

Sfy.1924  
nu  
1 e.

Dosen Muda



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEOLITIK DARI  
ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK SUMBER AIR PANAS  
GONOHARJO DAN PLANTUNGAN, KENDAL  
JAWA TENGAH**

**LAPORAN KEGIATAN**

Oleh:

**Dra. Nies Suci Mulyani, MS.**

**Agustina L.N.A., SSi., MSi.**

---

**Dibiayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi,  
Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian  
Pelaksanaan Penelitian Dosen Muda  
Nomor: 103/P4T/DPPM/DM,SKW,SOSAG//III/2004 Tanggal 25 Maret 2004**

**FAKULTAS MIPA  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
NOPEMBER, 2004**

**HALAMAN PENGESAHAN  
PENELITIAN DOSEN MUDA**

1. a. Judul Penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Enzim Proteolitik Dari Isolat Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gonoharjo dan Plantungan  
b. Bidang Ilmu :  
c. Kategori penelitian : MIPA/Kimia/Biokimia
2. Ketua peneliti : Pengembangan Ilmu Pengetahuan  
a. Nama lengkap dan gelar :  
b. Jenis Kelamin : Dra. Nies Suci Mulyani, MS.  
c. Golongan/pangkat/NIP : Perempuan  
d. Jabatan fungsional : III-b/ Penata Muda Tk I / 131 597 639  
e. Jabatan struktural : Asisten Ahli  
f. Fakultas/jurusan :  
g. Pusat penelitian : MIPA / Kimia
3. Jumlah anggota Peneliti : Lembaga Penelitian UNDIP  
a. Nama anggota : 1
4. Lokasi Penelitian : Agustina Lulustyaningati Nurul Aminin, SSi.,MSi.  
: Lab. Biokimia Jurusan Kimia FMIPA  
: Universitas Diponegoro
5. Kerjasama dengan istitusi lain :  
6. Lama penelitian :  
7. Biaya yang diperlukan : 10 bulan  
a. Sumber dari DIKTI :  
b. Sumber lain : Rp. 6.000.000,-  
Jumlah :  
: Rp. 6.000.000,-

Semarang, 4 Nopember 2004

Ketua peneliti,



Dra. Nies Suci Mulyani, MS  
NIP. 131 597 639



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEOLITIK DARI ISOLAT  
BAKTERI TERMOFILIK SUMBER AIR PANAS GONOHARJO DAN  
PLANTUNGAN, KENDAL, JAWA TENGAH**

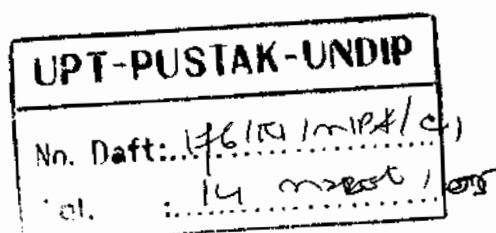
**Nies Suci Mulyani, Agustina L.N.A**

**2004, 21 halaman**

**RINGKASAN**

Enzim protease dari isolat bakteri termofilik sumber air panas Gonoharjo dan Plantungan Kendal telah dikarakterisasi. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode screening dengan medium gelatin. Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium NA sebagai biakan murninya. Medium Skim Milk Broth digunakan dalam produksi enzim. Isolasi enzim dilakukan dengan metode ekstraksi. Hasil isolasi difraksinasi bertingkat dengan menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0-20% (F<sub>1</sub>), 20-40%(F<sub>2</sub>), 40-60% (F<sub>3</sub>) , dan 60-80% (F<sub>4</sub>), dilanjutkan dengan dialisis dalam buffer fosfat. Fraksi yang didapat diuji aktivitasnya menggunakan substrat kasein dan diukur secara spektrofotometer pada panjang gelombang optimum dari kasein. Karakterisasi yang dilakukan meliputi penentuan temperatur, pH dan waktu inkubasi optimum. kedua enzim baik yang diisolasi dari isolate Plantungan maupun Gonoharjo menunjukkan aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi F<sub>2</sub>. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa protease dari Plantungan menunjukkan aktivitas optimum pada temperatur 40°C sedangkan protease Gonoharjo pada 44°C. Kedua enzim menunjukkan aktivitas optimal pada pH 7,5 dan waktu inkubasi optimal 15 menit.

