



**ISOLASI MIKROBA DARI TANAH AMPAS TEBU DAN KARAKTERISASI
ENZIM DEKSTRANASE YANG DIHASILKANNYA**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Fita Dwi Suprapti
NIM 062210101065

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2011

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda dan Ayahanda tercinta, yang telah mendoakan, memotivasi, memberi kasih sayang, memperingatkan serta pengorbanannya selama ini
2. Kakakku tersayang yang selalu memberikan bantuan, nasehat, semangat, dan doanya
3. Keluarga baik di Jember, Purbalingga, Banyuwangi, Malang, Situbondo, Bondowoso, dan Banjarmasin atas semua dukungannya.
4. Guru- guru, pembimbing, pengarah, sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi. Ilmu yang kalian berikan semoga memberikan manfaat yang baik untuk hidupku di dunia dan akhirat.
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember
6. Sahabat dan teman- teman yang telah menemaniku mulai taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi, kalian semua memberikan warna yang indah dalam hidupku baik itu kebahagiaan dan kesedihan.

MOTTO

“Sesungguhnya Kami telah menjadikan apa yang ada di bumi sebagai perhiasan baginya, agar Kami menguji mereka siapakah di antara mereka yang terbaik perbuatannya.”

(Terjemahan Surah Al- Kahfi Ayat 7)

Dari Ibnu Umar rodhiallahu ‘anhu berkata: Rasulullah sholallahu ‘alaihi wa sallam bersabda, “*Jadilah engkau di dunia ini seperti orang asing atau penyeberang jalan.*”

Ibnu Umar rodhiallahu ‘anhu berkata, “*Jika kamu berada di sore hari, jangan menunggu pagi hari, dan jika engkau di pagi hari janganlah menunggu sore, manfaatkanlah masa sehat. Sebelum datang masa sakitmu dan saat hidupmu sebelum datang kematianmu.*”

(HR. Bukhari)

Termasuk mengagungkan Allah ialah menghormati (memuliakan) ilmu, para ulama, orang tua yang muslim dan para pengemban Al Qur'an dan ahlinya, serta penguasa yang adil.

(HR. Abu Dawud dan Aththusi)

Beriman dan bertaqwa,

Dunia hanya sebagai tempat ujian bagi manusia, maka yang dapat saya lakukan adalah belajar (belajar ikhlas, bersyukur, sabar, berusaha terbaik)

(Penulis)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fita Dwi Suprapti

NIM : 062210101065

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis yang berjudul *Isolasi Mikroba dari Tanah Ampas Tebu dan Karakterisasi Enzim Dekstranase yang dihasilkannya* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, November 2011

Yang menyatakan,

Fita Dwi Suprapti
NIM 062210101065

SKRIPSI

**ISOLASI MIKROBA DARI TANAH AMPAS TEBU DAN KARAKTERISASI
ENZIM DEKSTRANASE YANG DIHASILKANNYA**

Oleh

Fita Dwi Suprapti
NIM 062210101065

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Nuri.,S.Si.,Apt., M.si

RINGKASAN

Isolasi Mikroba dari Tanah Ampas Tebu dan Karakterisasi Enzim Dekstranase yang dihasilkannya. Fita Dwi Suprpti; 062210101065; 2011; 65 halaman; Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dewasa ini industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Berkembangnya berbagai teknologi pada industri biologi (bioindustri) yang menggunakan enzim, dengan sendirinya akan memerlukan berbagai jenis enzim dengan spesifikasinya masing- masing. Dekstranase adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan (1,6) α glikosida pada polisakarida dekstran. Dekstranase mempunyai banyak peranan dalam industri gula dan bidang kesehatan.

Mengingat peranan dekstranase bidang industri, maka perlu dilakukan penelitian untuk pengembangan produksi dan karakterisasi enzim dekstranase. Karakteristik enzim penting untuk menentukan aktivitas hidrolisis optimal sehingga dapat diaplikasikan secara komersil dalam bidang industri dan kesehatan. Dekstranase dapat diperoleh dari beberapa golongan mikroba, jaringan hewan dan manusia, dan dalam sampel tanah. Pada penelitian ini dilakukan isolasi mikroba dari tanah ampas tebu dan karakterisasi enzim dekstranase yang dihasilkannya. Tanah ampas tebu merupakan tanah yang diambil dari bawah tumpukan ampas tebu hasil samping pengolahan pabrik gula. Tahap penelitian yang dilakukan adalah : (1) isolasi mikroba lokal penghasil enzim dektrnase dari tanah ampas tebu ; (2) ekstraksi enzim dekstranase dari isolat mikroba lokal yang telah diperoleh dengan cara sentrifugasi dan presipitasi; (3) Karakterisasi enzim dekstranase (penentuan suhu dan pH optimum, pengukuran V_{maks} dan K_m)(4) Pengukuran kandungan protein menggunakan Bradford; (5) Pemisahan jenis enzim dekstranase menggunakan *native page* dengan zimografi sebagai pembanding.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa isolat mikroba tanah ampas tebu (TAT) menghasilkan enzim dekstranase. Adanya enzim dekstranase ditandai dengan terbentuknya zona “Halo” yang diperoleh dengan menumbuhkan bakteri pada media *blue dextran*. Penambahan presipitan menggunakan etanol terhadap enzim dekstranase TAT dengan perbandingan (1:1) (v/v) menghasilkan aktivitas tertinggi yaitu sebesar 14,08 UD/jam/ml. Untuk menentukan suhu dan pH optimum aktivitas enzim dekstranase, dilakukan pengukuran aktivitas menggunakan metode *blue dextran* sebagai substrat spesifiknya. Aktivitas terbesar yaitu pada suhu 30°C dan pH 7 yaitu sebesar 11,04 UD/jam/ml dekstranase.

