Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah p-ISSN 2623-1611
Volume 4 Nomor 1 Halaman 157-162 April 2019 e-ISSN 2623-1980

EFEK SUHU TERHADAP AKTIVITAS SPESIFIK ENZIM PEREDUKSI Cr(VI) OLEH *Bacillus cereus* ISOLAT AB13 DARI TANAH SERPENTIN

Effects of Temperature on Specific Enzyme Activity of Cr(VI) Reducting by *Bacillus cereus* Isolate AB13 from Serpentine Soil

Rayi Heristyara *, Badruzsaufari, Ika Oksi Susilawati
Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jl Jend. A. Yani KM. 36, Banjarbaru, Indonesia
* Penulis koresponden: rayiheristyara94@gmail.com

Abstract

Chromium hexavalent is a toxic and has potential to pollute the environment. One way to reduce the toxic is by converting Cr(VI) into Cr(III) by means of bioremediation using enzymes from the bacteria isolated from Cr soil-resistant. This is because Cr(III) which is less toxic than Cr(VI). One of the bacteria that has the potential as a bioremediation agent is *Bacillus cereus* isolate AB13 from serpentine soil. However, some changes in environmental conditions will affect the activity of an enzyme. Inappropriate temperature will cause protein in an enzyme to be damaged or inactive, so that the function and activity of enzyme are reduced. Until now, the effect of temperature on specific activity enzyme by enzyme Cr(VI) reduction has yet to be known. In order to determine the effect of temperature on specific activity enzyme by bacteria *Bacillus cereus* isolate AB13, the research was conducted as followed: rejuvenation and culture of isolate AB13, fractionation of cell-free media and cell-free extracts, measurement of enzyme protein content by the *Bradford* method and measurement of Cr(VI) reduction by chromate reductase by DPC method with an incubation temperature between 25°C-55°C. Specific enzyme activity is the number of units of enzyme activity per total of protein. Specific activity of enzyme shows the level of purity of an enzyme. The higher specific activity of an enzyme, the higher the purity of the enzyme. The results showed that the increase in specific enzyme activity occurred at temperatures from 30°C to 35°C. The optimum temperature was 35°C with specific enzyme activity of 0.0390 U/mg in cell-free culture media (S1 fraction) and 0.0445 U/mg in cell-free extracts (fraction S2). While at temperatures from 40°C to 55°C there was decreasing specific enzyme activity.

Keywords: Specific activity, Cr(VI), effects of temperature, enzyme

1. PENDAHULUAN

Kromium heksavalen (Cr(VI)) merupakan salah satu logam berat penting yang banyak digunakan pada proses produksi di industri, seperti industri penyamakan, pewarnaan kain, kontrol korosi, pelapisan logam, dan pigment *manufacture* (Ackerley *et al.* 2004). Tahapan proses yang dilakukan oleh industri tersebut dapat menghasilkan limbah yang mengandung Cr(VI) di lingkungan. Kromium heksavalen tersebut sangat mudah larut sehingga mudah menyebar di lingkungan. Saat ini Cr(VI) menjadi perhatian besar karena Cr(VI) merupakan polutan lingkungan yang bersifat toksik, baik pada hewan maupun tumbuhan dan berpotensi menimbulkan kerusakan ekosistem bila konsentrasinya di lingkungan melebihi ambang batas. Kromium heksavalen telah terdaftar sebagai karsinogenik kelas A bagi manusia di US-EPA (Ibrahim 2011). Kromium yang berada di dalam tubuh dapat menyebabkan reaksi alergi, peradangan, keracunan, kerusakan organ tubuh, penyakit kanker bahkan hingga kematian jika konsentrasinya melebihi ambang batas .Batas toleransi kadar logam kromium di dalam tubuh adalah 0,05 mg/L (Naimah dan Ermawati 2011).