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas  
Diponegoro, Kontrak Nomor: 103/P4T/DPPM/DM,SKW,SOSAG//III/2004  
Tanggal 25 Maret 2004



**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PROTEOLITIC ENZYMES FROM  
THERMOPHILIC BACTERIA OF GONOHARJO AND PLANTUNGAN,  
KENDAL, CENTRAL OF JAVA, HOT SPRINGS**

**Nies Suci Mulyani, Agustina L.N.A**

**2004, 21 pages**

**SUMMARY**

Protease enzymes from thermopiles bacteria isolate from Gonoharjo and Plantungan Kendal hot springs have been characterized. The isolation of bacteria was done by screening method using gelatin medium. Bacteria isolate was grown on NA medium for maintenance while, the Skim Milk Broth used in the enzyme production. The Enzyme isolation was done using the extraction method. The isolation product were then fractionated by adding ammonium sulphate with the different saturated degree i.e. F<sub>1</sub> (0-20%), F<sub>2</sub> (20-40%), F<sub>3</sub> (40-60%) and F<sub>4</sub> (60-80%), followed by dialysis in phosphate buffer. The products were tested on their enzyme activity using spectrophotometer at casein weave length. The enzyme characterization was carried out by determination of the optimum pH temperature and incubation time. The results showed that the enzyme fraction 2 has the highest specific activity. The optimum temperature for Plantungan protease is 40<sup>o</sup> C and Gonoharjo protease is 44<sup>o</sup>C. Both enzymes showed optimum pH at 7,5 and the optimum incubation time are 15 minutes respectively.

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Diponegoro  
University, Contract Number: 103/P4T/DPPM/DM,SKW,SOSAG/III/2004  
25 March 2004

## KATA PENGANTAR

Kajian mengenai biokatalis yang mampu bekerja pada kondisi ekstrim telah dikembangkan sejak 10 tahun terakhir, walaupun demikian kajian di bidang ini masih baru bagi dunia penelitian di Indonesia. Kami, selaku peneliti pada institusi yang baru berkembang bermaksud mengembangkan kajian ini dalam rangka meningkatkan atmosfer penelitian yang bersifat unggul dan mutakhir, serta berharap bisa ikut berperan memberi andil terhadap kebutuhan akan ekstremozim bagi bidang industri atau kesehatan. Hal ini didukung pula oleh ketersediaan sumber air panas sebagai habitat bakteri-bakteri termofilik yang merupakan salah satu sumber enzim termostabil, cukup melimpah di sekitar wilayah institusi kami. Penelitian ini juga menjadi sarana pembelajaran bagi para mahasiswa yang tertarik menekuni wilayah penelitian ini untuk terlibat aktif mengeksplorasi enzim-enzim sejenis dari sumber yang lain. Hasil-hasil penelitian ini akan menjadi awal bagi riset-riset di masa mendatang yang diarahkan kepada manipulasi genetik.

Kami menyampaikan banyak terima kasih kepada kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan maupun dukungan bagi terlaksananya penelitian. Demikian pula halnya kepada pimpinan DP3M Dirjen Dikti, Lembaga Penelitian UNDIP, Fakultas MIPA, maupun Jurusan Kimia yang telah memfasilitasi terlaksananya penelitian Dosen Muda.