Untuk mengetahui kinetika enzim dekstranase TAT dilakukan uji aktivitas dekstranase yang direaksikan dengan substrat dekstran T2000 pada konsentrasi yang berbeda yaitu mulai 0,05 μM - 0,5 μM interval 0,05 μM . Aktivitas enzim dekstranase naik sampai konsentrasi substrat 0,15 μM yaitu 1,1537 UD/jam/ml konstan sampai konsentrasi substrat 0,2 μM . Kemudian naik lagi hingga pada konsentrasi 0,5 μM . Hasil transformasi ke Grafik Lineweaver-Burk didapatkan nilai K_m sebesar 0,6272 μM dan V_{maks} sebesar 0,4548 μM /jam. Semakin kecil nilai K_m suatu enzim, maka semakin tinggi afinitasnya terhadap substrat. Sehingga semakin rendah konsentrasi substrat yang diperlukan untuk mencapai kecepatan reaksi maksimum.

Berdasarkan hasil analisis dengan *native page* (N-PAGE) terdapat lebih dari 4 pita- pita protein yang tampak pada gel poliakrilamid 10%. Kemudian pita- pita protein tersebut dikelompokkan menjadi 4 fraksi yang memiliki aktivitas menghidrolisis *blue dextran* setelah dibandingkan dengan zimogram.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, inayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Isolasi Mikroba dari Tanah Ampas Tebu dan Karakterisasi Enzim Dekstranase yang dihasilkannya*. Skripsi ini ditulis guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Skripsi ini mengkaji tentang produksi enzim dekstranase dari isolat mikroba tanah ampas tebu dan diteliti karakteristiknya sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya dalam industri enzim khususnya bidang kesehatan.

Dalam penulisan skripsi ini tidak dapat berhasil tanpa arahan, bimbingan, serta saran kritikan dari pihak-pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Rasa syukur yang tak terhingga kepada Allah SWT, atas rahmat dan izin-Nya, saya dapat menyusun skripsi ini, *Alhamdulillahirabbil'alamiin*.
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D sebagai Dekan Farmasi UNEJ
3. Dr. Ir. Miswar, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan kepercayaan atas pelaksanaan penelitian ini, mengarahkan dan memberikan koreksi dalam penyusunan skripsi ini. Semoga kebaikan dan Ilmu yang bapak berikan dapat berguna dalam hidup saya;
4. Nuri, S.Si., Apt., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan koreksi dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas semua kebaikan bapak;
5. Dr. Ir. Jayus dan Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si., selaku dosen penguji atas segala masukan membangun yang diberikan;

6. Ibuku Sudartik dan Ayahku Supadi sayang selalu memberikan kasih sayang dengan tulus, nasihat, teguran, peringatan, motivasi, semangat, doa, dan pengorbanannya selama ini;
7. Semua guru-guru saya, semoga ilmu yang telah diberikan bermanfaat di dunia dan akhirat.
8. Keluarga dan para kerabat yang memberikan doa, motivasi, serta semangat dalam penyelesaian skripsi ini;
9. Geng Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman FAPERTA UNEJ (Rizka, Nova, Dadang, Yudha, Vita, Lita, serta teman-teman FAPERTA Jurusan Agronomi) atas bantuan, kerjasama, dan dukungannya selama ini. KEEP FIGHTING!!!!!!!!!!!!;
10. Seluruh karyawan dan teknisi laboratorium di Jurusan Farmasi, FAPERTA jurusan agronomi, dan MIPA Biologi yang telah memberikan bantuan serta kerja sama yang baik selama pelaksanaan penelitian;
11. Sahabat dan teman-teman Farmasi 2006 (Dhika, Titin, Nufus, Yuli, Rizki) atas kebersamaan, persahabatan, perhatian dan dukungan yang kalian berikan;
12. Nunung, Desi, Ika, dan Fatma serta semua teman-teman kost-an Kalimantan 6, Kalian semua seperti keluargaku, serta;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 28 Oktober 2011

