

**SELEKSI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITINOLITIK SERTA PENGUJIAN
BEBERAPA VARIASI SUHU DAN pH UNTUK PRODUKSI ENZIM**



LISDA APRIANI

0303040237



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI

DEPOK

2008

**SELEKSI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITINOLITIK SERTA PENGUJIAN
BEBERAPA VARIASI SUHU DAN pH UNTUK PRODUKSI ENZIM**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

LISDA APRIANI

0303040237



2008

SKRIPSI : SELEKSI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITINOLITIK
SERTA PENGUJIAN BEBERAPA VARIASI SUHU DAN pH
UNTUK PRODUKSI ENZIM

NAMA : LISDA APRIANI

NPM : 0303040237

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 2 JULI 2008

Dr. Budiasih Wahyuntari
PEMBIMBING I

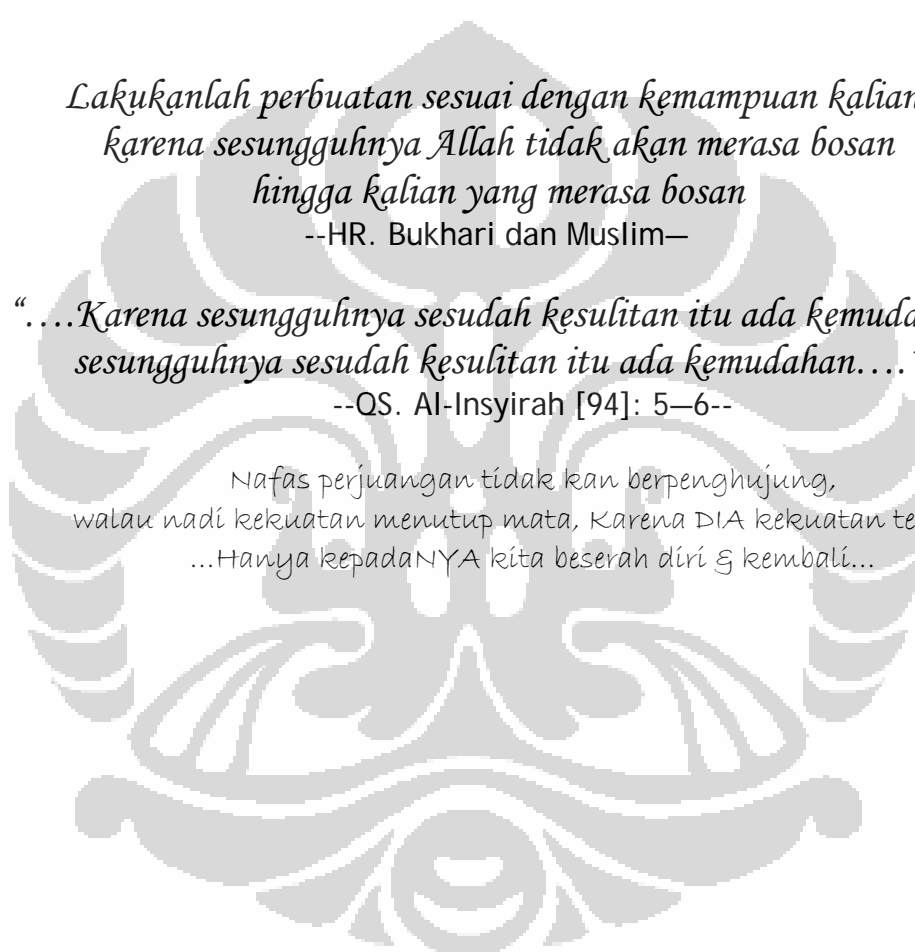
Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc.
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana: 9 Juli 2008

Penguji I : Drs. Ellyzar I. M. Adil, M.Si. (.....)

Penguji II : Drs. Iman Santoso, M.Phil. (.....)

Penguji III : Dra. Sitaresmi Ismangil, M.Sc. (.....)



