

HALAMAN PENGESAHAN

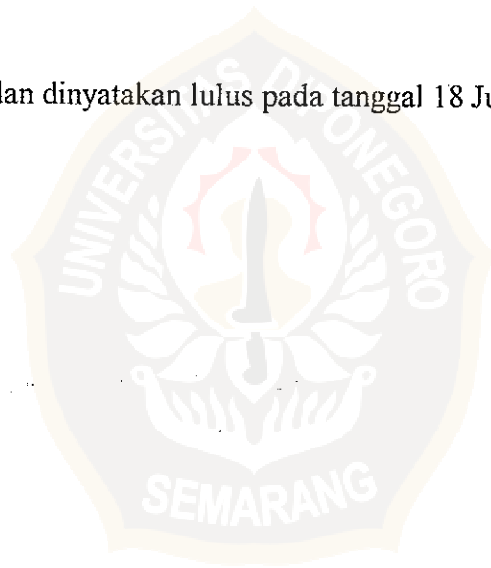
Judul Skripsi : Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Aktifitas Enzim
Selulase Isolat Bakteri Selulolitik dari Komunitas
Mangrove Teluk Awur Jepara Jawa Tengah

Nama : Handayani

NIM : J.201951253

Jurusan : Biologi

telah mengikuti Ujian Sarjana dan dinyatakan lulus pada tanggal 18 Juni 2002



Semarang, Oktober 2002

Panitia Penguji Ujian Sarjana
Jurusan Biologi
Ketua,

Drs. Mochamad Hadi, MSi.
NIP. 131 672 951



HALAMAN PENGESAHAN

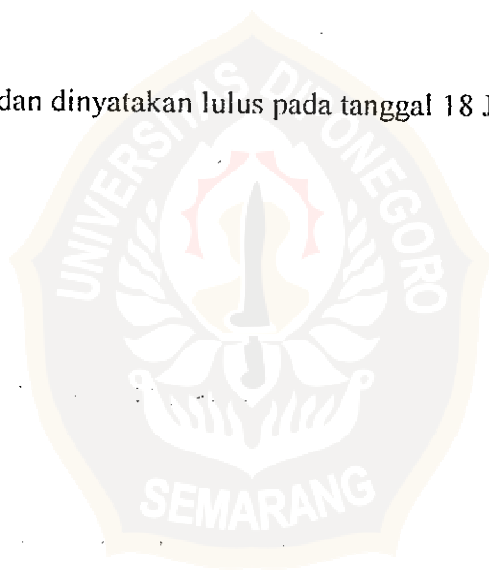
Judul Skripsi : Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Aktifitas Enzim Selulase
Isolat Bakteri Selulolitik dari Komunitas Mangrove Teluk
Awur Jepara Jawa Tengah

Nama : Handayani

N I M : J201951253

Jurusan : Biologi

telah mengikuti Ujian Sarjana dan dinyatakan lulus pada tanggal 18 Juni 2002



Semarang, Oktober 2002

Pembimbing Utama

Dra. Hj. Sriani Hendarko, S.U.
NIP. 130 264 123

Pembimbing Anggota

Drs. Widjanarko, M.Si
NIP. 131 962 226

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya penuh makna ini kupersembahkan :

♥ Yang pertama dan yang terutama,

Untuk Keluarga Besar yang Kubanggakan. Ibu dan Ayah tercinta atas segala jerih payah, doa, kasih sayang dan limpahan rasanya, serta adik-adikku tersayang (Nono, Sri, Jaya dan Yuni) atas kekompakan, dukungan dan lantunan doanya.

♥ Dan untuk insan-insan yang telah menitipkan budi baiknya kepada diri seorang hamba Allah yang lemah.

Akhir kata, tiada kata seindah doa yang senantiasa terlantun, semoga Allah melimpahkan RahmatNya dan membalas amal baik Anda sekalian dengan kebaikan yang berlimpah. AMIN



MOTTO

- ★ "Sebab sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (urusan dunia) maka bersungguh-sungguhlah (dalam beribadah), dan hanya kepada Tuhanmulah berharap" (QS. Al Insyiraah : 5-8)
- ★ "Takutlah engkau kepada Allah di mana saja engkau berada, dan ikutilah sesuatu kejahatan itu dengan kebaikan, karena itu akan menghapusnya dan bergaulah dengan sesama manusia dengan akhlak yang baik" (HR. Tirmidzi)
- ★ "Ketahuilah, bahwa sesungguhnya jika bersatu ummat manusia untuk memberikan manfaat padamu dengan sesuatu, niscaya tiadalah mereka dapat melakukan hal itu, kecuali dengan sesuatu yang telah ditentukan Allah padamu, dan jika mereka bersatu mencelakakan kamu dengan sesuatu, niscaya tiadalah mereka dapat celakakan kamu kecuali dengan sesuatu yang telah ditentukan Allah padamu. Telah diangkat kalam dan telah kering tinta lembaran-lembaran itu" (HR. Turmudzi, dll)
- ★ "Sakabihing tumindhak bakal ngundhuh wohing pakarti"

KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan karuniaNya berupa kekuatan, kesabaran, ketabahan dan kemudahan dalam menyelesaikan penyusunan laporan tugas akhir yang berjudul **“Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Aktifitas Enzim Selulase Isolat Bakteri Selulolitik dari Komunitas Mangrove Teluk Awur Jepara, Jawa Tengah”** sebagai persyaratan kelulusan sarjana strata satu.

Proses penyusunan tugas akhir ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. Koen Praseno, S.U selaku Ketua Jurusan Biologi atas segala perijinan, kebijakan dan bantuannya.
2. Ibu Dra. Hj. Sriani Hendarko, S.U selaku Ketua Lab. Mikrobio-Genetika dan Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan perijinan, bimbingan, dukungan dan pengarahan selama pelaksanaan tugas akhir.
3. Bapak Drs. Widjanarko, M.Si selaku Dosen Pembimbing atas segala pengertian, bimbingan, dukungan dan pengarahan yang telah diberikan selama pelaksanaan tugas akhir.
4. Ibu Dra. Tyas Rini S, M.Kes dan Ibu Dra. Triadiati, M.Si selaku Dosen Wali atas segala perhatian, bantuan, dukungan dan pengarahannya selama penulis menempuh perkuliahan di Jurusan Biologi FMIPA Undip.
5. Bapak Drs. Budi Rahardjo atas perhatian, bantuan, dan pengarahannya selama pelaksanaan tugas akhir di Lab, juga Bapak dan Ibu Dosen Biologi yang senantiasa mencurahkan ilmunya selama perkuliahan di Jurusan Biologi FMIPA Undip.
6. Bapak Drs. Moch. Hadi, M.Si dan Ibu Dra. Tyas Rini S, M.Kes selaku Panitia Pelaksana Ujian Tugas Akhir.
7. Ibu Dra. MG. Isworo Rukmi, M.Kes atas segala perhatian dan bantuannya, Ibu DR. Endang Kusdiyantini dan Ibu Dra. Riche Haryati, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah berkenan hadir, menguji dan meluluskan penulis.

8. Bapak Mardi dan Mas Indra atas segala bantuannya selama di Lab., seluruh Staf Lab. Biologi FMIPA Undip (Ibu Narti, Ibu Nariyah, Bapak Bowo, dll), serta Mbak Karni dan Mbak Etik atas segala bantuannya.
9. Ibu dan Bapak tercinta yang sangat penulis sayangi dan hormati, yang selama ini senantiasa melimpahkan kasih sayang dan dukungannya baik moril maupun materiil, serta adik-adikku tercinta (Nono, Sri, Jaya, Yuni) atas kebersamaan, dukungan dan lantunan doanya.
10. Bapak dan Ibu Guruku yang terhormat atas segala ilmu yang dilimpahkan.
11. Sahabat-sahabat baikku (Titik W, Nur J, Ika, Mbak Novi, Ulfah, Nisz, Atik) atas segala kekompakan, dukungan, bantuan dan doanya.
12. Tetangga-tetangga baikku di Kwadungan Colomadu atas bantuan dan dukungannya baik moril maupun materiil.
13. Ibu dan Bapak Mulyono Sekeluarga dan segenap Keluarga Besar NGESTIPA DSC (024 7460 273) periode Agustus '95-Juli '02 atas segala perhatian, kebersamaan, bantuan dan dukungannya selama ini.
14. Roni, Dayan, Roy, Mas Doddy, Mas Elles, Mas Agus, Eko dan seluruh adikku 'crew' Lab. Mikro atas kebersamaan dan bantuannya.
15. Teman-teman Biologi '95 atas kebersamaannya, sebagian adik-adikku '96, '97, '98 dan '99 atas bantuan dan dukungannya.
16. Semua pihak yang telah memberikan bantuannya selama ini.

Penulis senantiasa berdoa semoga amal baik yang telah dilakukan mendapat imbalan yang sempurna di sisi Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan tugas akhir ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh karena itu dengan senang hati penulis menerima kritik, saran dan masukan dalam rangka menyempurnakan laporan ini. Terakhir kami berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat.

