

**SKRINING DAN ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM
AMILASE DARI LIMBAH TEBU**



**YONATHAN MEIKY SEPTIAN
2443008008**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2012**

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/ karya ilmiah saya, dengan judul: **Skrining dan Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Amilase dari Limbah Tebu** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

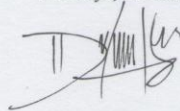
Surabaya, 4 Februari 2012



Yonathan Meiky Septian
2443008008

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
Adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
Merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
Menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
Dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh

Surabaya, 4 Februari 2012



Yonathan Meiky Septian
2443008008

**SKRINING DAN ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM
AMILASE DARI LIMBAH TEBU**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

YONATHAN MEIKY SEPTIAN

2443008008

Telah disetujui pada tanggal 4 Februari 2012 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Lanny Hartanti S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,



Lisa Soegianto S.Si., Apt.
NIK. 241.07.0609

ABSTRAK

SKRINING DAN ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM AMILASE DARI LIMBAH TEBU

Yonathan Meiky Septian
2443008008

Telah dilakukan penelitian tentang skrining dan isolasi bakteri penghasil enzim amilase dari limbah tebu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri amilolitik dan mengidentifikasi isolat tersebut sampai dengan genus serta menguji aktivitas dari ekstrak kasar enzim amilase yang diproduksi. Pada penelitian ini digunakan media *Starch Agar* (SA) untuk mengidentifikasi isolat bakteri amilolitik. Pemurnian isolat dilakukan dengan metode penggoresan dan penuangan. Untuk mengidentifikasi genus isolat bakteri amilolitik dilakukan karakterisasi mulai dari ciri makroskopis, ciri mikroskopis, dan uji biokimia. Uji biokimia dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan *Microbact Identification System* dari Oxoid. Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim amilase yaitu metode spektrofotometri dengan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa isolat bakteri amilolitik kemungkinan besar adalah *Bacillus anthracis*. Hasil pengujian menunjukkan aktivitas ekstrak kasar enzim amilase sebesar $0,290 \pm 0,049$ U/ml untuk inkubasi fermentasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan $0,458 \pm 0,025$ U/ml untuk inkubasi fermentasi selama 48 jam pada suhu 37°C . Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan produk berupa 1 mg glukosa per menit pada suhu 37°C dan pH 7,0.

Kata kunci: limbah tebu, amilase, *starch agar*, isolat bakteri amilolitik

ABSTRACT

SCREENING AND ISOLATION OF AMYLASE PRODUCING BACTERIA FROM SUGARCANE WASTE

Yonathan Meiky Septian
2443008008

The research of screening and isolation of amylase-producing bacteria from sugarcane waste had been conducted. The objectives of the research were to obtain amylolytic bacteria isolate, to determine the genus of the isolate and also to measure the activity of crude amylase enzyme produced. Starch Agar (SA) media was applied in this research to identify amylolytic bacteria isolates. Purification of isolate was performed by streak plate and pour plate methods. The genus of the isolated bacteria was further characterized by macroscopic and microscopic properties, and also by biochemical tests. Biochemical tests were carried out using conventional methods and Microbact Identification System. The method applied for measuring the amylase activity was spectrophotometry by 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) as colorimetric reagent. The result of this research showed that the isolated amylolytic bacteria was most likely *Bacillus anthracis*. Enzyme activity measurement results showed that the activity of crude extract of amylase from 24 hours fermentation at 37°C was 0.290 ± 0.049 U/ml, while the activity of crude extract of amylase from 48 hours fermentation at 37°C was 0.458 ± 0.025 U/ml. One unit activity is defined as the amount of enzyme that will catalyze the production of 1 mg of glucose per minute at 37°C and pH 7.0.

Key word: sugarcane waste, starch agar, amylolytic bacteria isolate.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat dan rahmatNya, penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi yang berjudul “Skrining dan isolasi bakteri penghasil enzim amilase dari limbah tebu” ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, karenanya pada kesempatan ini disampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyusunan naskah skripsi ini, yaitu :

1. Tuhan Yesus Kristus yang telah menyertai saya dari awal hingga terselesaikannya naskah skripsi ini.
2. Ibu Lanny Hartanti S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan, dan semangat hingga terselesaikan skripsi ini.
3. Ibu Lisa Soegianto S.Si., Apt., selaku dosen pembimbing II yang memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasihat dalam proses penyelesaian skripsi ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Ibu Martha Ervina M.Si., Apt. dan dr. Pikanto Wibowo selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran-saran yang berguna bagi penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Martha Ervina, M.Si., Apt. dan Catherina Caroline, M.Si., Apt., selaku dekan dan sekretaris Fakultas Farmasi Universitas Katolik

Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan fasilitas dan bantuan dalam penyusunan naskah skripsi ini.

