

**KARAKTERISASI DAN PRESIPITASI β GLUKOSIDASE BAKTERI
Suttonella indologenes DARI SALURAN PENCERNAAN *Attacus atlas* L.**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Disusun Oleh :

Tri Wulan Sukma Oktavia

M0408088

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEBELAS MARET
SURAKARTA
2013**

commit to user

PENGESAHAN

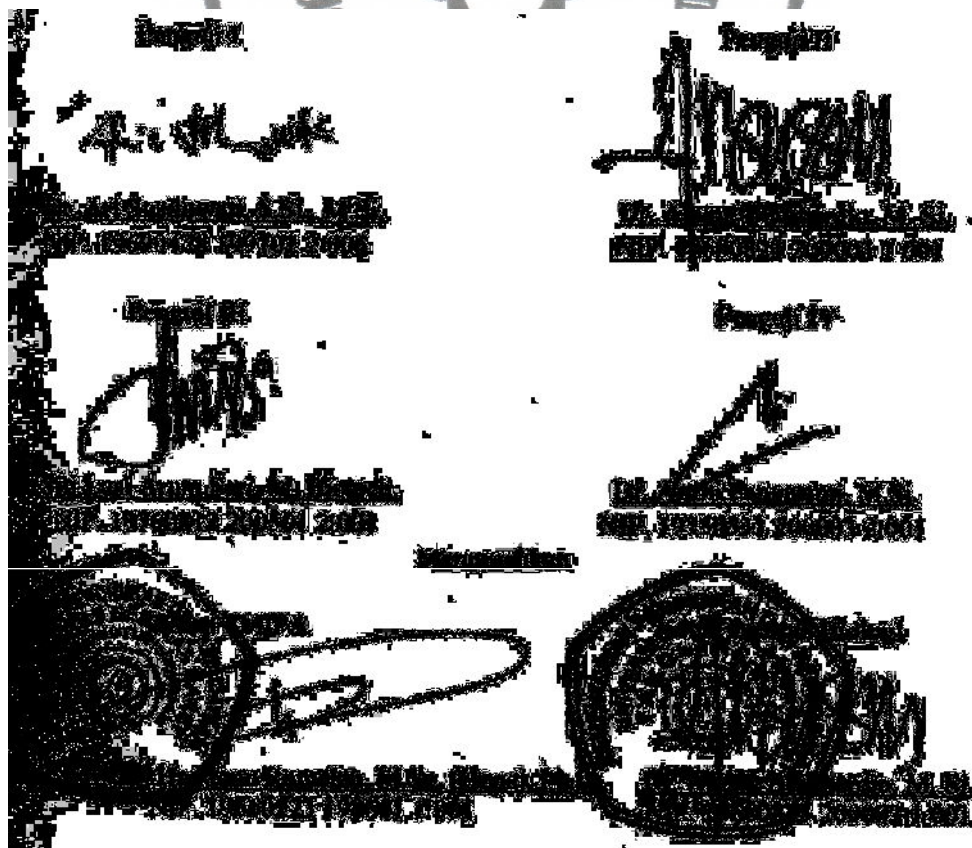
SKRIPSI

**KARAKTERISASI DAN PRESIPITASI β GLUKOSIDASE BAKTERI
Suttonella indologenes DARI SALURAN PENCERNAAN *Attacus atlas* L.**

Oleh:
Tri Wulan Sukma O.
NIM. M0408088

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 7 Juni 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, Juni 2013



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, 7 Juni 2013

Tri Wulan Sukma O.
NIM. M0408088

**KARAKTERISASI DAN PRESIPITASI β GLUKOSIDASE BAKTERI
Suttonella indologenes DARI SALURAN PENCERNAAN *Attacus atlas* L.**

Tri Wulan Sukma O.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret Surakarta

ABSTRAK

Selulosa merupakan salah satu jenis polisakarida yang banyak ditemukan di alam. Polisakarida ini menyusun bagian terbesar dinding sel tumbuhan. Hidrolisis selulosa menghasilkan glukosa yang digunakan sebagai pemanis. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimia atau secara enzimatik dengan selulase. Enzim selulase sendiri terdiri atas tiga macam enzim yang bekerja secara sinergis yaitu Endoglukanase, Eksoglukanase dan β -Glukosidase. β -Glukosidase merupakan unit enzim yang penting untuk menghasilkan produk glukosa dari pemecahan selobiosa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan pH, suhu dan konsentrasi substrat selobiosa yang optimum untuk aktivitas enzim β -Glukosidase serta menentukan tingkat kejenuhan amonium sulfat yang dapat mengendapkan protein dengan aktivitas β -Glukosidase yang tinggi.

