

**KARAKTERISASI EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI
ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK (*Bacillus subtilis* Strain SF01)
ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**



CAESILIA PUTRI UTAMI FAJARPEL

2443011067

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2015

**KARAKTERISASI EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI
ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK (*Bacillus subtilis* Strain SF01)
ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

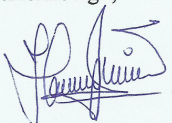
OLEH:

CAESILIA PUTRI UTAMI FAJARPEL

2443011067

Telah disetujui pada tanggal 4 Juni 2015 dan dinyatakan LULUS

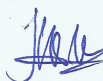
Pembimbing I,



Dr. Lanny Hartanti, M.Si.

NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,



Dra. Hj. Emi Sukarti, M.Si., Apt.

NIK. 241.81.0081

Mengetahui,

Ketua Penguji



Prof. Dr. J. S. Ami Soewandi, Apt.

NIK. 241.02.0542

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase Dari Isolat Bakteri Selulolitik (*Bacillus Subtilis Strain SF01*) Asal Limbah Ampas 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 Juni 2015



Caesilia Putri Utami Fajarpel

2443011067

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian 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 Juni 2015



Caesilia Putri Utami Fajarpel

2443011067

**KARAKTERISASI EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI
ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK (*Bacillus subtilis* Strain SF01)
ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**

**CAESILIA PUTRI UTAMI FAJARPEL
2443011067**

ABSTRAK

Produk pertanian yang melimpah menyediakan limbah hasil pertanian yang melimpah pula. Limbah hasil pertanian ini memiliki komponen utama lignoselulosa sehingga dapat dikonversi menjadi produk yang memiliki nilai ekonomis, seperti glukosa dan etanol dengan jalan menghidrolisis selulosa dengan bantuan selulase sebagai biokatalisator. Dari penelitian terdahulu diperoleh isolat bakteri murni dari limbah ampas tebu yang mempunyai aktivitas selulolitik yaitu isolat bakteri *Bacillus subtilis* strain SF01. Pada penelitian ini dilakukan penentuan karakteristik dari enzim yang dihasilkan tersebut. Tahapan awal dilakukan penentuan kurva pertumbuhan isolat *Bacillus subtilis* Strain SF01 dan kurva produksi selulase yang dihasilkan. Selanjutnya dilakukan pula penentuan aktivitas selulase pada variasi pH (4, 5, 6, 7, 8, dan 9), dan variasi suhu (30, 40, 50, 60, 70, dan 80° C). Juga dilakukan penentuan stabilitas pH dan suhu enzim selulase ini. Penentuan aktivitas enzim menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Kurva pertumbuhan bakteri memasuki fase pertumbuhan cepat pada jam ke-2 hingga jam ke-17. Setelah jam ke-17 isolat bakteri memasuki fase stasioner. Dari penentuan kurva produksi diketahui bahwa waktu optimum untuk produksi enzim yaitu pada jam ke-22 setelah diinkubasi. Ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis strain SF01* bekerja optimal pada 60°C dan pH 5. Sementara untuk uji stabilitas suhu diketahui enzim selulase memiliki aktivitas residu masih diatas 50% dan cenderung stabil setelah 5 jam dinkubasi pada suhu optimumnya, dan untuk stabilitas pH didapatkan hasil bahwa enzim selulase lebih stabil pada pH 6 dibandingkan pada pH 4.

Kata Kunci : Selulase, kurva pertumbuhan, kurva produksi, karakterisasi enzim.

CHARACTERIZATION OF CRUDE EXTRACT OF CELLULASE ENZYME FROM CELLULOLYTIC BACTERIA (*Bacillus subtilis* strain SF01) ISOLATED FROM SUGARCANE WASTE