Salah satu cara mengurangi sifat toksiknya adalah dengan mengubah bentuk Cr(VI) menjadi Cr(III) melalui bioremediasi menggunakan bakteri yang diisolasi dari tanah yang tahan terhadap Cr. Hal ini dikarenakan Cr(III) yang bersifat lebih non-toksik dalam kondisi aerobik, anaerobik, ataupun keduanya serta sedikit larut dalam air sehingga lebih sedikit dampak yang ditimbulkan bagi lingkungan jika dibandingkan dengan Cr(VI) (Abskharon *et al*., 2009). Jika dibandingkan dengan bakteri pada tanah yang tidak mengandung logam berat, bakteri dari tanah serpentin lebih toleran terhadap logam berat seperti nikel dan besi (Abou-Shanab *et al.* 2007). Menurut Sadi (2009), kemampuan organisme untuk bertahan hidup dalam lingkungan yang tercemar logam berat dapat disebabkan oleh sejumlah mekanisme pertahanan yang dikembangkan oleh

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

p-ISSN 2623-1611
e-ISSN 2623-1980

mikroorganisme itu sendiri dalam mengatasi toksisitas logam berat.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Ramadani (2009), didapatkan sebanyak delapan isolat bakteri yang telah diidentifikasi dan diketahui mampu mereduksi Cr(VI). Salah satu jenis isolat bakteri tersebut adalah *Bacillus cereus* strain AB13 yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi. Kemampuan tersebut disebabkan karena bakteri tersebut menghasilkan enzim berupa enzim kromat reduktase yang mampu mengubah Cr(VI) menjadi Cr(III) (Aisyah *et al.,* 2017). Menurut Triatmojo *et al.,* (2001), Senyawa Cr(VI) di dalam sel akan mengalami tranformasi kimia, yaitu perubahan valensi dari 6 menjadi 3 oleh enzim kromat reduktase. Secara umum, terdapat 3 mekanisme reduksi Cr(VI), yaitu reduksi Cr(VI) oleh enzim dan komponen sitoplasma (Ackerley *et al.* 2004), reduksi Cr(VI) oleh enzim reduktase terlarut (*soluble*), dan reduksi Cr(VI) oleh enzim reduktase terikat protein membran (*membrane-bound protein*) (Cheung dan Gu 2007).

Kromium heksavalen lebih cepat larut dan 100 kali lebih bersifat toksik dari Cr(III). Biotrasformasi kromat oleh bakteri tahan kromium dapat menjadi solusi ekonomis dan ramah lingkungan untuk deksifikasi dan bioremediasi Cr(VI). Keuntungan menggunakan bakteri untuk reduksi Cr(VI) adalah bahwa ia tidak memerlukan input energi yang tinggi atau reagen kimia yang beracun, memungkinkan untuk menggunakan strain asli sehingga tidak berbahaya (Abskharon *et al*. 2009).

Kromat reduktase merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi Cr(VI) menjadi Cr(III) (Nextprot, 2011). Enzim tersebut dapat mengubah bentuk ion logam ke bentuk tidak larut (Park *et al.* 2000). Enzim sendiri merupakan protein yang memiliki aktivitas biokimiawi sebagai katalis dalam suatu reaksi, sehingga sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan kondisi lingkungan akan mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Suhu yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisis pada suatu reaksi dengan baik. Sebaliknya, suhu yang kurang sesuai akan mengakibatkan protein dalam suatu enzim mengalami kerusakan atau tidak aktif, sehingga fungsi dan aktivitas enzimnya berkurang (Budiman dan Setyawan 2010). Menurut Kurnia (2010), enzim memiliki beberaapa sifat yang khas, yaitu dapat bekerja dengan sangat aktif walaupun dalam konsentrasi yang rendah, sangat selektif dan bekerja tanpa suhu dan tekanan yang tinggi sehingga dapat bekerja pada kondisi yang ramah. Umumnya enzim tidak stabil pada kondisi pH dan suhu yang ekstrim, padahal kondisi tersebut diperlukan dalam proses industri (Yandri *et al*. 2007).

