

HALAMAN PENGESAHAN I

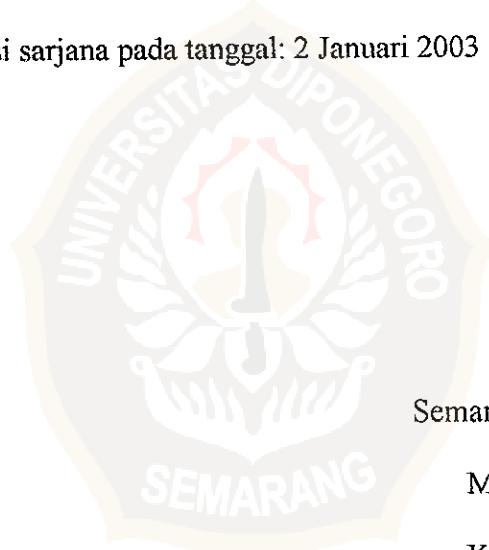
Lembar Pengesahan I

Judul Skripsi : ISOLASI DAN KARAKTERISASI PROTEASE DARI ISOLAT
BAKTERI SUMBER AIR PANAS PLANTUNGAN, KENDAL

Nama : YOHANES ANDY IMAM B. M.

NIM : J2C 096 154

Telah lulus ujian skripsi sarjana pada tanggal: 2 Januari 2003



Semarang, Januari 2003

Mengetahui,

Ketua Panitia Ujian

Dra. Wuryanti, MSi
NIP. 131 672 946



HALAMAN PENGESAHAN II

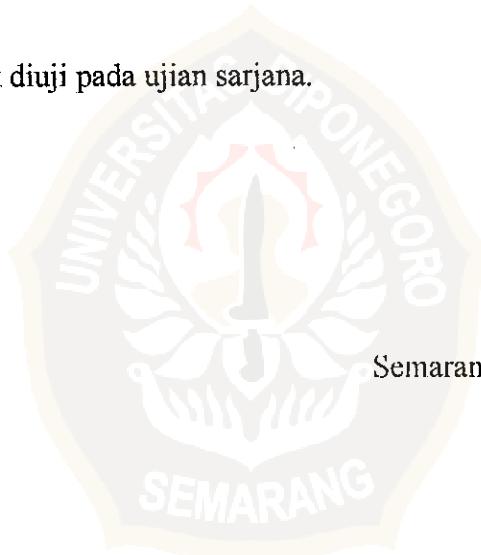
Lembar Pengesahan II

Judul Skripsi : ISOLASI DAN KARAKTERISASI PROTEASE DARI ISOLAT
BAKTERI SUMBER AIR PANAS PLANTUNGAN, KENDAL

Nama : YOHANES ANDY IMAM B. M.

NIM : J2C 096 154

Telah selesai dan layak diujji pada ujian sarjana.



Semarang, Nopember 2002

Pembimbing I

Dra. Wuryanti, MSi
NIP. 131 672 946

Pembimbing II

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

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Kasih yang telah melimpahkan berkat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berupa skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Isolat Bakteri Sumber Air Panas Plantungan, Kendal”.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak akan bisa terwujud tanpa adanya dukungan dan bantuan dari pelbagai pihak. Oleh karena itu, atas segala bantuan, bimbingan serta dorongan moril yang diberikan kepada penulis baik secara langsung maupun tidak langsung hingga tersusunnya skripsi ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Wuryanti, MSi, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Nies Suci M, MS, selaku Dosen Pembimbing II yang dengan sabar memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Isworo Rukmi, MKes., selaku Dosen Pembimbing dalam pembiakan bakteri yang telah dengan sabar memberikan ilmunya selama penelitian ini.
4. Ibu Dra. Enny Fachriyah, MSi, selaku Dosen Wali Angkatan '96.

