Protease**

Aktivitas protease diuji dengan mengukur kadar asam amino sebagai produk hidrolisis protein susu skim oleh enzim protease (Soeka dan Sulistiyani, 2014).

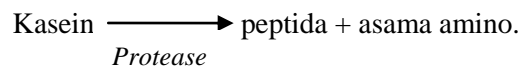
Sebanyak 0.1 ml protease ditambahkan pada campuran yang berisi 0.5 ml substrat kasein dalam buffer fosfat 0.01 M pH 7 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu ditambah 0.5 ml TCA 0.1 M kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Kemudian diambil 0.375 ml supernatan dan ditambah dengan 1.25 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.4 M dan 0.25 ml pereaksi Folin, diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm (Bergmeyer dan Grassl, 1983).

Tabel 1. Metode pengujian Aktivitas Enzim Protease

	Blanko (ml)	Standar (ml)	Sampel (ml)
Substrat Kasein dalam Buffer fosfat (0.1 M, pH 7)	0.5	0.5	0.5
Enzim	-	-	0.1
Tirosin standar	-	0.1	-
Aquades	0.1	-	-
Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit			
TCA (0.1 M)	0.5	0.5	0.5
Enzim	0.1	0.1	-
Aquades	-	-	0.1
Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit Sentrifugasi 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C			
Supernatan	0.375	0.375	0.375
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0.4 M)	1.25	1.25	1.25
Pereaksi folin (1:2)	0.25	0.25	0.25
Diamkan selama 20 menit pada suhu 37°C Baca absorbansi pada panjang gelombang 578 nm			

Prinsip kerja dari metode Bergmeyer dan Grassl, 1983 yaitu

kasein yang berfungsi sebagai substrat akan dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air menjadi peptida dan asam amino.



Aktivitas protease dihitung dalam satuan PU (Protease Unit) per ml ekstrak enzim.

$$\text{PU} = \frac{\text{Asp} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

PU : Unit Aktivitas Protease (Unit/ml)

Asp : Nilai Absorbansi Sampel

Ast : Nilai Absorbansi Strandar

Abl : Nilai Absorbansi Blanko

T : Waktu

#### D. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

dengan 6 perlakuan masing-masing 3 kali ulangan pada tahap produksi enzim



protease pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Sedangkan pada tahap produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dilakukan dengan 4 perlakuan masing-masing sebanyak 5 kali ulangan berdasarkan hasil dari tahap sebelumnya. Semua data yang telah diperoleh dianalisis dengan One Way ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji BNT Fisher menggunakan program Minitab 16.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Dari hasil pembahasan dalam tesis ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada ion logam Fe dan Zn berpengaruh terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease.
2. Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada ion logam Fe meningkatkan aktivitas enzim dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup *Bacillus* sp..

### B. Saran

Perlu ada penelitian lanjutan mengenai karakterisasi enzim protease dari *Bacillus* sp. yang memiliki aktivitas tertinggi pada penelitian ini yaitu perlakuan M<sub>1</sub>L<sub>1</sub> untuk mendapatkan informasi lebih spesifik mengenai pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT pada ion logam Fe terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dan enzim protease yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adinarayana K., Ellaiah P., dan Prasad DS. 2003. Purification and Partial Characterization of Thermostable Serine Alkaline Protease from a Newly Isolated *Bacillus subtilis* PE-11. *AAPS Pharm Scitech 4*: 56-59.
- Ali F.M., El\_Khatib A.M., Sabry S.A., Abo\_Neima S.E., dan Motaweh H.A. 2013. *Control of Staphylococcus aureus growth By electromagnetic therapy*. Biophysics Department. Faculty of Science. Cairo University. Egypt.
- Backman P.A., Brannnen P.M dan Mahaffe W.F. 1994. *Plant Respon and Disease Control Following Seed Inoculation with Bacillus sp*. Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. *Improving Plant Production with Rhizosphere Bacteria*. Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia.
- Baehaki, A., T. Nurhayati, dan M.T. Suhartono. 2005. Karakteristik Protease Dari Bakteri Patogen Saphylococcus epidermidis. *Buletin Teknologi Hasil Pertanian. Vol. VIII Nomor 2*.
- Baehaki, A., Rinto dan A. Budiman. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 22(1)*: 37-42.
- Bergmann, M.1942. *A Clasification of Poteolytic Enzims*. Adv. Enzymol.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga: Jakarta.
- Bergmeyer, H.V. dan Grassl. (1983). *Method of Enzymatic Analisis 2*. Verlag Chemia, Weinhein.
- Dilawar, Nita., Usha Chandra, G. Parthasarathy, dan Ashis Kumar B. 2008. Study Of high-pressure-induced phase transition in nanocrystalline perovskite (LaSr)(MnFe)O<sub>3</sub>. *Journal of Raman spectroscopy. 39(12)*:17-65-1771.
- Durham, D. R., D. B. Stewart, and E. J. Stellwag. 1987. *Novel alkaline and heat stable serine proteases from alkalaphilic Bacillus sp. strain GX6638. J. Bacterial., 169(6)*: 2762- 2768.

