

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan I

Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease Isolat Bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Plantungan Kendal pada Medium Susu
Skim

Nama : M Fahmi Triandi

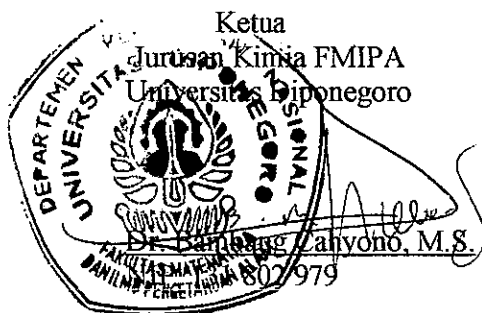
NIM : J2C 097 135

Jurusan : Kimia

Telah diuji dalam ujian sarjana dan dinyatakan lulus pada tanggal: 12 Juni 2003

Semarang, Juni 2003

Mengetahui,



Ketua
Panitia Ujian Sarjana



Dra. Nies Suci M. M.S.
NIP. 131 597 639

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan II

Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease Isolat Bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Plantungan Kendal pada Medium Susu
Skim

Nama : M Fahmi Triandi

NIM : J2C 097 135

Jurusan : Kimia

Telah disetujui dan layak diuji pada ujian sarjana, tanggal: 12 Juni 2003

Semarang, 21 Mei 2003

Mengetahui,

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Dra. MG Isworo R, M.Kes
NIP. 130 989 273

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berupa skripsi dengan judul:

“ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS PLANTUNGAN KENDAL PADA MEDIUM SUSU SKIM”.

Dengan selesainya skripsi ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dra. Nies Suci Mulyani, M.S. dan Ibu Dra. MG Isworo Rukmi, M.Kes, selaku dosen pembimbing yang dengan sabar telah mencurahkan perhatian dan bimbingan sehingga karya ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Dr. Bambang Cahyono, M.S., selaku ketua jurusan kimia FMIPA UNDIP, Semarang.
3. Ibu Dra. Dewi Kusriani, M.Si, selaku Dosen Wali Angkatan 1997
4. Bapak dan Ibu dosen jurusan kimia yang telah mendidik penulis selama mengikuti kuliah.
5. Papa, Mama, Ika, Dwi, Izzatie, yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan perhatian penuh.
6. Saudara Lingga, Ari W, Janner, Setyo, Puji, Safri dan teman-teman Kimia 1997 yang selalu kompak.

7. Saudara Unwan, Agung, Suwardi dan semua Warga WTS 5, yang selalu menyemangati.
8. Bapak Mardi, Mas Indra, Mas Sidiq, atas bantuannya selama pelaksanaan penelitian
9. Semua pihak yang telah membantu penulisan karya ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Biarlah Allah senantiasa memberkati semua kebaikan orang-orang yang membantu dalam penyusunan karya ini.

Dalam karya ini masih banyak terdapat kekurangan karena keterbatasan penulis. Harapan penulis agar karya ini dapat bermanfaat dan memacu penulis lain untuk lebih mengembangkannya dengan ide-ide segar dan tidak menutup kemungkinan bagi penulis menerima saran- saran yang membangun.

Semarang, Mei 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN I.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN II.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
SUMMARY.....	vi
RINGKASAN.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTARGAMBAR.....	xiii
DAFTARLAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. LatarBelakang.....	1
1.2. PerumusanMasalah.....	2
1.3. TujuanPenelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Tinjauan Umum Bakteri.....	3
2.2 Metode Skreening.....	4
2.2.1. Pengujian Hidrolisis Gelatin.....	5
2.3. Kurva Pertumbuhan Mikroba.....	6
2.4. Enzim.....	9

2.4.1. Klasifikasi Enzim.....	9
2.4.2. Satuan Enzim.....	10
2.4.3. Aktivitas Enzim.....	11
2.4.4. Lokasi Aktif Enzim.....	12
2.4.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	12
2.4.5.1. Konsentrasi Enzim.....	12
2.4.5.2. Konsentrasi Substrat.....	13
2.4.5.3. Pengaruh Suhu.....	13
2.4.5.4. Pengaruh pH.....	13
2.5. Enzim Protease.....	14
2.5.1. Protease Termotabil.....	14
2.6. Penentuan Aktivitas Enzim.....	15
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1. Sampel, Alat, dan Bahan.....	18
3.1.1. Sampel.....	18
3.1.2. Alat.....	18
3.1.3. Bahan.....	19
3.2. Variabel Penelitian.....	20
3.2.1. Variabel yang Diukur.....	20
3.2.2. Variabel Bebas.....	20
3.2.3. Variabel yang Dikonstankan.....	20
3.3. Cara Kerja.....	21
3.3.1. Preparasi Larutan.....	21