Ketua Tim Peneliti

## Daftar Isi

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN .....	iii
SUMMARY .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
BAB I: PENDAHULUAN .....	1
BAB II: TINJAUAN PUSTAKA .....	2
II. 1. Enzim Termotabil .....	2
II. 2. Protease .....	2
BAB III: TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	6
III.1. Tujuan Penelitian .....	6
III.2. Manfaat Penelitian .....	6
BAB IV: METODOLOGI PENELITIAN .....	7
BAB V: HASIL DAN PEMBAHASAN .....	8
V.1. Pemiakan Isolat Bakteri Termofilik .....	8
V.2. Isolasi Protease dan Fraksinasi Ammonium Sulfat .....	9
V.3. Karakterisasi Enzim .....	12
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	16
DAFTAR PUSTAKA .....	17

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Aktivitas spesifik Enzim Protease dari isolat bakteri termofilik dari Sumber Air Panas Plantungan pada berbagai Fraksi .....	10
Tabel 2. Aktivitas spesifik Enzim Protease dari isolat bakteri termofilik dari Gonoharjo pada berbagai Fraksi .....	11
Tabel 3. Hasil Penentuan Temperatur Optimum Protease .....	12
Tabel 4. Hasil Penentuan pH Optimum Protease .....	14
Tabel 5. Hasil Penentuan Waktu inkubasi Optimum Protease .....	15

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar. 1. Distribusi penjualan enzim .....	3
Gambar. 2. Kurva pertumbuhan isolat bakteri Plantungan .....	8
Gambar. 3. Kurva pertumbuhan isolat bakteri Gonoharjo .....	9
Gambar. 4. Grafik Aktivitas spesifik Enzim Protease dari isolat bakteri termofilik Plantungan pada berbagai Fraksi .....	10
Gambar. 5. Gambar Aktivitas spesifik Enzim Protease dari isolat bakteri termofilik Gonoharjo pada berbagai Fraksi .....	11
Gambar. 6 Grafik Aktivitas Protease Plantungan dan Gonoharjo pada berbagai temperatur .....	13
Gambar. 7. Grafik Aktivitas Protease Plantungan dan Gonoharjo pada berbagai pH .....	14
Gambar. 8 Grafik Aktivitas Protease Plantungan dan Gonoharjo pada berbagai waktu inkubasi .....	15



## BAB I

### PENDAHULUAN

Kemajuan bidang biokatalis dalam dekade terakhir ditandai dengan meningkatnya pencarian bakteri ekstremofil. Biokatalis dari mikroorganisme ekstrim (ekstremozim) makin diminati karena memiliki beberapa sifat terapan lebih menguntungkan terutama bagi industri. Ekstremozim merupakan enzim yang bisa digunakan secara efektif pada temperatur, pH, atau pelarut organik ekstrim dalam proses industri. Selain perannya di dalam bidang industri, penelitian terhadap bakteri ekstremofil juga memiliki peran penting dalam perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam studi filogeni (Adams, 1995).

Enzim termostabil sebagai salah satu kelompok ekstremozim merupakan biokatalis yang sangat efektif digunakan dalam proses reaksi yang menggunakan temperatur tinggi. Saat ini, beberapa bidang industri terutama pangan, deterjen, medis serta bidang penelitian mulai banyak tergantung dengan kebutuhan terhadap enzim-enzim termostabil. Salah satu sumber yang cukup potensial adalah bakteri termofilik yang tumbuh pada sumber air panas. Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber air panas, namun hingga saat ini belum banyak peneliti dari Indonesia yang mengeksplorasi enzim-enzim yang berasal dari bakteri termofilik.

Protease merupakan salah satu enzim industri utama yang secara ekstensif digunakan dalam banyak bidang industri seperti farmasi, tekstil, makanan, dan medis. Kemampuan hidrolitiknya telah secara luas diaplikasikan dalam industri karena memiliki manfaat luas bagi reaksi-reaksi sintesis (Razak, 1997). Beberapa enzim protease termostabil dari bakteri hipertermofil telah diisolasi baik dengan cara konvensional maupun melalui rekayasa genetika dan telah dikarakterisasi (Kannan, 2001; Toogood, 2000).