- Dwi, N. 2013. Potensi Induksi Medan Magnet Eksternal Untuk Efektivitas Fotoinaktivasi Bakteri Patogen. *Journal of Physics and Application*. Vol. I No.3.
- Emmanuelle, Amanda. 2013. Integrated Process Production and Extraction of the Fibrinolytic Protease from *Bacillus* sp. *UFPEDA 485. Biochem Biotechnol (2013) 170:1676–1688*.
- Estiasih, T. dan Ahmadi, Kgs. 2011. *Teknologi Pengolahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Farisna, ST. dan E. Zulaikha. 2015. *Resistensi Bacillus Endogenik Kalimas Surabaya terhadap Logam Besi (Fe)*. Jurusan Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Gaafar, Hanafy, Tohamy, dan Ibrahim. 2006. “Stimulation and control of *E.coli* by using an extremely low frequency magnetic field”. *Romanian J. Biophys* 16(4):283-296.
- Habibie, Fadeli M., Divan Probo Sigres, dan Luqvia Noer Islami. 2013. *Isolasi dan karakterisasi mikroba termofilik penghasil Xilanase dari lumpur panas Lapindo sebagai alternatif If Pengganti Klorin pada industri kertas*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Halliday, D., dan Resnick, R (Pantur Silaban Ph.D dan Drs. Erwin Sucipto). 1986. *Fisika*. Jakarta. Erlangga.
- He, Shiyong, Y. Feng, H. Ren, dan Y. Zhang. 2011. The Impact of Iron Oxide Magnetic Nanoparticle on the Soil Bacterial Community. *School of Biological Science and Medical Engineering*. 11: 1408 – 1417.
- Kosim, Muhammad dan SR. Putra. 2010. *Pengaruh Suhu Pada Protease dari Bacillus subtilis*. Prosiding Skripsi.
- Krepelka, P., E. Hutova dan K. Bartusek. 2013. Effect of Stationary Magnetic Fields on Different Bacterial Strains. *PIERS Proceeding. Stockholm. Sweden. Aug. 12-15*.
- Kurniawan, M. dan Muchti. 2011. *Isolasi dan Optimasi Ekstrinsik Bakteri Termoproteolitik Isolat Sumber Air Panas Semurup Kabupaten Kerinci, Jambi*
- Lehninger, A.L., 1994, “*Dasar-dasar Biokimia*”, Jilid 2, Alih bahasa: Maggy, T., Erlangga, Jakarta, 234-239.