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTTO | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN | v |
| HALAMAN PENGESAHAN | vi |
| RINGKASAN | vii |
| PRAKATA | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Tanah Ampas Tebu | 5 |
| 2.2 Dekstran | 6 |

| | |
|--|----|
| 2.3 Dekstranase dan Beberapa Aplikasinya | 8 |
| 2.4 Media Tumbuh | 10 |
| 2.5 Mikroorganism Penghasil Enzim Dekstranase | 11 |
| 2.6 Penentuan Aktivitas Enzim Dekstranase | 17 |
| 2.7 Elektroforesis Gel Poliakrilamid (PAGE) | 17 |
| 2.8 Zimografi | 18 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | 20 |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian | 20 |
| 3.2 Rancangan Penelitian | 20 |
| 3.3 Alat dan Bahan Penelitian | 21 |
| 3.4 Prosedur Penelitian | 22 |
| 3.4.1 Isolasi Mikroba Lokal dari Tanah Ampas Tebu | 23 |
| 3.4.2 Pemurnian Mikroba Penghasil Dekstranase | 23 |
| 3.4.3 Ekstrasi Dekstranase dari Isolat Mikroba Lokal | 24 |
| 3.4.4 Penentuan Presipitan | 25 |
| 3.4.5 Karakterisasi Enzim Dekstranase..... | 25 |
| 3.4.6 Pengukuran Konsentrasi Protein | 28 |
| 3.4.7 Pemisahan dekstranase TAT dengan N-PAGE dan Zimografi ... | 28 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 31 |
| 4.1 Isolasi Mikroba Lokal Penghasil Dekstranase dari Tanah Ampas Tebu | 31 |
| 4.2 Ekstraksi Dekstranase dari Isolat Bakteri Lokal | 32 |
| 4.3 Karakteristik Enzim Dekstranase | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.1 Penentuan Suhu dan pH Optimum | 34 |
| 4.3.2 Kinetika Enzim | 35 |
| 4.3.3 Pemisahan dekstranase TAT dengan N-PAGE dan Zimografi | 37 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 38 |
| DAFTAR PUSTAKA | 39 |
| LAMPIRAN | 43 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Komposisi Ampas Tebu | 6 |
| 2.2 Karakteristik Enzim Penghidrolisis Dekstran dari Bakteri | 12 |
| 2.3 Karakteristik Enzim Penghidrolisis Dekstran dari dekstranase (EC3.2.1.11)/ <i>Mold</i> | 13 |
| 2.4 Karakteristik Enzim Penghidrolisis Dekstran dari dekstranase (EC3.2.1.11)/ <i>Yeast</i> | 14 |
| 2.5 Karakteristik Enzim Penghidrolisis Dekstran dari Mikroba Lain | 15 |
| 3.1 Konsentrasi Kurva Standar Glukosa ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) | 27 |
| 4.1 Aktivitas Dekstranase pada Suhu dan pH yang Berbeda | 34 |
| 4.2 Mikroba Penghasil Dekstranase dengan pH dan Suhu Optimum mirip dekstranase TAT | 35 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Tanah Ampas Tebu | 6 |
| 2.2 Struktur dan Fragmen Dekstran | 7 |
| 3.1 Skema Pengeringan <i>Akrilamide Gel</i> dengan <i>Gel Drying Kit</i> | 29 |
| 3.2 Transfer Dekstranase dari Gel N-PAGE-BD secara <i>Blotting</i> | 30 |
| 4.1 Hidrolisis <i>Blue Dextran</i> oleh Isolat Mikroba TAT | 31 |
| 4.2 Aktivitas Dekstranase Berdasarkan Lamanya Inkubasi Pembiakan Mikroba . | 32 |
| 4.3 Aktivitas Enzim Kasar Dekstranase dengan Presipitan dan Rasio yang Berbeda | 33 |
| 4.4 Aktivitas Dekstranase pada Suhu dan pH yang Bervariasi | 35 |
| 4.5 Hubungan Konsentrasi Substrat Dekstranase dengan Aktivitas | 36 |
| 4.6 Persamaan <i>Lineweaver Burg</i> Dekstranase | 36 |
| 4.7 Pemisahan Dekstranase TAT dengan N-PAGE dan Zimografi..... | 37 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| A. Komposisi Bahan- bahan dalam Percobaan | 43 |
| B. Pengukuran Kandungan Protein <i>Crude Enzim</i> | 46 |
| C. Kurva Standar Glukosa (DNS) | 47 |
| D. Pengukuran Aktivitas Dekstranase Metode DNS | 48 |
| E. Kinetika Enzim | 51 |
| F. Aktivitas Dekstranase Berdasarkan Lamanya Inkubasi Biakan Mikroba | 53 |
| G. Aktivitas Dekstranase Berdasarkan Jumlah Presipitan | 54 |
| H. Aktivitas Dekstranase pada pH yang Berbeda | 56 |
| I. Aktivitas Dekstranase pada Berbagai Suhu | 59 |
| J. Aktivitas Dekstranase TAT pada suhu dan pH yang Berbeda | 63 |
| K. Dokumentasi | 64 |