Semarang, Juli 2002

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Formulasi Permasalahan	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum tentang Hutan Mangrove	4
B. Tinjauan Umum tentang Bakteri	6
1. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	9
2. Siklus Pertumbuhan Bakteri	11
C. Tinjauan Umum tentang Enzim	13
1. Komponen Enzim	14
2. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Enzim	15
D. Selulosa	18
E. Enzim Selulase	19
1. Aktifitas Enzim Selulase	20
III. HIPOTESIS	24
IV. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	
1. Tempat Penelitian	25
2. Waktu Penelitian	25
B. Bahan dan Alat Penelitian	
1. Bahan Penelitian	25
2. Alat Penelitian	26
C. Cara Kerja	
1. Pengambilan Sampel Sedimen	26
2. Isolasi dan Identifikasi Isolat Bakteri	
2.1. Isolasi Bakteri	27
2.2. Pengecatan Gram	27
2.3. Pengecatan Spora Bakteri	28
2.4. Pengamatan Motilitas Bakteri dengan Cara Tetes Gantung ("Hanging Drop").....	28

3. Pengujian Karakteristik Biokimiawi Isolat Bakteri	
3.1. Uji Katalase	29
3.2. Uji Oksidase	29
3.3. Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa)	29
3.4. Uji Oksidasi/Fermentasi Glukosa	30
4. Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri (G1 dan G2)	30
5. Pengukuran Kurva Pertumbuhan dan Produksi Enzim Selulase Isolat Bakteri (G1 dan G2)	31
6. Pengukuran Aktifitas Enzim Selulase Isolat Bakteri (G1 dan G2)	
6.1. Produksi Enzim Selulase.....	31
6.2. Ekstraksi Enzim Selulase.....	31
6.3. Penentuan Aktifitas Enzim Selulase dengan Metode DNS.....	32
6.4. Pembuatan Kurva Glukosa Standar.....	33
7. Penentuan Protein Terlarut dengan Metode Lowry-Folin	
7.1. Pengukuran Kandungan Protein Terlarut Enzim Selulase Isolat Bakteri.....	33
7.2. Pembuatan Kurva “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar.....	34
8. Penentuan Aktifitas Spesifik Enzim Selulase	34
9. Penentuan Berat Kering Sel Isolat Bakteri.....	34
D. Parameter.....	35
E. Analisis Data.....	35
V. HASIL PENELITIAN	
A. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik	37
B. Isolat Bakteri Selulolitik.....	38
C. Kurva Pertumbuhan dan Produksi Enzim Selulase Isolat Bakteri Selulolitik.....	39
D. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase Isolat Bakteri Selulolitik	40
VI. PEMBAHASAN	
A. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik.....	43
B. Pengukuran Penambahan Biomassa dan Produksi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri	45
C. Penentuan Aktifitas Enzim Selulase Bakteri Selulolitik	51
VII. KESIMPULAN	
A. Kesimpulan.....	57
B. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
01. Rumus kimia β -glukosa, β -selobiosa dan rantai selulosa	19
02. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase	22
03. Morfologi sel bakteri <i>Bacillus</i> sp. umur 24 jam dalam media NA dengan pengecatan Gram pada perbesaran 1000 x	38
04. Morfologi sel bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. umur 24 jam dalam media NA dengan pengecatan Gram pada perbesaran 1000 x.....	38
05. Kurva pertumbuhan tiap 6 jam sekali dari bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas</i> sp. yang diagitasi pada kecepatan 300 rpm selama 30 jam pada suhu kamar.....	39
06. Aktifitas enzim selulase tiap 6 jam sekali dari bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas</i> sp. yang diagitasi pada kecepatan 300 rpm selama 30 jam pada suhu kamar.....	39
07. Diagram batang rerata aktifitas enzim selulase pada perlakuan suhu inkubasi (S)	41
08. Diagram batang rerata aktifitas enzim selulase pada perlakuan jenis isolat bakteri (G)	41
09. Diagram batang rerata aktifitas enzim selulase pada perlakuan suhu inkubasi (S) dan jenis isolat bakteri (G)	42
10. Diagram batang rerata aktifitas spesifik enzim selulase pada perlakuan suhu inkubasi (S) dan jenis isolat bakteri (G)	42
11. Kurva larutan glukosa standar	72
12. Kurva larutan “bovine serum albumin” (BSA) standar	73