CAESILIA PUTRI UTAMI FAJARPEL
2443011067

ABSTRACT

Abundant agricultural products provide abundant agricultural waste as well. These agricultural wastes have the main components of lignocellulose that can be converted into a more valuable economic product, such as glucose and ethanol by cellulolytic hydrolysis of cellulose. From previous studies, it had been obtained pure bacterial isolates from sugarcane waste that have cellulolytic activity, which was named isolate of *Bacillus subtilis* strain SF01. This research studied the characteristics of the resulting enzyme. First, the growth curve of isolates *Bacillus subtilis* Strain SF01 and the cellulose production curves of cellulase enzymes were determined. Further characterization was done by determination of cellulase activity at various pHs (4, 5, 6, 7, 8, and 9) and various temperatures (30, 40, 50, 60, 70, and 80° C). The determination of pH and temperature stability of this cellulase had also been done. Determination of enzyme activity is done using the DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) method. The growth curve of bacteria entering a rapid phase growth in the 2nd hour until the 17th hour. After the 17th hour the isolate of the bacteria entering the stationary phase. From the determination of the production curve it was known that the optimum time for the production of enzymes was on the 22nd hour after incubation. Crude extract of cellulase from *Bacillus subtilis* strain SF01 worked optimally at 60° C and pH 5, while from the temperature stability assay, it has known that the cellulase had residual activity above 50% and likely to be stable after 5 hours incubation at its optimum temperature, and is more stable at pH 6 than at pH 4.

Keywords: Cellulase, growth curve, the curve of production, characterization of enzymes.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Tuhan Yesus atas segala kasih dan pertolongannya sehingga dapat terselesaikannya skripsi yang berjudul “**KARAKTERISASI EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE DARI ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK (*Bacillus subtilis Strain SF01*) ASAL LIMBAH AMPAS TEBU**”. Adapun skripsi ini merupakan prasyarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Menyadari tanpa bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka rasa terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat yang luar biasa kepada penulis sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ibu Dr. Lanny Hartanti, M.Si. dan Ibu Dra. Hj. Emi Sukarti., M.Si., Apt selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta dukungan, petunjuk, pemikiran, petuah, dan saran yang sangat berharga selama penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. Ami Soewandi, Apt. dan Ibu Martha Ervina,S.Si, M.Si., Apt. selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna bagi penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., G.Dip.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas sarana dan prasarana serta kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Dekan Fakultas Farmasi Ibu Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt yang telah membantu dalam memberikan sarana dan fasilitas sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
6. Ibu Dr. Monica Widyawati Setiawan, M.Sc., Apt selaku wali studi yang telah memberikan dorongan dan arahan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
7. Bapak Henry Kurnia Setiawan, M.Si., Apt yang telah memberikan arahan dalam menyelesaikan pengolahan data secara statistik.
8. Kepala Laboratorium Proteomik Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasana penunjang sehingga skripsi ini boleh selesai dengan baik.
9. Tim *supervisor* Lab Proteomik, Mas Ivan, Mbak Anita dan Mbak One yang tetap tulus dan sabar dalam memberikan penjelasan dan arahan kepada penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
10. Teman – teman seperjuangan SF01 *crew* Ce Revon, Billy, Lavenia, Paula, Liana, Kristian yang telah banyak membantu dan bekerja sama dengan baik demi terselesaikannya skripsi ini.
11. Sahabat – sahabat tercinta Lissa, Riska, Ziah, Yolana, Enny, Lusiana, Fika, Kak Tari yang telah memberikan semangat, doa dan tenaganya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi. Geng Dinoyo Tengah 32, Ce Mufty, Ce Rhema, Yuni, Ce Devi untuk semua kebersamaan yang telah dilalui bersama. Terima kasih juga telah menjadi keluarga bagi penulis selama menempuh pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

12. Bapak Paskalis, Mama Marselina, adik Tasya dan semua keluarga besar yang telah memberikan dukungan moral maupun materi sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Terima kasih untuk cinta dan kasih sayang kalian.
13. Teman - teman seperjuangan angkatan 2011 dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah membantu serta memberikan dukungan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Menyadari keterbatasan pengetahuan dalam menyajikan skripsi ini, dengan senang hati penulis menerima kritik, saran, dan tanggapan yang positif untuk penyusunan skripsi ini.