Bakteri yang digunakan adalah bakteri selulolitik *Suttonella indologenes* strain um3-m/12-2009 yang berasal dari bakteri saluran pencernaan *Attacus atlas* L. Presipitasi protein dilakukan dengan menggunakan amonium sulfat secara bertingkat dengan kejenuhan 0-50%, 50-70%, dan 70-90%. Karakterisasi β -Glukosidase dilakukan dengan melihat pengaruh pH, suhu dan konsentrasi substrat selobiosa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa β -Glukosidase memiliki aktivitas optimal pada pH 7, suhu 70°C serta konsentrasi substrat selobiosa yang optimum 15 mM. Presipitasi β -Glukosidase optimum pada tingkat kejenuhan 70% dengan aktivitas spesifik sebesar 3,42 U/mg protein dibanding ekstrak kasarnya yaitu 2,39 U/mg protein.

Kata kunci : Selulase, β -Glukosidase, Karakterisasi, Presipitasi

**CHARACTERIZATION AND PRECIPITATION OF β GLUCOSIDASE
Suttonela indologenes BACTERIA FROM THE *Attacus atlas* L.
GASTROINTESTINAL TRACT**

Tri Wulan Sukma O.

Biology Departement, Sciences and Mathematics Faculty,
Sebelas Maret University, Surakarta

ABSTRACT

Cellulose is a polysaccharide found in nature. It compose the largest part of plant cell walls. Cellulose hydrolysis produces glucose. Hydrolysis process can be done chemically or enzymatically by cellulases. Cellulase consists of three types of enzymes that work synergistically, i.e. Endoglukanase, Eksoglukanase and β -Glucosidase. β -Glucosidase is an important enzyme to produce glucose from cellobiose. The purpose of this study was to determine the optimum pH, temperature and substrate concentration cellobiose for β -Glucosidase activity and determine the degree of ammonium sulfat saturation to precipitate β -Glucosidase.

The bacteria used in this research was *Suttonela indologenes* um3-m/12-2009 isolated from the *Attacus atlas* L. gastrointestinal tract. Protein precipitation performed by ammonium sulfate saturation in stages at 0-50%, 50-70% and 70-90%. Characterization of β -Glucosidase was done by measuring activity at the pH, temperature and cellobiose substrate concentrations.

The results showed that β -Glucosidase has optimal activity at pH 7, temperature 70°C and the optimum substrate concentration 15 mM cellobiose. β -Glucosidase has optimum precipitated at 70% saturation level with a specific activity of 3,42 U/mg protein compared to the crude extract at 2,39 U/mg protein.

Keywords: Cellulase, β -Glucosidase, Characterization, Precipitation

MOTTO

“Sesungguhnya orang-orang yang mengatakan: "Tuhan kami ialah Allah" kemudian mereka meneguhkan pendirian mereka, maka malaikat akan turun kepada mereka dengan mengatakan: "Janganlah kamu takut dan janganlah merasa sedih, dan gembirakanlah mereka dengan jannah yang telah dijanjikan Allah kepadamu.” (Fushilat:30)

Teruslah berbuat manfaat tanpa harus menonjolkan diri.

Ya Allah...perbaikilah agamaku yang ia merupakan benteng segala urusanku. Perbaikilah duniaku yang disana ada kehidupanku. Jadikanlah kehidupan ini sebagai tambahan buatku dalam segala kebaikan. Dan jadikan kematian sebagai peristirahatanku dari segala kejahatan. (HR Muslim)

Jiwa kita menjadi lemah karena kitalah yang menyanjungkan lagu-lagu kelemahan, hati kita menjadi sakit dan luka karena kitalah yang menyakiti dan melukainya. Maka bangkitlah.