5. Bapak Drs. W. H. Rahmanto, MSi, yang selalu memberikan dorongan dan motivasi selama penelitian.
6. Ibu Agustina L. N. A., MS., yang telah memberikan ide dan gagasannya selama penelitian ini.
7. Seluruh staf pengajar Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro.
8. Keluarga besar K. Oetoyo atas doa, perhatian, kasih sayang dan dukungannya yang tak ternilai.
9. Sdri. Anita "Loughita" Kusumawardani, yang terindah, yang memaknai hidupku.
10. Rekan-rekan di Laboratorium Biokimia, Sdr. Sidiq, AMd dan keluarga besar Chemo '96, Chemo '98, Chemo '01, dan HMK.
11. Seluruh rekan-rekan di Adipatiunus 4, Sirojudin 20, Eicosa Crew, dan semua pihak yang tak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu sumbang saran serta koreksi sangat penulis harapkan dari karya ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat menjadi sumbangan pemikiran dan bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, Nopember 2002

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN I.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN II	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN.....	vi
SUMMARY.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Bakteri	3
2.2. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	5
2.3. Enzim.....	7
2.3.1. Klasifikasi Enzim	8
2.3.2. Satuan Enzim.....	8
2.3.3. Aktivitas Enzim.....	9
2.3.4. Lokasi aktif Enzim	9

2.3.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim	10
2.3.5.1. Konsentrasi Enzim	10
2.3.5.2. Konsentrasi Substrat.....	10
2.3.5.3. Temperatur	10
2.3.5.4. pH	11
2.4. Protease Mikroba.....	11
2.5. Penentuan Aktivitas Protease.....	14
2.6. Karakterisasi Protease	15

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Sampel, Alat dan Bahan	16
3.1.1. Sampel	16
3.1.2. Alat	16
3.1.3. Bahan.....	17
3.2. Variabel Penelitian.....	18
3.2.1. Variabel yang Diukur	18
3.2.2. Variabel Bebas	18
3.2.3. Variabel yang Dikonstakan	18
3.3. Cara Kerja.....	18
3.3.1. Preparasi Larutan.....	18
3.3.2. Isolasi Bakteri.....	20
3.3.3. Pembelahan Bakteri	21
3.3.4. Isolasi Protease	21
3.3.4.1. Fraksinasi Amonium Sulfat.....	21

3.3.4.2. Dialisis.....	22
3.3.5. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kasein	22
3.3.6. Penentuan Kurva Standar Kasein	22
3.3.7. Penentuan Panjang Gelombang Optimum BSA.....	22
3.3.8. Penentuan Kurva Standar BSA.....	22
3.3.9. Uji Aktivitas Enzim.....	23
3.3.10. Penentuan Kadar Protein Enzim (Metode Lowry)	23
3.3.11. Penentuan Aktivitas Spesifik Optimum Protease pada pH 7,0 – 7,8	23
3.3.12. Penentuan Aktivitas Spesifik Optimum Protease pada Temperatur 38 – 46 °C	24
3.3.13. Penentuan Aktivitas Spesifik Optimum Protease pada Waktu Inkubasi 5 – 25 menit	24
3.3.14. Penentuan Unit Aktivitas dan Aktivitas Spesifik	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Pembibakan dan Fermentasi Bakteri.....	25
4.2. Isolasi Protease dari Bakteri.....	28
4.3. Karakterisasi Protease	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	35
5.2. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
DAFTAR LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL.

Tabel 2.1. Skema pembagian protease mikroba	12
Tabel 2.2. Mikroba penghasil protease ekstraseluler.....	13
Tabel 4.1. Hasil penentuan aktivitas dan aktivitas spesifik protease tiap fraksi	31
Tabel 4.2. Hasil penentuan aktivitas spesifik pada berbagai pH	32
Tabel 4.3. Hasil penentuan aktivitas spesifik pada berbagai Temperatur	33
Tabel 4.4. Hasil penentuan aktivitas spesifik pada berbagai Waktu Inkubasi.....	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Kurva pertumbuhan bakteri 7

Gambar 4.1. Kurva pertumbuhan bakteri hasil penelitian..... 28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bakteri hasil isolasi dari sumber air panas Plantungan, Kendal.

Lampiran 2. Hasil penentuan panjang gelombang optimum, kurva standar standar kasein

Lampiran 3. Hasil penentuan panjang gelombang optimum, kurva standar BSA dan kadar protein tiap fraksi

Lampiran 4. Penentuan aktivitas protease

Lampiran 5. Karakterisasi protease

Lampiran 6. Daftar kebutuhan amonium sulfat untuk fraksinasi