- Lie, Jie. 2015. Study on the effect of magnetic field treatment of newly isolated *Paenibacillus* sp. *Botanical Studies* (2015) 56:2.
- Luo, Yi. 2013. Identification and Characterization of an Anti-fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerium Protease from the *Bacillus subtilis* Strain N7. *Journal of Microbiology* (2013) Vol. 51. No. 3. pp. 359–366.
- Mohammed, A.A., F.M. Ali, E.A. Gaafar, dan H.R. Magda, 1997. *Effects of magnetic field on the biophysical, biochemical properties and biological activity of Salmonella typhi*. Master Thesis. Biophysics Department. Faculty of Science. Cairo University. Egypt.
- Mubarik, N.R., 2001. Pemurnian dan Karakterisasi Protease ekstraseluler dari isolate bakteri termofilik GP-04. *Disertasi. IPB. Bogor*.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan*. Bandung: Alfabeta.
- Nadkarni R, Barkley S, dan Fradin C.2013. A Comparison of Methods to Measure the Magnetic Moment of Magnetotactic Bacteria through Analysis of Their Trajectories in External Magnetic Fields. *PLOS ONE* 8(12): e82064. doi:10.1371/journal.pone.0082064.
- Nailola, E dan Nunuk W. 2008. Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus* sp.. *Jurnal Bidang Mikrobiologi LIPI*. 13(51-56).
- Nascimento, L.F.C., Botura, Jr.G., dan Mota, R.P. 2003. “Glucose consume and growth of *E.coli* under electromagnetic field”. *Rev. Inst.Med. trop. S. Paulo* 45(2): 65-67.
- Nurmalinda A, Periadnadi dan Nurmiati. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 2(1), 8-13.
- Pamungkas, A. dan E. Zulaika. 2015. Viabilitas *Azotobacter* Pada Medium Yang Terpapar Logam Besi (Fe). *Jurnal Sains Dan Seni ITS Vol. 4, No.1, (2015) 2337-3520*.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Terjemahan Hadieotomo dkk, RS., Imas, T., Tjitrosoepomo, SS., dan Angka, SL. . Penerbit Universitas Indonesia: Jakarta.
- Purwadaria,T., A. Suwanto., dan H. Dirnawan. 2000. Eksplorasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Hidrolitik Ekstraseluler dari Sumber Air Panas Gunung Pancar. *Jurnal Hayati. Volume 7. No. 2. hlm 52-55*.
- Prescott, Harley, dan Klein, 2008. “*Microbiology, Seventh Edition.*” New York: McGraw-Hill.

- Rejeki, D.S., M. Asy'ari, dan Wuryanti. 2011. *Pengaruh Ion Zn<sup>2+</sup> Terhadap Aktivitas Protease Ekstraseluler Bakteri Halofilik Isolat Bittern Tambak Garam Madura*. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Diponegoro Semarang.
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. *Buletin AgroBio* 5(1):29-36.
- Rohma. A. 2013. *Pengaruh Medan Magnet Terhadap Aktivitas Enzim  $\alpha$ - Amilase Pada Kecambah Kacang Merah Dan Kacang Buncis Hitam (Phaseolus Vulgaris L.)*. Lampung: Universitas Lampung.
- Said, M.I dan J.C. Likadja. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *JITP Vol. 2 No. 2*. UGM.
- Sari, E.K.N., Susilo, B., Sumarlan, S.H. 2012. Proses Pengawetan Sari Buah Apel (*Mallus sylvestris Mill*) secara Non-Termal Berbasis Teknologi *Oscillating Magnetizing Field* (OMF). *Jurnal*. Vol.13 No.2:78-87.
- Setyasih, Nevi, R. Agustina, T.T. Handayani dan E. Ernawati. 2013. Pengaruh Medan Magnet 0,3 mT terhadap Stomata Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Sipahutar, W.S. 2015. *Efek Waktu Wet Milling dan Suhu Anneling Terhadap Sifat Fisis, Monostruktur dan Magnet Dari Flakes NdFeB*. Prosiding Fisika Universitas Sumatra Utara.
- Sholihah, F.R. dan M. Zainuri. 2012. Pengaruh  *Holding Time* Kalsinasi Terhadap Sifat Kemagnetan Barium M-hexaferrite ( $\text{BaFe}_{12-x}\text{Zn}_x\text{O}_{19}$ ) dengan ion doping Zn. *Jurnal Sains dan Seni ITS vol. 1, no. 1*.
- Soeka, Y.S., S.H. Rahayu, N. Setianingrum, dan E. Naiola. 2011. Kemampuan  *bacillus licheniformis* dalam Memproduksi enzim protease yang bersifat Alkalin dan termofilik. *Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 2*.
- Soeka, Y.S. dan Sulistiani. 2014. Karakterisasi Protease Bacillus subtilis A1 InaCC B398 Yang Diisolasi Dari Terasi Samarinda. *Berita Biologi 13 (2) Bidang Biologi. Puslit-LIPI*.
- Soesanto, S.S. 1996. Medan Elektromagnet. *Artikel Media Litbang. Vol II No. 03: 1-12*.