Sifat enzim tentu akan mempengaruhi aktivitas spesifik enzim. Aktivitas spesifik enzim merupakan jumlah unit aktivitas enzim per jumlah protein yang digunakan. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan tingkat kemurnian suatu enzim, dimana semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim maka semakin tinggi kemurnian enzim tersebut (Wuryanti 2003). Oleh sebab itu, perlu diketahui pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik enzim pereduksi Cr(VI).

Hingga kini aktivitas enzim kromat reduktase yang dimiliki bakteri pereduksi kromium *Bacillus cereus* isolat AB13 masih belum diketahui secara pasti mengenai efek suhu terhadap laju reduksi kromium serta aktivitas spesifiknya. Oleh sebab itu, untuk memperoleh informasi tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengukur kadar protein yang mampu dihasilkan oleh bakteri dengan metode bradford, regulasi kromat reduktase dengan metode DPC, dan efek dan suhu pada aktivitas kromat reduktase. Informasi tersebut dapat digunakan untuk menunjang pengembangan potensi bakteri sebagai agen bioremediasi kromium.

2. METODE

2.1 Peremajaan Isolat Bakteri

Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus cereus* isolat AB13 yang diperoleh dari penelitian sebelumnya dan memiliki potensi untuk mereduksi Cr(VI). Peremajaan dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri di agar miring (stok isolat bakteri) ke media LB agar. Media LB agar dibuat dengan campuran LB *broth* dan agar yang dilarutkan dalam akuades dan disterilisasi dengan menggunakan otoklaf. Isolat bakteri tersebut kemudian diinokulasi dalam media LB + Agar dan diinkubasi pada suhu 30˚C selama 24 jam dalam inkubator. Isolat bakteri yang telah diremajakan tersebut disimpan dalam *referigator* sebagai stok isolat.

2.2 Kultur Isolat Bakteri ke Media dengan Cr(VI) 50 ppm

Isolat bakteri yang telah diremajakan kemudian diseleksi untuk uji ketahanan isolat bakteri yang tahan dan mampu tumbuh di media yang diberi Cr(VI). Kromium heksavalen dengan konsentrasi 50 ppm yang telah disaring dengan membran filter 0,2 µM kemudian ditambahkan ke media pertumbuhan berupa media LB + agar dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

p-ISSN 2623-1611
e-ISSN 2623-1980

2.3 Fraksinasi Media Bebas Sel dan Ekstrak Bebas Sel

Isolasi protein menggunakan metode fraksinasi sel oleh Ilias *et al.* (2011) yang telah dimodifikasi. Isolat bakteri dari yang tumbuh pada media LB agar + Cr(VI) 50 ppm kemudian dikultur dalam 5 mL LB *broth* dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Kultur isolat bakteri tersebut lalu disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm selama 4 menit hingga diperoleh supernatan dan pellet. Supernatan dipisahkan dari pellet menggunakan *micropipet* secara berhati-hati agar pellet tidak tercampur. Supernatan perolehan adalah media ekstrak bebas sel (fraksi S1) lalu disimpan pada suhu 4°C untuk selanjutnya diuji aktivitas enzim kromat reduktase.

Pellet dicuci dengan cara disuspensikan dalam 1,5 mL buffer fosfat (100 mM, pH 7) kemudian dihomogenisasi dengan vortex. Buffer fosfat berfungsi sebagai larutan penyangga agar pH larutan stabil. Homogenat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 2 menit. Setelah dicuci, pellet disuspensikan dalam 0,5 mL buffer fosfat dan dihomogenisasi dengan bor sebagai pengganti *micropastle* untuk menghancurkan sel selama 2x2 menit. Homogenisasi dilakukan dengan jeda selama 30 detik setiap 2 menit. Homogenat hasil homogenasi kemudian disentrifugasi pada suhu 4°C selama 4 menit dengan kecepatan 15.000 rpm. Proses homogenasi dilakukan dalam suasana dingin (dibawah suhu ruang) di dalam *ice box* untuk menjaga kondisi enzim pada fraksi. Supernatan dari homogenat, yakni ektrak bebas sel (fraksi S2), dipindahkan ke tube baru. Media kultur bebas sel dan ekstrak bebas sel disimpan pada suhu 4°C untuk diuji aktivitas enzim kromat reduktase.