3.3.2. Isolasi Bakteri.....	23
3.3.2.1. Isolasi Bakteri Termofilik.....	23
3.3.2.2. Pengecatan Gram.....	24
3.3.2.3. Pengujian Aktivitas aprotease.....	24
3.3.3. Produksi Enzim.....	25
3.3.4. Isolasi Enzim.....	25
3.3.4.1. Ekstraksi.....	25
3.3.4.2. Fraksinasi dengan Amonium Sulfat.....	25
3.3.4.3. Proses Dialisis.....	26
3.3.4.4. Uji Aktivitas Enzim.....	26
3.3.4.4.1. Penentuan λ Optimum Kasein.....	26
3.3.4.4.2. Penentuan Kurva Standar Kasein.....	26
3.3.4.4.3. Penentuan λ Optimum BSA.....	27
3.3.4.4.4. Penentuan Kurva Standar BSA.....	27
3.3.4.4.5. Penentuan Aktivitas Enzim Protease....	27
3.3.4.4.6. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.....	27
3.3.4.5. Karakterisasi Enzim.....	28
3.3.4.5.1. Penentuan Temperatur Optimum.....	28
3.3.4.5.2. Penentuan pH Optimum.....	28
3.3.4.5.3. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum...	28
3.3.5. Penentuan Aktivitas Unit dan Aktivitas Spesifik Enzim Protease.....	28

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1. Isolasi Bakteri.....	30
4.2. Produksi Enzim.....	31
4.3. Isolasi Enzim.....	32
4.3.1. Karakterisasi Enzim.....	34
4.3.1.1. Temperatur Optimum.....	34
4.3.1.2. pH Optimum.....	35
4.3.1.3. Waktu Inkubasi Optimum.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1. Kesimpulan.....	38
5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	42



DAFTAR TABEL

Tabel IV.1. Aktivitas Spesifik Enzim Protease.....	34
Tabel 1. Penentuan fase pertumbuhan logaritmik.....	42
Tabel 2. Absorbansi Kasein pada berbagai Panjang Gelombang.....	43
Tabel 3. Absorbansi Kasein pada Berbagai Konsentrasi.....	44
Tabel 4. Absorbansi BSA pada Berbagai Panjang Gelombang.....	44
Tabel 5. Absorbansi BSA pada Berbagai Konsentrasi.....	46
Tabel 6. Penentuan Aktivitas Enzim Protease.....	47
Tabel 7. Aktivitas Enzim pada Berbagai Fraksi.....	47
Tabel 8. Penentuan Kadar Protein.....	48
Tabel 9. Kadar Protein pada Berbagai Fraksi.....	48
Tabel 10. Aktivitas Spesifik Enzim Protease.....	49
Tabel 11. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai pH.....	50
Tabel 12. Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai pH.....	50
Tabel 13. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Temperatur...	51
Tabel 14. Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Temperatur.....	51
Tabel 15. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Waktu Inkubasi.....	52
Tabel 16. Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Waktu Inkubasi.....	52
Tabel 17. Berat Amonium Sulfat pada Berbagai Fraksi Enzim.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Kurva Pertumbuhan Mikroba.....	8
Gambar II.2. Energi Aktivasi Reaksi Enzimatis.....	12
Gambar IV.1. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri.....	31
Gambar IV.2. Aktvitas Spesifik Enzim dalam Berbagai Variasi Temperatur.....	34
Gambar IV. 3. Aktvitas Spesifik Enzim dalam Berbagai Variasi pH.....	35
Gambar IV. 4. Aktvitas Spesifik Enzim dalam Berbagai Variasi Waktu Inkubasi.....	36
Gambar 1. Kurva Waktu Fase Pertumbuhan Logaritmik.....	42
Gambar 2. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kasein.....	43
Gambar 3. Kurva Standar Kasein.....	44
Gambar 4. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum BSA.....	45
Gambar 5. Kurva Standar BSA.....	46
Gambar 6. Isolat Bakteri.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan Fase Pertumbuhan Logaritmik Optimum.....	42
Lampiran 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kasein.....	43
Lampiran 3. Kurva Standar Kasein.....	44
Lampiran 4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum BSA.....	45
Lampiran 5. Kurva Standar BSA.....	46
Lampiran 6. Penentuan Aktivitas Enzim Protease.....	47
Lampiran 7. Penentuan Kadar protein.....	48
Lampiran 8. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Protease.....	49
Lampiran 9. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai pH.....	50
Lampiran 10. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Temperatur.....	51
Lampiran 11. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim pada Berbagai Waktu inkubasi.....	52
Lampiran 12. Berat Amonium Sulfat pada Berbagai Fraksi Enzim.....	53
Lampiran 13. Gambar Isolat Bakteri.....	54