

HALAMAN PENGESAHAN I

Judul : Isolasi dan Karakterisasi Enzim protease pada Isolat bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Gonoharjo Boja

Oleh : Lingga Wisnu Ratdetyo

NIM : J2C 097 134

Telah diuji dalam ujian sarjana dan dinyatakan lulus pada tanggal: 31 Juli 2003

Semarang, Agustus 2003

Menyetujui,

Ketua

Jurusan Kimia FMIPA

Universitas Diponegoro



Ambar Cahyono, MS

NIP. 131 802 979

Ketua

Panitia Ujian Sarjana

Dra. Nies Suci Mulyani, MS

NIP. 131 597 639

HALAMAN PENGESAHAN II

Judul : Isolasi dan Karakterisasi Enzim protease pada Isolat bakteri Termofilik
dari Sumber Air Panas Gonoharjo Boja

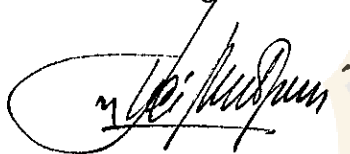
Oleh : Lingga Wisnu Ratdetyo

NIM : J2C 097 134

Telah disetujui dan layak diujikan pada ujian sarjana pada tanggal: 31 Juli 2003

Semarang, Juni 2003

Pembimbing I



Dra. Nies Suci Mulyani,MS

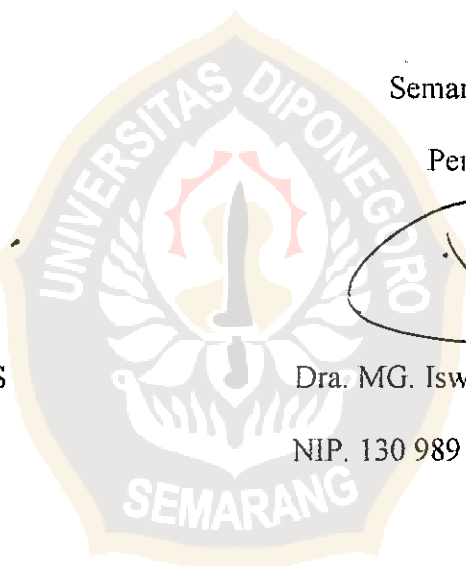
NIP. 131 597 639

Pembimbing II



Dra. MG. Isworo Rukmi,MKes

NIP. 130 989 273



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir berupa skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease pada Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Gonoharjo, Boja”.

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

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

1. Ibu Dra. Nies Suci Mulyani, MS, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ibu Dra. M. G. Isworo Rukmi, MKes, selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penulisan skripsi.
3. Ibu Dra. Dewi Kusrini, Msi, selaku Dosen Wali Angkatan '97.
4. Seluruh staf pengajar Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro.
5. Bapak, Ibu serta adikku yang telah memberikan dukungan moral dan spiritual.
6. Sdr. Sidiq, Mas Indra, Pak Pardi, selaku Laborat Kimia dan Biologi yang telah membantu memperlancar penelitian ini.

7. Sdr. Fahmi, Ari Widodo, selaku teman seperjuangan dan teman-teman angkatan '97 yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini.
8. Sdr. Christina Deveny W, terima kasih atas perhatiannya yang diberikan selama ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna untuk itu sumbang saran dan koreksi sangat penulis harapkan dari karya ini. Sebagai akhir kata semoga skripsi ini dapat menjadi sumbangan pemikiran dan bermanfaat bagi pembaca.



Semarang, Juni 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN I.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN II.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN.....	vi
SUMMARY.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
.BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Tinjauan Umum Bakteri.....	3
2.2. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Bakteri.....	4
2.2.1. Isolasi Bakteri.....	4
2.2.2. Pengamatan Morfologi.....	5
2.3. Pengecatan Gram.....	6
2.4. Pengujian Hidrolisis Gelatin.....	7

2.5. Kurva Pertumbuhan Mikroba.....	7
2.6. Enzim.....	9
2.6.1. Mekanisme Kerja Enzim.....	10
2.6.2. Klasifikasi Enzim.....	11
2.6.3. Satuan Enzim.....	12
2.6.4. Aktivitas Enzim.....	13
2.6.5. Lokasi Aktif Enzim.....	13
2.6.6. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	14
2.6.6.1. Konsentrasi Enzim.....	14
2.6.6.2. Konsentrasi Substrat.....	14
2.6.6.3. Pengaruh Temperatur.....	14
2.6.6.4. Pengaruh pH.....	15
2.7. Enzim Protease.....	15
2.8. Penentuan Aktivitas Enzim.....	16
2.9. Karakterisasi Protease.....	18
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	20
3.1. Sampel, Alat dan Bahan.....	20
3.1.1. Sampel.....	20
3.1.2. Alat.....	20
3.1.3. Bahan.....	21
3.2. Variabel Penelitian.....	22
3.2.1. Variabel Isolasi Bakteri.....	22
3.2.1.1. Variabel Yang Dikonstankan.....	22