2.4 Pengukuran Kadar Protein Enzim

Kadar protein dalam tiap fraksi diketahui melalui pengukuran kadar protein dengan metode *Bradford*. Sebanyak 40 µl dari tiap fraksi diambil lalu dipindahkan ke dalam *tube* dan ditambahkan dengan 10 µl NaCl sehingga total larutannya menjadi 50 µl. Sebanyak 20 µl larutan tersebut dimasukkan ke dalam sumur *microplate* dan ditambahkan 200 µl ml reagen *Bradford* (amresco). Setelah ditambahkan reagen *Bradford*, dilakukan pipetting secara perlahan pada campuran tersebut agar campuran fraksi dan reagen *Bradford* homogen. Campuran kemudian didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang. Blanko 1 menggunakan 20 µl NaCL yang ditambahkan 200 µl reagen *Bradford* sedangkan blanko 2 mengunakan 20 µl buffer fosfat dengan 200 µl reagen *Bradford* dan didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 595 nm.

Konsentrasi enzim dapat ditentukan berdasarkan standar konsentrasi protein. Sebagai acuan digunakan kurva standar yang dibuat dengan prosedur yang dikeluarkan pabrik reagen (amresco) menggunakan *buvine serum albumin* (BSA) dengan konsentrasi 0 ; 2,5; 5; 7,5; 10 µg/100 µl.

2.5 Efek Suhu terhadap Aktivitas Enzim Pereduksi Cr(VI)

Efek suhu pada aktivitas enzim pereduksi Cr(VI) dari fraksi diuji dengan metode yang dimodifikasi dari Ilias *et al*. (2011) dengan variasi suhu inkubasi berkisar 25°C-55°C. Campuran reaksi untuk mengukur aktivitas enzim di atas mengandung 20 ppm Cr(VI) dalam 2380 µl buffer fosfat (100 mM, pH 7.0) yang diinkubasi pada suhu 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C dan 55°C dalam *water bath*. Reaksi dimulai saat ditambahkan 0,5 mL larutan fraksi kedalam campuran. Kandungan Cr(VI) dalam campuran tersebut kemudian diukur setelah reaksi dimulai dengan menggunakna metode DPC yang telah dimodifikasi Ilias *et al*. (2011). Sebanyak 1 mL larutan fraksi di dalam erlenmeyer ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dan 0,15 mL (3 tetes) H_3PO_4 untuk menghentikan laju reaksi. Setelah itu larutan ditera dalam labu ukur 100 mL dan diuji DPC dengan ditambahkan reagen *1,5-dipfenylcarbazide* (DPC) sebanyak 2 mL lalu dihomogenkan. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kontrol positif dibuat dengan 2880 µl buffer fosfat yang mengandung 20 ppm Cr(VI). Pengukuran dilakukan 2 kali pada 0 jam inkubasi sebelum terjadi reduksi dan 1 jam inkubasi setelah terjadi proses reduksi. Unit aktivitas enzim reduktase (U/mL) merupakan jumlah sisa Cr(VI) per waktu (menit) pada suhu 30˚C yang dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{\Sigma \text{ Cr(VI) sebelum} - \Sigma \text{ Cr(VI) sesudah reduksi}}{\text{unit}}$$