- Sudarti, Nurhayati, E. Ruriani, dan V.T. Hersa. 2014. Prevalence of Salmonella Typhimurium on Gado-Gado Seasoning by Treatment of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Field. *Artikel-ELF-Salmonella*. Jember University.
- Suhartono, M. T. 1991. *Protease*, PAU Bioteknologi IPB. Bogor.
- Sumantha, A., C. Larroche, dan A. Pandey. 2006. Microbiology and industrial of foodgrade protease : A perspective. *Food. Technology, Biotechnology*, 44, 2, 211-220.
- Sumardi, dan Dewi. 2009. *Isolasi Bacillus Penghasil Protease Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung*. Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat. Unila.
- Susanto, J.P., dan N. Sopiah. 2003. Pengaruh Logam dan Konsentrasi Substrat Terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Bakteri Proteolitik pada proses Deproteinasi Cangkang Rajungan. *Jurnal Tek. Ling. P3TL-BPPT*. 4(1): 40-45.
- Sutariningsih, Endang. 2012. *Potensi Pengguna Magnetic Pengguna Fe dan Hg*. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.
- Sutresna, Nana. 2006. *Kimia*. Grafindo Media Pratama: Jakarta.
- Trianie, F.A. 2014. *Pengaruh fortifikasi besi dan zinc terhadap Total bakteri asam laktat, ph, dan Organoleptik yoghurt susu kambing sinbiotik*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Vidyasagar, M., Prakash S., Litchfield C., dan Sreeramulu K. 2006. "Purification and Characterization of a' Thermostable. *Haloalkaliphilic Extracellular Serine Protease from The Extreme Halophilic Archaeon Halogeometricum Borinquense strain TSS101*". Heron Publishing Victoria. Kanada. 51-57.
- Vijayaraghavan, Ponnuswamy dan Samuel Gnana Prakash Vincent. 2013. A simple method for the detection of protease activity on agar plates using bromocresolgreen dye. *J Biochem Tech* 4(3): 628-630
- Widowati, S., Sukarno, L., dan Raharto, P. 2000. "Studi Pengaruh Penambahan Mineral terhadap Aktivitas Protease dari *Bacillus circulans* 9b3". Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. 236-244.
- Wong, K.K.Y. dan J.N. Saddler. 1993. Applications of hemicellulases in the food and pulp and paper industries. *In Coughlan and Hazlewood (Eds.)*. Hemicelluloses and Hemicellulases. *Portland Press. London. p. 127-143*.

- Wongsa, P., S. Supotina, M. Isaka. 2007. Optimizaton of cultures conditions for production of the anti-tubercular alkaloid hirsutellon A by *Trichoderma gelatinosum* BCC 7579. *Letters in Applied Microbiology*. Volume 44. issue 5. pages 531 – 537.
- Yusufa, Mohammad H., Masdiana C. Padaga, Dyah A., dan Octavianie. 2012. *Identifikasi dan studi aktivitas protease Bacillus sp asal limbah cair rumah potong ayam tradisional sebagai kandidat penghasil biodeterjen*. Universitas Brawijaya.
- Zahidah, D. dan M. Shovitri. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal sains dan seni pomits vol. 2, no.1*. Jurusan Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Semarang.