3.2.2. Variabel Isolasi Enzim	22
3.2.2.1. Variabel Yang Diukur.....	22
3.2.2.2. Variabel Bebas.....	22
3.2.3. Variabel Yang Dikonstankan	
Untuk Uji Aktivitas Enzim.....	23
3.3. Cara Kerja.....	23
3.3.1. Preparasi Larutan.....	23
3.3.2. Isolasi Bakteri.....	26
3.3.2.1. Isolasi Bakteri Termofilik	26
3.3.2.2. Pengecatan Gram.....	26
3.3.2.3. Pengujian Aktivitas Protease.....	27
3.3.2.4. Produksi Enzim	27
3.4. Isolasi Enzim	28
3.4.1. Ekstraksi	28
3.4.2. Fraksinasi dengan Ammonium Sulfat.....	28
3.4.3. Proses Dialisis	29
3.5. Uji Aktivitas Enzim.....	29
3.5.1. Penentuan λ Optimum Kasein.....	29
3.5.2. Penentuan Kurva Standar Kasein.....	29
3.5.3. Penentuan λ Optimum BSA.....	29
3.5.4. Penentuan Kurva Standar BSA	30
3.5.5. Penentuan Aktivitas Enzim Protease.....	30
3.6. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.....	30

3.7. Karakterisasi Enzim	31
3.7.1. Penentuan Temperatur Optimum	31
3.7.2. Penentuan pH Optimum	31
3.7.3. Penentuan Waktu Inkubasi	31
3.8. Penentuan Unit Aktivitas dan Aktivitas Spesifik	
Enzim Protease	32
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Isolasi dan Fermentasi Bakteri	33
4.2. Produksi Enzim	34
4.3. Isolasi Enzim Protease	35
4.4. Karakterisasi Enzim Protease	37
4.4.1. Temperatur Optimum	37
4.4.2. pH Optimum	38
4.4.3. Waktu Inkubasi Optimum	39
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil kurva pertumbuhan bakteri termofilik	44
Tabel 2. Hasil penentuan λ optimum larutan standar kasein	46
Tabel 3. Hasil penentuan λ optimum larutan standar BSA.....	47
Tabel 4. Hasil penentuan kurva standar kasein	48
Tabel 5. Hasil penentuan kurva standar BSA.....	49
Tabel 6. Hasil penentuan aktivitas enzim pada tiap fraksi.....	49
Tabel 7. Hasil penentuan kadar protein tiap fraksi.....	49
Tabel 8. Hasil penentuan aktivitas spesifik enzim pada tiap fraksi.....	50
Tabel 9. Hasil penentuan pH optimum pada berbagai variasi pH.....	50
Tabel 10. Hasil penentuan temperatur optimum pada berbagai variasi temperatur.....	50
Tabel 11. Hasil penentuan waktu inkubasi optimum pada berbagai variasi waktu inkubasi.....	51
Tabel 12. Jumlah penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dalam gram/liter larutan enzim.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri.....	9
Gambar 2. Mekanisme kerja enzim.....	11
Gambar 3. Kurva standar kasein.....	17
Gambar 4. Kurva pertumbuhan isolat bakteri.....	34
Gambar 5. Kurva λ optimum larutan standar kasein.....	45
Gambar 6. Kurva λ optimum larutan standar BSA.....	46
Gambar 7. Kurva standar kasein.....	47
Gambar 8. Kurva standar BSA.....	47
Gambar 9. Isolat bakteri termofilik.....	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil kurva pertumbuhan bakteri termofilik.....	44
Lampiran 2. Penentuan λ optimum larutan standar kasein.....	45
Lampiran 3. Penentuan λ optimum larutan standar BSA.....	46
Lampiran 4. Penentuan kurva standar kasein.....	47
Lampiran 5. Penentuan kurva standar BSA	48
Lampiran 6. Penentuan aktivitas enzim dan kadar protein	49
Lampiran 7. Penentuan aktivitas spesifik dan hasil karakterisasi enzim	50
Lampiran 8. Penentuan waktu inkubasi optimum.....	51
Lampiran 9. Gambar isolat bakteri termofilik.....	52
Lampiran 10. Daftar kebutuhan ammonium sulfat	53