2.6 Perhitungan Aktivitas Spesifik Enzim Pereduksi Cr(VI)

Aktivitas spesifik enzim merupakan jumlah unit aktivitas enzim per jumlah protein yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

p-ISSN 2623-1611
e-ISSN 2623-1980

$$\text{Aktivitas spesifik enzim (U/mg)} = \frac{\text{Unit aktivitas enzim (U/mL)}}{\text{Kadar protein enzim (mg)}}$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kadar Protein dan Aktivitas Enzim Pereduksi Cr(VI)

Penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan menggunakan metode *Bradford* dengan BSA sebagai standar. Pada prinsipnya, protein pada sampel larutan akan berikatan dengan pewarna CBB (*Coomassie Brilliant Blue*) dalam suasana asam dengan panjang gelombang maksimumnya adalah 595 nm, yang didasarkan pada warna reagen CBBG (*Coomassie Brilliant Blue* G-250) bebas yaitu merah-kecokelatan (Imaks 465 nm) sedangkan dalam suasana basa reagen CBBG akan berada dalam bentuk anion yang akan mengikat protein membentuk warna biru (Imaks 595nm) (Kamizakea *et al.* 2003).

Tabel 1. Kadar protein dan aktivitas enzim pereduksi Cr(VI)

Fraksi	Suhu (°C)	Kadar Protein (mL)	Aktivitas Enzim (U/mg)
S1	25	0.020	0.00004
	30	0.020	0.00039
	35	0.024	0.00092
	40	0.038	0.00036
	45	0.027	0.00023
	50	0.038	0.00025
	55	0.037	0.00007
S2	25	0.013	0.00007
	30	0.013	0.00026
	35	0.025	0.00113
	40	0.013	0.00047
	45	0.016	0.00024
	50	0.018	0.00021
	55	0.017	0.00013

Suhu memberikan efek terhadap aktivitas enzim dari isolat AB13 (Tabel 1). Pada media kultur bebas sel (fraksi S1), aktivitas enzim mengalami peningkatan aktivitas pada suhu 30°C hingga 35°C, dan berada pada suhu optimum di suhu 35°C dengan nilai aktivitas enzim 0.00092 U/mg. Aktivitas enzim terus mengalami penurunan pada saat suhu 40°C hingga 55°C. Tidak jauh berbeda dengan media kultur bebas sel, pada ekstrak bebas sel (fraksi S2), aktivitas enzim meningkat pada suhu 30°C hingga 35°C dan terus mengalami penurunan saat suhu 40°C hingga 55°C. Aktivitas enzim mencapai optimum pada suhu 35°C 0.00113 U/mg. Hal ini menunjukan bahwa bakteri *Bacillus cereus* isolat AB13 bekerja optimum dalam mereduksi Cr(VI) pada suhu 35°C.

Berdasarkan uji kadar protein dengan menggunakan reagen *Bradford*, media kultur bebas sel (fraksi S2) memiliki kadar protein yang lebih tinggi dengan rata-rata kadar protein sebesar 0,029 mg dibandingkan ektrak bebas sel (fraksi S1) dengan rata-rata kadar protein sebesar 0,017 mg. Namun kadar protein yang tinggi pada media kultur bebas sel diperkirakan belum tentu semuanya merupakan enzim kromat reduktase, sebab tidak semua protein merupakan enzim. Oleh karena itu untuk mengetahui secara spesifik nilai aktivitas enzim, perlu dilakukan perhitungan dengan membagi nilai aktivitas enzim (unit enzim) dengan jumlah protein. Nilai ini lah yang merupakan aktivitas spesifik enzim. Tingginya nilai aktivitas spesifik enzim tidak mutlak berdasarkan tingginya kandungan protein.

3.2 Efek Suhu terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Pereduksi Cr(VI)

Berdasarkan jumlah unit aktivitas enzim per jumlah protein yang dapat digunakan, maka dapat diketahui nilai aktivitas spesifik enzim pada isolat AB13 melalui perhitungan. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan tingkat kemurnian suatu enzim, dimana semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim, maka semakin tinggi pula kemurnian enzim tersebut (Wuryanti 2003). Hasil uji aktivitas spesifik enzim menunjukkan bahwa aktivitas spesifik pada ekstrak bebas sel (fraksi S2) lebih tinggi daripada aktivitas spesifik enzim di media kultur bebas sel, yang menunjukan bahwa tingkat kemurnian enzim pada ekstrak bebas sel lebih tinggi daripada media kultur bebas sel.