*Lakukanlah perbuatan sesuai dengan kemampuan kalian,
karena sesungguhnya Allah tidak akan merasa bosan
hingga kalian yang merasa bosan*

--HR. Bukhari dan Muslim--

*"...Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan;
sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan...."*

--QS. Al-Insyirah [94]: 5-6--

*Nafas perjuangan tidak kan berpenghujung,
walau nadi kekuatan menutup mata, Karena DIA kekuatan tercipta
...Hanya kepadanya kita beserah diri & kembali...*

Dipersembahkan untuk:

Mama, Papa, De Andi
&
Sahabat tercinta

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur dengan tulus penulis panjatkan kepada Allah SWT atas nikmat, perlindungan, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Budiasih Wahyuntari sebagai Pembimbing I dan Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. sebagai Pembimbing II, atas ilmu, bimbingan, kesabaran, semangat, dan kasih sayang yang tidak bosan diberikan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat tersusun. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dra. Lutfah S. Nurusman, M.Si. selaku Penasehat Akademik dan Dra. Sitaresmi Ismangil, M.Sc., atas masukan dalam penulisan skripsi serta sebagai Penasehat Akademik. Terima kasih kepada Drs. Ellyzar I. M. Adil, M.Si. dan Drs. Iman Santoso, M.Phil., atas bimbingan dan saran dalam penulisan skripsi.

Rangkaian terima kasih juga penulis ucapkan kepada Ir. Trismilah, M.Si. atas izinnya, sehingga penulis dapat melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Bioindustri (LTB). Terima kasih penulis ucapkan pula kepada seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Biologi FMIPA UI atas bekal ilmu yang bermanfaat.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada teman-teman seperjuangan, Eva Oktarina, Agnes Nur Ayu Dana Pradipta, Muhammad Fajar, dan Junianto, atas semangat serta kerja sama yang tulus selama penelitian. Terima kasih kepada laboran LTB, yaitu Mba Widi, Teh Rita, Uni,

Mas Ucup, Mas Mufti, Mas Ozi, Pak Jo, dan para staf LTB yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan dan persahabatan selama penelitian.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada sahabat-sahabat 2003, terutama saudaraku, Mala, Aya dan Suzan atas do'a dan semangatnya, Putri, Ipul, Nugl, Vina, Erni, Lana, Toni, Pipit, Nanda, Tisya, Emon, Dizha, Ipeh, Seto, Nane, Andreas, dan sahabat 2003 lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, Ka Ilmi serta mahasiswa Biologi (2000--2007). Terima kasih atas bantuan dan persahabatan abadi yang terjalin.

Terima kasih untuk Kang Ihsan dan keluarga besar SSC atas do'a dan semangatnya. Terima kasih pula untuk keluargaku "*One Roof One Septictank*" Travellya, terutama Duty, Neqy, Berland, Kevin, dan Topicko atas semangat, keceriaan, dan persahabatan hangat yang begitu tulus.

Terima kasih terindah penulis ucapkan untuk M.H. Haikal atas kesabaran, bantuan, do'a, semangat, dan kasih sayang yang tulus dalam mewujudkan mimpi untuk kebahagiaan kita dan umat. Sangat istimewa penulis ucapkan terima kasih untuk Mama, Papa, dan De Andi, atas do'a, semangat hidup, pengertian, ketulusan cinta, dan kasih sayang ikhlas yang senantiasa diberikan. Semoga penulis dapat memberikan kebahagiaan. Penulis masih mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi pembaca.

Penulis

2008

ABSTRAK

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Bioindustri, Pusat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (LTB-PTB-BPPT)-Serpong. Penelitian bertujuan mengetahui kemampuan delapan isolat bakteri dari limbah kulit udang asal Palembang dalam memproduksi enzim kitinolitik, serta menentukan suhu dan pH optimum untuk produksi enzim dari satu isolat terpilih. Pengujian aktivitas kualitatif enzim ditentukan dengan nilai indeks kitinolitik dan aktivitas kuantitatif enzim ditentukan dengan mengukur kemampuan enzim dalam menghidrolisis kitin menjadi N-asetilglukosamin. Semua isolat uji menunjukkan adanya zona bening dan indeks kitinolitik tertinggi ditunjukkan oleh isolat C15 dengan nilai 1,73. Tujuh isolat bakteri, C4, C6, C8, C12, C14, C15, dan D10 menunjukkan produksi enzim yang fluktuatif, kecuali isolat D6. Isolat D6 dipilih untuk penentuan suhu dan pH optimum dalam produksi enzim kitinolitik. Pengamatan produksi enzim kitinolitik isolat D6 dengan variasi suhu dan pH menunjukkan bahwa produksi enzim tertinggi pada suhu 30° C dan pH 7 (0,0643 U/mg; 0,0032 U/ml).