Surabaya, 15 April 2015

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang penelitian.....	2
1.2. Rumusan masalah.....	4
1.3. Tujuan penelitian.....	5
1.4. Manfaat penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tinjauan mikroba selulolitik.....	7
2.2. Isolat bakteri selulolitik.....	8
2.3. Tinjauan tentang selulosa.....	10
2.4. Tinjauan tentang enzim selulase.....	11
2.4.1. Kerja enzim pada substrat.....	14
2.4.2. Kinetika reaksi enzimatik.....	15
2.4.3. Mekanisme kerja enzim.....	16
2.4.4. Aktivitas enzim.....	20
2.4.5. Pengaruh suhu.....	21
2.4.6. Pengaruh pH.....	21
2.5. Kurva pertumbuhan mikroorganisme.....	22

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	25
3.1. Jenis penelitian.....	25
3.2. Sampel, bahan dan alat penelitian.....	25
3.2.1. Sampel penelitian.....	25
3.2.1. Bahan penelitian.....	26
3.2.3. Alat penelitian.....	26
3.3. Metode penelitian.....	26
3.3.1. Pembuatan media cair.....	26
3.3.2. Pembuatan media padat.....	27
3.3.3. Kurva pertumbuhan dan produksi.....	27
3.3.4. Kurva standar glukosa.....	28
3.3.5. Kurva standar protein BSA.....	28
3.3.6. Kadar protein enzim.....	29
3.3.7. Produksi enzim.....	29
3.3.8. Uji aktivitas enzim.....	29
3.3.9. Karakterisasi enzim selulase.....	30
3.3.9.1. Penentuan suhu optimum.....	30
3.3.9.2. Penentuan pH optimum.....	30
3.3.9.3. Stabilitas pH.....	30
3.3.9.4. Stabilitas suhu.....	30
3.4. Analisis data.....	31
3.5. Diagram alir penelitian.....	32
BAB 4. HASIL PEMBAHASAN.....	33
4.1. Hasil percobaan.....	33
4.1.1. Kurva standar glukosa.....	33
4.1.2. Karakteristik mikroskopis isolat.....	34
4.1.3. Kurva pertumbuhan.....	35

4.1.4. Kurva produksi.....	36
4.1.5. Karakter enzim selulase.....	37
4.2. Pembahasan.....	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan.....	47
5.2. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Hasil Blast isolat bakteri SF01.....	9
2.2. Hidrolisis berbagai substrat oleh enzim selulase.....	14
4.1. Data kurva standar glukosa.....	33
L.1. Larutan standar glukosa.....	55
L.2. Hasil uji statistik kurva standar glukosa.....	56
L.3. Data kurva standar protein.....	58
L.4. Data kadar protein selulase.....	59
L.5. Kurva pertumbuhan isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01....	62
L.6. Profil kurva produksi enzim selulase.....	63
L.7. Data replikasi variasi suhu enzim selulase.....	64
L.8. Variasi suhu enzim selulase.....	64
L.9. Data replikasi variasi pH enzim selulase	65
L.10. Variasi pH enzim selulase.....	65
L.11. Stabilitas suhu enzim selulase.....	66
L.12. Stabilitas pH enzim selulase.....	67
L.13. Data absorbansi stabilitas pH.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur kimia selulosa.....	10
2.2. Skema tahap-tahap pemecahan selulosa.....	12
2.3. Klasifikasi enzim selulase.....	14
2.4. Grafik konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik	16
2.5. Reaksi enzimatis.....	17
2.6. Interaksi antara substrat dan enzim model <i>lock and key</i>	19
2.7. Interaksi antara substrat dan enzim model <i>induced fit</i>	20
2.8. Pengaruh suhu terhadap laju reaksi.....	21
2.9. Pengaruh pH terhadap laju reaksi.....	22
3.1. Diagram alir penelitian.....	32
4.1. Grafik kurva standar glukosa.....	34
4.2. Profil kurva pertumbuhan isolat <i>Bacillus subtilis</i> strain SF01..	36
4.3. Profil kurva produksi enzim selulase.....	37
4.4. Aktivitas enzim selulase pada berbagai variasi suhu.....	38
4.5. Aktivitas enzim selulase pada berbagai variasi pH.....	39
4.6. Kurva stabilitas enzim selulase pada suhu 60°C.....	40
4.7. Kurva stabilitas pH enzim selulase.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan reagen.....	53
2. Kurva standar glukosa.....	55
3. Hasil uji statistik.....	56
4. Kurva standar protein.....	58
5. Penentuan aktivitas selulase dengan metode DNS.....	60
6. Aktivitas protein selulase dengan metode Bradford.....	61
7. Kurva pertumbuhan.....	62
8. Kurva produksi.....	63
9. Variasi suhu enzim selulase.....	64
10. Variasi pH enzim selulase.....	65
11. Stabilitas suhu enzim selulase.....	66
12. Stabilitas pH enzim selulase.....	67