Sama halnya seperti aktivitas enzim, suhu juga memberikan pengaruh pada aktivitas spesifik enzim. Pada suhu 25°C, aktivitas spesifik enzim pada S1 0,0022 U/mg, sedangkan pada S2 0,0056 U/mg (Tabel 2). Aktivitas spesifik enzim terus meningkat hingga suhu 35°C, dimana nilai aktivitas spesifik pada S1 0,0390 U/mg dan pada S2 0,0445 U/mg. Namun, aktivitas spesifik enzim menurun pada suhu 40°C hingga 55°C.

Suhu optimum untuk aktivitas spesifik enzim 35°C dengan aktivitas spesifik 0.0390 U/mg pada media kultur bebas sel (fraksi S1) dan 0.0445 U/mg pada ekstrak bebas sel (fraksi S2), sedangkan aktivitas spesifik enzim mengalami penurunan pada suhu 40°C hingga 55°C (Gambar 1). Hal ini disebabkan pada rentang suhu tersebut enzim mengalami denaturasi (Wuryanti 2003). Suhu yang

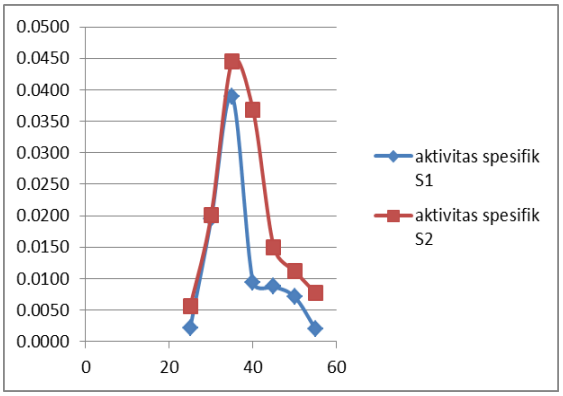
© Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

p-ISSN 2623-1611
e-ISSN 2623-1980

terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi sehingga struktur enzim rusak dan tidak lagi aktif mengkatalisis. Hhal ini akan mengganggu fungsi kerja enzim tersebut (Situmorang 2003).

Tabel 2. Aktivitas spesifik enzim pereduksi Cr(VI) oleh bakteri *Bacillus cereus* isolate AB13

Suhu (°C)	Aktivitas spesifik enzim (U/mg)	
	S1	S2
25	0.0022	0.0056
30	0.0194	0.0201
35	0.0390	0.0445
40	0.0094	0.0368
45	0.0085	0.0150
50	0.0066	0.0112
55	0.0020	0.0077



Gambar 1. Efek suhu terhadap aktivitas spesifik enzim enzim pereduksi Cr(VI) oleh bakteri *Bacillus cereus* isolate AB13

Suhu sangat berhubungan erat dengan energi aktivitas dan kestabilan enzim. Peningkatan suhu selama reaksi dapat menyebabkan peningkatan kecepatan reaksi dan meningkatkan kecepatan inaktivitasi enzim. Suhu yang melebihi batas optimum suatu enzim dapat merusak struktur enzim sehingga fungsi kerja enzim dapat berkurang (Kumaunang 2011). Kenaikan aktivitas spesifik enzim pada enzim pereduksi Cr(VI) oleh bakteri *Bacillus cereus* isolat AB13 terjadi pada suhu 30°C dan 35°C.