Kata kunci: bakteri kitinolitik; enzim kitinolitik; kitin; limbah kulit udang; produksi enzim; variasi pH; variasi suhu.

viii + 85 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 60 (1955--2007)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kitin.....	5
B. Enzim kitinolitik.....	6
C. Bakteri penghasil enzim kitinolitik.....	9
D. Produksi enzim kitinolitik.....	11
E. Penentuan aktivitas enzim kitinolitik.....	14
1. Aktivitas kualitatif enzim kitinolitik.....	15
2. Aktivitas kuantitatif enzim kitinolitik.....	16
3. Metode lain dalam penentuan aktivitas enzim kitinolitik.....	16
F. Penentuan konsentrasi protein.....	17

BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA.....	19
A. Lokasi dan waktu penelitian.....	19
B. Bahan.....	19
1. Mikroorganisme.....	19
2. Medium dan bahan kimia.....	19
3. Peralatan.....	20
C. Cara kerja.....	21
1. Pembuatan koloidal kitin.....	21
2. Pembuatan medium, reagen, dan bufer.....	21
a. Pembuatan medium kitin.....	21
b. Pembuatan medium Luria Bertani (LB).....	22
c. Pembuatan reagen Schale dan larutan standar N-asetilglukosamin.....	22
d. Pembuatan reagen Bradford dan larutan standar BSA.....	22
e. Pembuatan larutan bufer.....	23
f. Pembuatan substrat kitin 1%.....	24
3. Peremajaan isolat dan pembuatan koloni tunggal.....	24
4. Pembuatan <i>working culture</i> dan <i>stock culture</i>	24
5. Penentuan aktivitas kualitatif enzim kitinolitik.....	25
6. Seleksi bakteri kitinolitik.....	26
a. Produksi enzim kitinolitik.....	26
b. Penentuan aktivitas kuantitatif enzim kitinolitik.....	27

7. Penentuan jumlah sel bakteri.....	28
8. Penentuan konsentrasi protein enzim kitinolitik.....	29
9. Pengujian variasi suhu dan pH untuk produksi enzim kitinolitik.....	29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
A. Aktivitas kualitatif enzim kitinolitik (indeks kitinolitik).....	31
B. Seleksi bakteri kitinolitik.....	34
1. Produksi enzim kitinolitik.....	34
2. Jumlah sel bakteri.....	38
3. Konsentrasi protein.....	42
4. Isolat terpilih.....	43
C. Variasi suhu dan pH untuk produksi enzim kitinolitik.....	47
1. Variasi suhu.....	47
2. Variasi pH.....	49
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	51
DAFTAR ACUAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Polimer N-asetilglukosamin.....	62
2. Jalur degradasi kitin.....	62
3. Struktur α -kitin.....	63
4. Struktur β -kitin.....	64
5. Zona bening isolat uji setelah inkubasi 96 jam.....	65
6. Kurva standar N-asetilglukosamin.....	66
7. Kurva standar BSA.....	66
8. Grafik nilai indeks kitinolitik.....	67
9. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C4.....	67
10. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C6.....	68
11. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C8.....	68
12. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C12.....	69
13. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C14.....	69
14. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat C15.....	70
15. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat D6.....	70
16. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik oleh isolat D10.....	71
17. Pengamatan mikroskopis isolat D6.....	71
18. Produksi enzim kitinolitik oleh isolat D6 dengan beberapa variasi suhu pada pH 7.....	72
19. Produksi enzim kitinolitik oleh isolat D6 dengan beberapa variasi pH pada suhu 30° C.....	72

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Variasi konsentrasi larutan standar GlcNAc (konsentrasi stok GlcNAc 1 mg/ml).....	74
2. Variasi konsentrasi larutan standar BSA (konsentrasi stok BSA 0,2 mg/ml).....	75
3. Nilai rerata indeks kitinolitik delapan isolat bakteri pada hari keenam inkubasi.....	76
4. Pertumbuhan dan produksi enzim kitinolitik delapan isolat bakteri....	78

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Skema tahapan kerja penelitian.....	81
2. Skema pembuatan koloidal kitin.....	82
3. Skema penentuan aktivitas kualitatif enzim kitinolitik.....	83
4. Skema penentuan aktivitas kuantitatif enzim kitinolitik.....	84
5. Skema penentuan konsentrasi protein.....	85