

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan I

Judul : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI
ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK SUMBER AIR PANAS
GEDONG SONGO, BAWEN**

Oleh : TUTI SUSILAWATI

NIM : J 2C 098 159

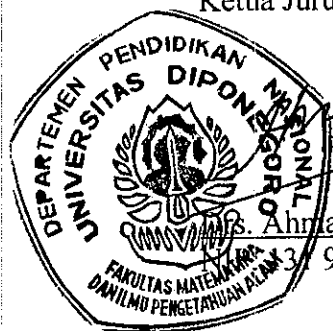
Telah diuji dan dinyatakan lulus pada Ujian Sarjana pada tanggal:
02 September 2004

Semarang, 02 September 2004

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

Ketua Panitia Ujian



[Signature]
B. Ahmad Suseno, M. Si
NIP. 131 918 802

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

HALAMAN PENGESAHAN

Lembar Pengesahan II

Judul : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI
ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK SUMBER AIR PANAS
GEDONG SONGO, BAWEN**

Oleh : TUTI SUSILAWATI

NIM : J 2C 098 159

Telah diuji dan dinyatakan lulus pada Ujian Sarjana pada tanggal:
02 September 2004

Semarang, 02 September 2004

Mengetahui,

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Khairul Anam, M. Si
NIP. 132 087 437

Pembimbing III



Dra. M. G. Isworo Rukmi, M. Kes
NIP. 130 989 273

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang dengan rahmat dan karunia-Nya penulisan Skripsi dapat diselesaikan. Skripsi yang berjudul **“ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK SUMBER AIR PANAS GEDONG SONGO, BAWEN”** disusun guna memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar sarjana di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis tak lupa mengucapkan terima kasih atas bantuan selama melaksanakan penelitian dan penyusunan Skripsi kepada:

1. Bapak Drs. Ahmad Suseno M.Si selaku ketua jurusan kimia, F MIPA, Universitas Diponegoro.
2. Ibu Dra. Nies Suci Mulyani, M.S, selaku pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu dan pemikiran untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi.
3. Bapak Khairul Anam, M.Si, selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan saran selama penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi.
4. Ibu Dra. M. G. Isworo Rukmi, M. Kes, selaku pembimbing III yang telah memberikan bimbingan dan saran selama penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi.
5. Bapak Drs. Suhartana, M.Si, selaku dosen wali angkatan tahun 1998.

6. Bapak/ibu dosen yang telah memberikan bimbingan, transfer ilmu dan bantuan selama penulis kuliah.
7. Bapak dan Ibu Suparman serta Lina Yulinawati yang selalu memberikan dukungan material dan spiritual.
8. Rekan-rekan angkatan tahun 1998 khususnya Aida Nurmalasari, Patma, Yulia Ermawati, Megasari Utami, Wie Ling, Rahayu Safitri, Amin Zubaedi atas bantuan dan diskusinya selama penelitian.
9. Bapak Sidiq sebagai Tehnisi Laboran Biokimia yang telah membantu dalam hal teknis selama penelitian.
10. Bapak Indra dan Bapak Mardi sebagai Tehnisi Laboran Mikrobiologi yang telah membantu dalam hal teknis selama penelitian.
11. Teman-teman Kos Griya Anugerah khususnya Erika Merdiani dan Dian Anggraeni yang telah membantu selama penelitian.
12. Seluruh pihak yang telah memberikan dukungan, saran dan bantuannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Skripsi ini masih belum sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan Skripsi ini. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, September 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
SUMMARY	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Umum Bakteri.....	4
2.2 Isolasi Bakteri.....	5
2.3 Pengamatan Morfologi	6
2.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	7
2.5 Bakteri Termofilik.....	9
2.6 Enzim.....	10
2.6.1 Komponen Enzim	10

2.6.2 Satuan Enzim	10
2.6.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	11
2.6.4 Mekanisme Kerja Enzim	12
2.7 Enzim Protease.....	13
2.8 Penentuan Aktivitas Enzim... ..	14
BAB III. METODOLOGI	17
3.1 Sampel, Bahan, dan Alat	17
3.1.1 Sampel yang digunakan.	17
3.1.2 Bahan-bahan yang digunakan.	17
3.1.3 Alat-alat yang digunakan.....	18
3.2 Variabel Penelitian	18
3.2.1 Variabel Isolasi Bakteri.....	18
3.2.2 Variabel Isolasi Enzim.	18
3.2.3 Variabel yang dikonstankan untuk uji aktivitas enzim... ..	19
3.3 Cara Kerja.....	19
3.3.1 Preparasi Larutan.....	19
3.3.2 Isolasi Bakteri.....	22
3.3.3 Produksi Enzim Protease... ..	24
3.3.4 Isolasi Enzim Protease.....	24
3.3.5 Uji Aktivitas Enzim.....	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Isolasi Bakteri	29
4.2 Produksi Enzim Protease.....	30

4.3 Isolasi Enzim Protease.....	30
4.4 Karakterisasi Enzim	33
4.4.1 Temperatur Optimum	33
4.4. 2 pH Optimum.....	34
4.4. 3 Waktu Inkubasi Optimum	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan.....	37
5.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	40



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Aktivitas Spesifik Enzim Protease Hasil Isolasi	32
Tabel 4.2 Hasil Penentuan Temperatur Optimum.....	34
Tabel 4.3 Hasil Penentuan pH Optimum.....	35
Tabel 4.4 Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri	8
Gambar 2.2 Kurva Standar Kasein.....	15
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri	30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Gambar 1. Isolat Bakteri Termofilik.....	40
Lampiran B. Tabel 1. Hasil Kurva Pertumbuhan Bakteri Termofilik.....	41
Lampiran C. Tabel 2. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kasein...	42
Gambar 2. Kurva Panjang Gelombang Larutan Standar Kasein.....	42
Tabel 3. Hasil Penentuan Kurva Larutan Standar Kasein.....	43
Gambar 3. Kurva Larutan Standar Kasein.....	43
Tabel 4. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Optimum BSA.....	44
Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Optimum BSA.....	44
Tabel 5. Hasil Penentuan Kurva Standar BSA.....	45
Gambar 5. Kurva Larutan Standar BSA.....	45
Lampiran D. Penentuan Aktivitas Enzim Protease.....	46
Tabel 6. Hasil Penentuan Aktivitas Enzim Protease Tiap Fraksi	46
Penentuan Kadar Protein.....	46
Tabel 7. Hasil Penentuan Kadar Protein Tiap Fraksi.....	47
Karakterisasi Enzim.....	47
Lampiran E. Prosedur Kerja.....	48
Lampiran F. Tabel Penambahan Kebutuhan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	51
Lampiran.G Gambar 1. Kurva Hasil Penentuan Temperatur Optimum.....	52
Gambar 2. Kurva Hasil Penentuan pH Optimum.....	52
Gambar 3. Kurva Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	52