DAFTAR TABEL

	Halaman
01. Reaksi yang terjadi pada uji OF Glukosa	30
02. Kombinasi perlakuan suhu inkubasi dengan jenis isolat bakteri.....	36
03. Hasil identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri selulolitik	37
04. Rerata pengaruh perlakuan suhu inkubasi dan jenis isolat bakteri terhadap aktifitas enzim selulase (unit/ml filtrat/menit).....	40
05. Analisis aktifitas enzim selulase (unit/ml filtrat/menit) dengan perlakuan suhu inkubasi (S) dan jenis isolat bakteri (G)	64
06. Rerata aktifitas enzim selulase (unit/ml filtrat/menit) dengan perlakuan suhu inkubasi (S) dan jenis isolat bakteri (G)	65
07. Analisis sidik ragam aktifitas enzim selulase dengan perlakuan suhu inkubasi (S) dan jenis isolat bakteri (G)	65
08. Uji jarak berganda Duncan pada taraf signifikansi 5% terhadap aktifitas enzim selulase (unit/ml filtrat.menit) dengan perlakuan jenis isolat bakteri (G).....	66
09. Uji jarak berganda Duncan pada taraf signifikansi 5% terhadap aktifitas enzim selulase (unit/ml filtrat/menit) dengan perlakuan suhu inkubasi (S)	67
10. Hasil pengukuran penambahan biomassa/kurva pertumbuhan, kadar protein, kadar gula reduksi, aktifitas (produksi) enzim selulase dan aktifitas spesifik enzim selulase tiap 6 jam sekali dari isolat bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas</i> sp. yang diagitasi pada kecepatan 300 rpm selama 30 jam pada suhu kamar	68
11. Hasil pengukuran kadar gula reduksi pada berbagai suhu inkubasi dari isolat bakteri <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas</i> sp.....	69
12. Hasil pengukuran kadar gula reduksi, aktifitas enzim selulase dan aktifitas spesifik enzim selulase pada perlakuan suhu inkubasi yang berbeda dari isolat bakteri <i>Bacillus</i> sp. beserta parameter pendukung berupa nilai pH, berat kering sel dan kadar protein	70

13. Hasil pengukuran kadar gula reduksi, aktifitas enzim selulase dan aktifitas spesifik enzim selulase pada perlakuan suhu inkubasi yang berbeda dari isolat bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. beserta parameter pendukung berupa nilai pH, berat kering sel dan kadar protein	71
14. Analisis regresi dan korelasi larutan glukosa standar	72
15. Analisis regresi dan korelasi larutan “bovine serum albumin” (BSA) standar	73
16. Pembuatan larutan glukosa standar dengan konsentrasi yang berbeda	79
17. Pembuatan larutan BSA standar dengan konsentrasi yang berbeda	80



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
01. Analisis Hasil Pengukuran Aktifitas Enzim Selulase dengan Perlakuan Suhu Inkubasi (S) dan Jenis Isolat Bakteri (G)	64
02. Hasil Pengukuran Penambahan Biomassa/Kurva Pertumbuhan, Kadar Protein, Kadar Gula Reduksi, Aktifitas (Produksi) Enzim Selulase dan Aktifitas Spesifik Enzim Selulase tiap 6 jam sekali dari Isolat Bakteri Selulolitik	68
03. Hasil Pengukuran Kadar Gula Reduksi pada Perlakuan Suhu Inkubasi (S) dan Jenis Isolat Bakteri (G)	69
04. Hasil Pengukuran Kadar Gula Reduksi, Aktifitas Enzim Selulase dan Aktifitas Spesifik Enzim Selulase pada Perlakuan Suhu Inkubasi (S) yang Berbeda dari Isolat Bakteri Selulolitik beserta Parameter Pendukungnya	70
05. Pembuatan Kurva Larutan Glukosa Standar	72
06. Pembuatan Kurva Larutan "Bovine Serum Albumin" (BSA) Standar	73
07. Pembuatan Media "Screening" dan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik	74
08. Pembuatan Media Dasar Pemeliharaan dan Peremajaan Kultur Bakteri	75
09. Pembuatan Media Dasar "Nutrient Broth" (NB)	76
10. Pembuatan Media Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa)	76
11. Pembuatan Media Uji Oksidasi/Fermentasi (OF) Karbohidrat (Glukosa)	77
12. Pembuatan Larutan Pengecatan Spora Bakteri (Pengecatan Klein).....	77
13. Pembuatan Larutan "Carboxymethyl Cellulose"/CMC 1% b/v	78
14. Pembuatan Larutan Glukosa Standar	78
15. Pembuatan Larutan Pereduksi Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS).....	79

16. Pembuatan Larutan “Bovine Serum Albumin” (BSA) Standar	80
17. Pembuatan Larutan Pereaksi Penentu Kandungan Protein (Metode Lowry-Folin)	80
18. Pembuatan Larutan Penyangga “Buffer” Sitrat	82
19. Pembuatan Larutan Natrium Hidroksida (NaOH)	82

