



PRODUKSI PROTEASE EKSTRAK KASAR DARI
Aspergillus niger DAN *Rhizopus oryzae* PADA
SUBSTRAT DAUN KEDELAI EDAMAME
(Glycine max (L.) Merrill)

SKRIPSI

Oleh :

SYAFI' MAULIDA
NIM 031810401075

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER

2007



**PRODUKSI PROTEASE EKSTRAK KASAR DARI *Aspergillus niger* DAN
Rhizopus oryzae PADA SUBSTRAT DAUN KEDELAI EDAMAME
(*Glycine max (l.) Merrill*)**

SKRIPSI

**diajukan guna memenuhi tugas akhir dan sebagai persyaratan
penyelesaian program Sarjana Sains Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember**

Oleh :

Syafi' Maulida

NIM. 031810401075

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2007

PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati,
mewakili ungkapan terima kasih yang tiada terhingga,
Skripsi ini aku persembahkan untuk :

Ibu Mas'idah dan Bapak Imam Mahmudi atas do'a, dukungan serta kasih sayang yang tak pernah berhenti mengalir walau setetes,

'Mas ku Zamhari Hasan, yang dengan ikhlas walau tanpa 'kata' telah memberikan do'a dan harapannya untuk perjalanan cita-cita ku,

'Dek Rohan Rosyadi dan 'Dek Salma Neni Wulandari, dengan senyum dan tawa terbaiknya telah menemani hari-hari ku melewati rumitnya perjalanan ini,

"Keluarga Besar di Kediri dan keluarga Ir. Sukriyanto atas semua do'a dan bantuan yang telah diberikan selama masa studi"

Semua Guru dan Dosen ku, yang tanpa lelah telah mengajari dan membuatku tahu

*"Semua baktimu akan ku ukir di dalam hatiku ...
sebagai prasasti trima kasihku 'tuk pengabdianmu....."*

"Indonesia, Ilmu Pengetahuan dan Almamater yang telah dengan bangga mengantarku menjadi manusia yang lebih baik dari hari kemarin.

MOTTO

Iyyaakana'budu wa iyyaakanasta'iin

(Al Qur'an Surat Al Fatihah ayat 3)

“...Sesungguhnya, Allah SWT tidak akan merubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mau berusaha untuk mengubahnya”
(Terjemahan Al Qur'an Surat Ar-Ra'du ayat 11)

Orang Yang Berpikir Tidak Akan Jera Untuk Mendapatkan Manfaat Berpikir, Tidak Putus Asa Karena Satu Keadaan, Dan Tidak Akan Pernah Berhenti Berpikir dan Berusaha. Jangan Putus Asa, Mencoba Itu Memang Lambat, Dan Akan Ada Penghalang Yang Menghadang Cita-Cita Itu,

Maka Jangan Pernah Kalah Olehnya.

(Dr. Aidh Abdulloh Al Qorni)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Syafi' Maulida

Nim : 031810401075

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: “Produksi Protease Ekstrak Kasar dari *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* pada Substrat Daun Kedelai Edamame (*Glycine max (l.) Merill*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Penelitian ini dibiayai oleh Program Hibah Kompetisi (PHK) A2 Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember tahun 2007.

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 saya tidak benar.

Jember, 27 Juni 2007

Yang menyatakan,

Syafi' Maulida

NIM 031810401075

SKRIPSI

PRODUKSI PROTEASE EKSTRAK KASAR DARI *Aspergillus niger* DAN *Rhizopus oryzae* PADA SUBSTRAT DAUN KEDELAI EDAMAME (*Glycine max* (L.) Merrill)

Oleh :

Syafi' Maulida

NIM. 031810401075

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Esti Utarti, S.P., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Sattya Arimurti, S.P.,M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul Produksi Protease Ekstrak Kasar dari *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* pada Substrat Daun Kedelai Edamame (*Glycine max (L.)* Merrill) telah diuji dan disyahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada :

Hari :

Tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Sekretaris,

Esti Utarti, SP.,M.Si
NIP. 132 243 344

Sattya Arimurti, S.P.,M.Si
NIP. 132 240 149

Anggota I,

Anggota II,

Drs. Siswanto, M.Si
NIP. 132 026 350

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP 131 832 331

Mengesahkan
Dekan Fakultas MIPA Universitas Jember,

Ir. Sumadi, M.S
NIP. 130 368 784

RINGKASAN

Produksi Protease Ekstrak Kasar dari *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* pada Substrat Daun Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merrill); Syafi' Maulida, 031810401075, 35 halaman, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Protease merupakan enzim yang dapat memecah ikatan peptida dalam protein menghasilkan peptida-peptida yang lebih sederhana. Kapang dari jenis *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan protease. Produksi protease dari kapang memiliki variasi pemilihan substrat yang luas, sehingga efisiensi produksinya dapat dilakukan dengan memanfaatkan limbah daun kedelai edamame. Pemanfaatan daun kedelai edamame sebagai media produksi protease ini dikarenakan kandungan proteinnya sebesar 20,4%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi protease ekstrak kasar dari *A. niger* dan *R. oryzae* pada substrat daun kedelai edamame (*Glycine max* (L.) Merrill). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember pada Bulan Desember 2006 sampai Bulan April 2007. Produksi protease pada media produksi daun kedelai edamame menggunakan konsentrasi substrat 0,5% sampai 4% untuk *A. niger*, dan untuk *R. oryzae* menggunakan konsentrasi substrat 0,5% sampai 6%. Produksi protease ditentukan berdasarkan analisis aktivitas protease ekstrak kasar.

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa *A. niger* tumbuh baik pada pH medium 4 dengan biomassa ($0,105 \pm 0,007$) mg dan *R. oryzae* pada pH 5 dengan biomassa ($0,120 \pm 0,020$) mg. Kepadatan spora tertinggi didapatkan pada hari kelima untuk *A. niger* ($1,62 \times 10^8 \pm 2,72 \times 10^6$ sel/ml) dan kepadatan spora tertinggi *R. oryzae* didapatkan pada hari keempat ($1,60 \times 10^8 \pm 2,73 \times 10^6$ sel/ml).

Hasil pengujian secara semikuantitatif menunjukkan bahwa *A. niger* dan *R. oryzae* mampu menghasilkan protease ekstraseluler dengan indeks aktivitas proteasenya masing-masing sebesar 1,16 dan 1,02. Produksi protease pada media produksi daun kedelai edamame ditentukan berdasarkan pengukuran aktivitas protease. Aktivitas protease tertinggi sebesar $(31,50 \pm 6,15)$ U/ml dari *A. niger* terjadi pada produksi protease dengan konsentrasi daun kedelai edamame 2,5%, sedangkan pada *R. oryzae* aktivitas protease tertinggi sebesar $(42,50 \pm 2,60)$ U/ml didapatkan dari konsentrasi daun kedelai edamame 4,5%. Produksi protease ekstraseluler oleh *A. niger* pada konsentrasi daun kedelai edamame 2,5%, menunjukkan aktivitas tertinggi sebesar $(37,55 \pm 1,65)$ U/ml pada hari keempat, sedangkan pada *R. oryzae* menunjukkan aktivitas tertinggi sebesar $(53,05 \pm 1,60)$ U/ml yang didapatkan pada hari ketiga.

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Alloh SWT., karena atas limpahan rahmat, taufiq, hidayah dan juga ridlo-NYA skripsi dengan judul “Produksi Protease Ekstrak Kasar dari *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae* pada Substrat Daun Kedelai Edamame (*Glycine max (L.) Merrill*)” ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Alloh SWT selalu melimpahkan sholawat serta salam kepada nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata S1 Sarjana Sains pada jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan serta motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Esti Utarti, S.P., M.Si dan Sattya Arimurti, S.P., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan dan juga nasehat kepada penulis.
2. Drs. Siswanto, M.Si dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku Dosen Penguji atas masukan dan juga saran demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi, Ir. Endang Susetyowati yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian.
4. Hibah PHK A2 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini.
5. Teman seperjuangan di Mikrobiologi yang selalu memberikan dukungannya: Ila, Ira, Linda, Dini dan Fu’ad.
6. Sahabat-sahabat yang tak pernah berhenti memotivasi semangat dan belajarku di Jember, warga Asrama PKPRI 6 Jember dan teman-teman angkatan “*Biodiversity of 2003*” terima kasih atas sepenggal kisah hidup yang manis, pahit dan lucu selama ini, semoga suatu hari kita dipertemukan kembali dalam kesuksesan, Amin.

Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Selain itu, penulis mohon maaf apabila ada pihak yang telah membantu tetapi belum tersebut dalam skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan kemajuan ilmu pengetahuan, Amin.

Jember, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Protease	4
2.2 <i>Aspergillus niger</i>	6
2.3 <i>Rhizopus oryzae</i>	7
2.4 Daun Kedelai Edamame.....	8
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan.....	10

3.3	Prosedur Penelitian	11
3.3.1	Pembuatan Bubuk Daun Kedelai Edamame	11
3.3.2	Pengukuran Total Protein Daun Kedelai Edamame	11
3.3.3	Penentuan Aktivitas Proteolitik Kapang Secara Semikuantitatif pada Media <i>Skim Milk Agar</i> (SMA).....	12
3.3.4	Penentuan pH Optimum Media Berdasarkan Pengukuran Biomassa	12
3.3.5	Pengukuran Kepadatan Spora <i>A. niger</i> dan <i>R. oryzae</i>	13
3.3.6	Produksi Protease	14
 BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Rhizopus oryzae</i> Pada Media PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	17
4.2	Pengukuran Biomassa <i>A.niger</i> dan <i>R.oryzae</i> Pada Berbagai pH Media	18
4.3	Penentuan Aktivitas Proteolitik Kapang Secara Semikuantitatif Pada Media <i>Skim Milk Agar</i> (SMA)	19
4.4	Produksi Protease.....	20
 BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	24
5.2	Saran	24
DAFTAR PUSTAKA		25
LAMPIRAN		30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Mekanisme Katalitik Pemecahan Protein oleh Karboksipeptidase	4
4.1 Hubungan Antara Jumlah Spora <i>A. niger</i> dan <i>R. oryzae</i> (sel/ml) dengan Waktu Perhitungan Spora	17
4.2 Hubungan Antara pH Media dengan Berat Kering (biomassa) Kapang <i>A. niger</i> dan <i>R. oryzae</i>	18
4.3 Aktivitas Protease dari <i>A. niger</i> dan <i>R. oryzae</i> Pada Berbagai Variasi Konsentrasi Substrat	21
4.4 Hubungan Antara Aktivitas Protease dengan Waktu Pemanenan Enzim.	22
Q.1 Zona Bening Isolat <i>A. niger</i> pada Media SMA Umur 48 Jam	35
Q.2 Zona Bening Isolat <i>R. oryzae</i> pada Media SMA Umur 48 Jam	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi Daun Kedelai Edamame	8

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	30
B. Komposisi Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB)	30
C. Komposisi Media <i>Skim Milk Agar</i> (SMA)	30
D. Komposisi Buffer Sitrat pH 2,5 – 6	30
E. Komposisi Basal Mineral Mandel.....	31
F. Komposisi <i>Trace Element Solution</i> (TES)	31
G. Kepadatan Jumlah Spora <i>A. niger</i>	31
H. Kepadatan Jumlah Spora <i>R. oryzae</i>	31
I. Hasil Pengujian Seleksi Semikuantitatif <i>A. niger</i> dan <i>R. oryzae</i> pada Medium <i>Skim Milk Agar</i> (SMA)	32
J. Hasil Pengukuran Berat Kering Miselium Kapang <i>A. niger</i> Pada Media <i>Potato Dextrose</i> (PD) Broth.....	32
K. Hasil Pengukuran Berat Kering Miselium Kapang <i>R. oryzae</i> Pada Media <i>Potato Dextrose</i> (PD) Broth	32
L. Tabulasi Produksi Protease Oleh <i>A. niger</i> pada berbagai konsentrasi substrat (%) daun kedelai edamame selama 96 Jam Produksi.....	32
M. Tabulasi produksi protease oleh <i>R. oryzae</i> pada berbagai konsentrasi substrat (%) daun kedelai edamame selama 96 Jam Produksi	33
N. Tabulasi Produksi Protease oleh <i>A. niger</i> pada Konsentrasi Substrat Daun Kedelai Edamame (2,5%) Dihitung Berdasarkan Waktu Pemanenan.....	33
O. Tabulasi Produksi Protease oleh <i>R. oryzae</i> Pada Konsentrasi Substrat Daun Kedelai Edamame (4,5%) Dihitung Berdasarkan Waktu Pemanenan	34
P. Hasil Perhitungan Total Protein dalam Daun Kedelai Edamame Berdasarkan Uji Kjeldhal.....	34