4. SIMPULAN

Suhu memberikan pengaruh pada aktivitas spesifik enzim pereduksi Cr(VI). Suhu optimum untuk aktivitas spesifik enzim dari bakteri *Bacillus cereus* isolat AB13 adalah suhu 35°C sebesar 0.0390 U/mg pada media kultur bebas sel (fraksi S1) dan 0.0445 U/mg pada ekstrak bebas sel (fraksi S2). Aktivitas spesifik enzim menunjukkan tingkat kemurnian suatu enzim. Namun tingginya nilai aktivitas spesifik enzim tidak mutlak berdasarkan tingginya kandungan protein sebab tidak semua protein merupakan enzim.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya sampaikan kepada Arif Alamsyah yang telah banyak membantu penelitian selama di laboratorium.

6. DAFTAR PUSTAKA

Abskharon RNN, El-Rab SMFG, Hassan SHA, Shareit AAM. 2010. Reduction of toxic hexavalent chromium by *E. coli*. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 5(2): 129-135.

Abou-Shanab RAI, Berkum PV, Angle,JS. 2007. Heavy metal resistance and genotypic analysis of metal resistance genes in gram-positive and gram-negative Bacteria present in Ni-rich serpentine soil and in the Rhizosphere of alyssum murale. *Chemosphere* 68: 360–367.

Ackerley DF, Gonzalez CF, Keyhan M, Blake R, Matin A. (2004a). Mechanism of chromate reduction by the *Escherichia coli* protein, NfsA, and the role of different chromate reductases in minimizing oxidative stress during chromate reduction. *Environmental Microbiology* 6(8): 851–860.

Ackerley, D. F., Gonzalez, C. F., Park, C. H., Blake, R. II., Keyhan, M., & Matin A. (2004b). Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology* 70(2): 873-882.

Aisyah, Mursyidin DH, Nur HS, Badruzsaufari. 2017. Identifikasi bakteri pereduksi kromium dari tanah serpentin. *Bioscientiae* 14(1): 16-24

Budiman A, Setyawan S. 2010. *Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi.* Diakses dari http://eprints.undip.ac.id/3650/

Cheung KH, Gu JD. 2007. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59: 8-15.

Ilias M, Rafiqullah IM, Debnath BC, Mannan KSB, Hoq M M. 2011. Isolation and characterization of chromium(VI) reducing Bacteria from tannery effluents. *Indian Journal Microbiol* 51(1): 76–81.

Kamizake NKK, Goncalves MM, Zaiab CTBV, Zaia DAM. 2003. Determination of total proteins in cow milk powder samples: A comparative study between the Kjeldahl Method and Spectrophotometric Methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 16: 507–516.

© Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

p-ISSN 2623-1611
e-ISSN 2623-1980

Kumauang M, Kamu V. 2011. Aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kulit nenas (*Anenas comosus*). *Jurnal Ilmiah Sains Universitas Sam Ratulangi* 11(2):3.

Naimah S, Ermawati R. 2011. Biosorpsi logam berat Cr (Vi) dari limbah industri pelapisan logam menggunakan biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari hasil samping fermentasi bir. *J. Kimia Kemasan* 33(1): 113-117.

Park CH, Keyhan M, Wielinga B, Fendorf S, Matin A. 2000. Purification to homogeneity and characterization of a novel Pseudomonas putida chromate reductase. *App.Env.Microb* 66(5): 1788 – 1795.

Triatmojo S, Sihombing DTH, Djojowidagdo S, Wiradarya TR. 2001. Biosorpsi dan reduksi krom limbah penyamakan kulit dengan biomassa *Fusarium* sp. dan *Aspergillus niger*. *Manusia dan Lingkungan* 8(2):70-81.

Wuryanti. 2003. Penentuan aktivitas spesifik heksokinase dari limbah anggur pisang biji. *JSKA* 7(3):2,4.

Yandri, Herasari ASD, Suhartati T. 2007. Isolasi, pemurnian dan karakterisasi enzim protease termostabil dari isolat bakteri lokal *Bacillus subtilis* ITBCCB148. *J. Sains MIPA* 13(2):100-106.