



**ISOLASI dan KARAKTERISASI  
PHYTASE (E.C. 3.1.3.8) dari *Aspergillus ficuum***

**SKRIPSI**

**Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan Biologi**

**Oleh:  
MARIA ULFA  
NIM: 020210103092**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2006**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Almamater Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
2. Ayahanda Nawi dan Ibunda Sunarti tercinta, berkat Do'a, kasih sayang, pengorbanan dan doronganmu untuk terus maju dan pantang menyerah sehingga ananda dapat menyelesaikan studi, semoga Allah SWT membalas kebaikanmu.
3. Mas Sunarman, yang selalu menghiasi hari-hariku dengan kasih sayang, kesabaran, motivasi dan Do'a sehingga aku dapat menyelesaikan skripsiku ini.
4. Keluarga besar di Lamongan, Pakde, Bude, Paman, Bibi, dan Sepupu-sepupuku terima kasih atas bantuan material dan spiritual yang telah kalian curahkan selama ini.
5. Anak-anak Kost Kalimantan IV No. 74 , yang telah memberi semangat dan dukungan untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Anak-anak asrama H. Ali Mastrip IV No. 99, Yudho, Fatah dan Majid terimakasih atas bantuan kalian selama ini.
7. Sahabat-sahabatku seperjuangan di Laboratorium Biologi Molekuler, terutama Novita, Delli dan Didik semoga Allah SWT senantiasa memberikan kekuatan dan keteguhan dalam mencapai cita-cita kalian.
8. Dosen dan guru-guruku, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan tulus dan penuh kesabaran.

## MOTTO

*Seorang yang patuh kepada Allah dan Berbakti kepada kedua orang tuanya, maka tempatnya di perumahan para iliyun kelas tertinggi.*

*(H.R. Al-Daelami)*

*Kamu akan dapat menjalani hidup dengan kesederhanaan kalau kamu sudah dapat menyatukan sekat yang terpisah dalam bentuk pemahaman dan pemaknaan.*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maria Ulfa

NIM : 020210103092

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: ” Isolasi dan Karakterisasi Phytase (E.C. 3.1.3.8) dari *Aspergillus ficuum*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika 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,

Yang menyatakan,

Nama : Maria Ulfa

NIM : 020210103092

**PENGAJUAN**

Isolasi dan Karakterisasi Phytase (E.C. 3.1.3.8) dari *Aspergillus ficuum*

**SKRIPSI**

Diajukan untuk dipertahankan di depan tim penguji guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana Strata Satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Oleh:

Nama : Maria Ulfa  
NIM : 020210103092  
Tahun/ angkatan : 2002  
Tempat, tanggal lahir : Lamongan, 18 April 1985  
Jurusan/ Program : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi

Disetujui Oleh:

Pembimbing I

Ir. Miswar, M.Si  
MSi  
NIP. 131 880 473

Pembimbing II

Dr. Joko Waluyo,  
NIP. 131 478 930

**PENGESAHAN**

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas  
Jember Pada:

Hari :

Tanggal :

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Jember

Tim penguji:

Ketua

Sekretaris

Dra. Pujiastuti, M. Si.  
NIP.131 660 788

Dr.Joko Waluyo, M. Si.  
NIP. 131 478 930

Anggota I

Anggota II

Ir. Miswar, M. Si.  
NIP. 131 880 473

Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes.  
NIP. 131 660 781

Mengetahui,

Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan  
Universitas Jember

Drs. H. Imam Muchtar, S.H., M.Hum  
NIP. 130 810 936

## KATA PENGANTAR

Syukur Allhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah Swt atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Phytase (E.C.3.1.3.8) dari *Aspergillus ficuum*”. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. Drs. H. Imam Muchtar, S.H., M.Hum selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Drs. Singgih Bektiarso, M.Pd sebagai Ketua Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Jember;
3. Drs. Suratno, M.Si sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
4. Kepala Pusat Penelitian Biologi Molekuler Universitas Jember yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Biologi Molekuler.
5. Ir. Miswar, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I, dan Dr. Joko Waluyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta perhatiannya guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya skripsi ini.

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

## RINGKASAN

**Isolasi dan Karakterisasi Phytase (E.C. 3.1.3.8) dari *Aspergillus ficuum*, Maria Ufa, 020210103092, 2006, 45 hlm.**

Asam fitat (*myo-inositol hexaphosphate*) merupakan bentuk mineral phosphor yang tersimpan dalam tanaman (khususnya pada biji sereal dan legum) dapat mengikat mineral (P, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>), protein dan asam amino sehingga sulit diserap oleh hewan non ruminansia dan manusia. Phytase (*myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase*) mampu menghidrolisis asam fitat menjadi phosphat anorganik dan myo-inositol. Pemanfaatan phytase dalam menurunkan kadar asam fitat dalam bahan makanan dapat meningkatkan daya serap usus terhadap mineral, protein dan asam amino. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dan karakter phytase yang dihasilkan oleh *Aspergillus ficuum* dengan menggunakan media padat, serta untuk mengetahui kemampuan phytase yang dihasilkan dalam menghidrolisis asam fitat yang terdapat pada bahan pangan dan pakan.