6. Ibu Dra. Idajani Hadinoto, MS., Apt., selaku wali studi yang telah memberikan semangat, saran dan pengarahan penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh dosen Fakultas Farmasi yang telah mendampingi selama proses perkuliahan mulai dari semester awal sampai akhir.
8. Bapak Didik, laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Solida yang telah menyediakan banyak waktu dan fasilitas laboratorium selama penelitian berlangsung.
9. Bapak Syamsul, laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Likuida yang telah meminjamkan alat selama penelitian berlangsung.
10. Bapak Anto, laboratorium Mikrobiologi yang telah menyediakan banyak waktu dan fasilitas laboratorium selama penelitian berlangsung.
11. Ibu Dr. Ni'matuzahroh, selaku dosen Universitas Airlangga yang telah membantu dalam penelitian hingga dapat terselesaikan dengan lancar.
12. Ibu One dan bapak Fanani, yang telah membantu saat penelitian di dalam laboratorium Proteomik Universitas Airlangga.
13. Keluargaku tercinta selaku orang tua yang selalu mendoakan agar penelitian ini berjalan lancar.
14. Teman seperjuangan dalam penelitian ini (Fandy dan Sinta) yang telah melewati saat-saat susah dan senang dalam menyelesaikan penelitian ini.
15. Semua teman Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala terutama Edwin, Messi, Roy, Risky, Cynthia, Jeni, Lenny, dan Talisa yang telah memberikan bantuan dan semangat dalam penyusunan naskah skripsi ini.
16. Semua pihak terkait yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Oleh karena disadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, maka sangat diharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini. Terima kasih.

Surabaya, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
BAB	
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Limbah Ampas Tebu	4
2.2. Enzim	4
2.3. Amilum	9
2.4. Enzim Amilase	11
2.5. Pembenihan Mikroba Amilolitik	12
2.6. Uji Biokimia Bakteri.....	14
2.7. Klasifikasi Bakteri menurut <i>Bergey's Manual</i>	14
2.8. Teknik-teknik Fermentasi Mikroba	16
2.9. Ekstraksi Enzim	18

3	METODE PENELITIAN	20
	3.1. Sampel, Bahan, dan Alat Penelitian	20
	3.2. Prosedur Penelitian	21
	3.3. Diagram Alir Kerja	27
	3.4. Analisa Data	28
4	HASIL PERCOBAAN DAN BAHASAN	29
	4.1. Hasil Percobaan	29
	4.2. Bahasan	40
5	SIMPULAN	46
	5.1. Simpulan	46
	5.2. Alur Penelitian Selanjutnya	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. PEMBUATAN REAGEN	50
B. SPEKTRUM GLUKOSA DAN BLANKO ENZIM	51
C. KURVA STANDAR GLUKOSA	52
D. HASIL PENGUKURAN BLANKO ENZIM	53
E. HASIL PENGUKURAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE	54
F. SPEKTRUM SAMPEL DAN BLANKO ENZIM	55
G. PERHITUNGAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE	56
H. KARAKTERISTIK FISILOGIS SPESIES <i>BACILLUS</i>	58
I. PENGELOMPOKAN SPESIES <i>BACILLUS</i>	59
J. PEMBACAAN <i>MICROBACT</i> KIT 12A DAN 12B	61
K. HASIL UJI FISILOGIS ISOLAT	65
L. PERHITUNGAN ANGKA KOEFISIEN SEBANDING <i>BACILLUS</i>	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Enam Kelas Utama dari Enzim	6
4.1. Ciri Makroskopis Keenam Isolat Terpilih	30
4.2. Ciri Makroskopis Isolat B1 dan Isolat B2	32
4.3. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Amilolitik Terpilih	37
4.4. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Perubahan energi yang dipengaruhi oleh efek katalis	5
2.2. Skema model interaksi antara enzim dan substratnya	8
2.3. Diagram klasifikasi bakteri Gram positif	15
2.4. Diagram klasifikasi bakteri Gram negatif	15
3.1. Diagram alir kerja	27
4.1. Isolat bakteri limbah ampas tebu	29
4.2. Daerah halo isolat bakteri amilolitik	31
4.3. Hasil pemurnian isolate dengan (a) metode penggoresan, (b) metode penuangan.....	32
4.4. Koloni isolat murni B1	33
4.5. Pengamatan mikroskopis isolat B1	34
4.6. Hasil uji biokimia konvensional.....	36
4.7. Hasil pengujian dengan kit <i>Microbact</i> (a) uji kit 12A, (b) uji kit 12B	36
4.8. Kultur bakteri amilolitik setelah penggojokan 150 rpm, 37°C selama 24 jam	38
4.9. Hasil sentrifugasi media produksi	39