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Desember 2005 sampai April 2006 di Laboratorium Pusat Penelitian Biologi Molekuler Universitas Jember, dengan menggunakan analisis deskriptif. Langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi: pembuatan komposisi media padat, isolasi phytase dari *Aspergillus ficuum*, purifikasi dengan menggunakan filtrasi gel dan DEAE-cellulosa, pengukuran aktivitas phytase, pengukuran kandungan protein terlarut, karakterisasi phytase (suhu optimum, pH optimum, Km dan Vmaks) dan uji kemampuan hidrolisis phytase terhadap asam fitat dalam bahan pangan dan pakan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas phytase yang dihasilkan oleh *Aspergillus ficuum* sebesar 222,17 µgPi/jam/mg protein, dengan tingkat kemurnian (*fold*) 63,29 kali. Phytase dari *Aspergillus ficuum* memiliki aktivitas optimum pada suhu 55<sup>0</sup>C dan pH 5,0, dengan nilai Km sebesar 0,468 mM asam fitat dan Vmaks sebesar 0,256 µgPi/jam. Sedangkan untuk aktivitas spesifik phytase dalam menghidrolisis asam fitat yang terdapat dalam tepung kedelai dan



tepung jagung masing-masing sebesar 43,36  $\mu\text{gPi/jam/mg}$  protein dan 12,76  $\mu\text{gPi/jam/mg}$  protein.

Kesimpulan yang didapat dari hasil dan pembahasan adalah phytase *Aspergillus ficuum* memiliki Aktivitas spesifik 222,17  $\mu\text{gPi/jam/mg}$  protein dan memiliki karakteristik pada suhu optimum 55<sup>0</sup>C dan pH optimum 5,0, Km sebesar 0,468 mM dan Vmaks sebesar 0,258  $\mu\text{gPi/jam}$ . Enzim ini mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis asam fitat yang terdapat dalam tepung kedelai dan tepung jagung masing-masing sebesar 43,36  $\mu\text{gPi/jam/mg}$  protein dan 12,76  $\mu\text{gPi/jam/mg}$  protein.

Jurusan Pendidikan MIPA, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Batasan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>3</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Asam Fitat (<i>Phytic acid</i>).....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Sumber Asam Fitat pada Bahan Pangan dan Pakan .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3 Phytase .....</b>	<b>7</b>
<b>2.4 Phytase Asal Fungi .....</b>	<b>8</b>
<b>2.5 Manfaat Phytase .....</b>	<b>9</b>
<b>2.6 Gambaran Umum <i>Aspergillus</i> .....</b>	<b>9</b>
<b>2.7 Klasifikasi <i>Aspergillus ficuum</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>2.8 Aktivitas Phytase <i>Aspergillus ficuum</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>2.9 Purifikasi Phytase .....</b>	<b>11</b>

<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Definisi Operasional Variabel .....</b>	<b>13</b>
3.2.1 Isolasi phytase.....	13
3.2.2 Karakterisasi phytase .....	13
<b>3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>13</b>
3.3.1 Alat.....	13
3.3.2 Bahan .....	14
<b>3.4 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>14</b>
3.4.1 Komposisi media .....	14
3.4.2 Isolasi phytase ekstrak kasar ( <i>crude extract</i> ) .....	15
3.4.2 Purifikasi phytase.....	15
3.4.4 Pengukuran aktivitas phytase .....	15
3.4.5 Pengukuran kandungan protein terlarut .....	16
3.4.6 Karakterisasi phytase .....	16
3.4.6.1 Karakterisasi suhu .....	16
3.4.6.2 Karakterisasi pH.....	16
3.4.6.3 karakterisasi Km dan Vmaks.....	16
3.4.7 Uji kemampuan hidrolisis phytase terhadap asam fitat dalam bahan pangan dan pakan .....	17
<b>3.5 Diagram Prosedur Kerja Penelitian .....</b>	<b>17</b>
<b>BAB 4. HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1 Komposisi Media Padat (<i>Solid State Fermentation</i>) .....</b>	<b>20</b>
<b>4.2 Purifikasi phytase .....</b>	<b>20</b>
<b>4.3 Karakterisasi Phytase.....</b>	<b>21</b>
<b>4.4 Hasil Uji Kemampuan Phytase dalam Menghidrolisis         Asam Fitat pada Bahan Pangan dan Pakan .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 5. PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
<b>5.1 Komposisi Media Padat (<i>Solid State Fermentation</i>).....</b>	<b>25</b>
<b>5.2 Purifikasi Phytase.....</b>	<b>25</b>
<b>5.3 Karakterisasi Phytase.....</b>	<b>27</b>

<b>5.4 Uji Kemampuan Phytase dalam Menghidrolisis</b>	
<b>Asam Fitat pada Bahan Pangan dan Pakan.....</b>	<b>28</b>
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>30</b>
<b>6.1 KESIMPULAN.....</b>	<b>30</b>
<b>6.2 SARAN.....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Komposisi media tepung jagung dan tepung kedelai.....	14
4.1 Aktivitas spesifik phytase hasil purifikasi (pemurnian).....	20
4.2 Hasil uji kemampuan phytase dalam menghidrolisis asam fitat pada bahan pangan .....	23

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Gambar struktur umum asam fitat yang mengikat 6 ion fosfat...	5
2.2 Gambar prinsip kerja filtrasi gel dalam purifikasi .....	12
2.3 Prinsip kerja DEAE-cellulosa.....	12
4.1 Grafik pengaruh suhu terhadap aktivitas phytase <i>Aspergillus     ficuum</i> .....	21
4.2 Grafik pengaruh pH terhadap aktivitas phytase <i>Aspergillus ficuum</i> ..	22
4.3 Grafik kurva Lineweaver-Burk.....	23

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Matrik penelitian.....	35
B. Foto penelitian .....	36
C. Hasil pengukuran kandungan Pi .....	39
D. Hasil pengukuran kandungan Protein .....	40
E. Hasil aktivitas pytase .....	41
F. Hasil karakterisasi.....	42
G. Hasil uji kemampuan hidrolisis phytase terhadap asam fitat dalam bahan pangan dan pakan .....	45