PERSEMBAHAN



Skripsi ini ku persembahkan untuk :

Rabb semesta alam, cukuplah
Engkau sebagai tempat ku
bergantung dan berserah diri

Rosululloh, idola sepanjang masa,
uswatun khasanah

Kedua orang terkasih : Ibu, Ibu, Ibu
dan Bapak sebagai tanda cinta kasih
ku

Orang yang berjasa untuk ku,
pembimbing, penelaah dan dosen di
Biologi FMIPA UNS

Kakak-kakak ku, sebagai tanda
sayang dan hormat ku

Keluarga kedua ku, teman-teman
Cristina Muslimah, keluarga
"Pelangi Ukhuwah" dan Keluarga
SKI

Seluruh saudara dan sahabat ku, Bio
08 dan Almamater ku tercinta

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur senantiasa kita panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya yang tak terhingga. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW uswatun khasanah, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul: “Karakterisasi dan Presipitasi β Glukosidase Bakteri *Suttonella indologenes* dari Saluran Pencernaan *Attacus atlas* L.”. Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya kepada :

Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons), Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan ijin penelitian untuk keperluan skripsi.

Dr. Agung Budihardjo, M. Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta serta sebagai penelaah II yang telah memberikan ijin, bimbingan dan masukan kepada penulis.

Siti Lusi Arumsari, M. Biotech. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan serta motivasi selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.

Dr. Artini Pangastuti, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan petunjuknya selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.

Dr. Ari Susilowati, S.Si., M.Si. selaku dosen penelaah I yang telah memberikan bimbingan dan masukan kepada penulis.

Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan masukan, motivasi dan dukungan kepada penulis.

Kepala dan staf Laboratorium Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah mengizinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian di laboratorium.

Keluarga Biologi 2008 untuk kebersamaan, semangat dan inspirasi yang begitu luar biasa.

Sahabat tercinta (Asti, Denis, Yanun, Nafsa, Rahma) atas doa, kebersamaan, semangat, dan ukhuwah yang tidak akan pernah berakhir.

Keluarga Cristina Muslimah (mbak Lulu, mbak Octa, Ulie, Tiara, Elyas, Tina, Nisa, Lilis, Nur, Alita, Yaya) atas doa, semangat, dan kebersamaan kalian yang tidak akan terlupakan.

Keluarga tercinta (Ibu, Bapak, mas Indra, mbak Ayu) atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang tidak akan pernah berakhir.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya.

Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua dan pihak-pihak yang terkait.

Surakarta, Juni 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. LANDASAN TEORI	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Selulosa	4
2. Hidrolisis Selulosa	5
3. Selulase	6
4. β -Glukosidase	8
5. Aktivitas Enzim	8
6. Presipitasi Protein	14
B. Kerangka Pemikiran	16
BAB III. METODE PENELITIAN	18
A. Tempat dan Waktu Penelitian	18

B. Bahan	18
C. Alat	19
D. Pelaksanaan Penelitian.....	19
1. Produksi Selulase	19
2. Karakterisasi β -Glukosidase	20
3. Pemurnian Selulase	20
E. Metode Analisis	21
1. Pengukuran Aktivitas β -Glukosidase	21
2. Pengukuran Kadar Glukosa dengan GOD	23
3. Pengukuran Kadar Protein	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Produksi Selulase	25
B. Karakterisasi β -Glukosidase	25
1. Optimasi pH	26
2. Optimasi Suhu	28
3. Optimasi Konsentrasi Substrat	32
C. Presipitasi Selulase	34
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44
RIWAYAT HIDUP PENULIS	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jumlah Ammonium sulfat yang ditambahkan dalam proses presipitasi protein secara bertingkat	21
Tabel 2. Aktivitas β -Glukosidase hasil presipitasi protein dengan ammonium sulfat	34



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Selulosa	5
Gambar 2. Mekanisme hidrolisis selulosa	6
Gambar 3. Kerangka Pemikiran	17
Gambar 4. Aktivitas β -Glukosidase pada berbagai variasi pH dengan suhu 50°C dan substrat selobiosa 15 mM serta inkubasi selama 30 menit	26
Gambar 5. Aktivitas β -Glukosidase pada berbagai variasi suhu dengan pH 7, substrat selobiosa 15 mM dan inkubasi selama 30 menit	29
Gambar 6. Aktivitas β -Glukosidase pada berbagai konsentrasi substrat selobiosa dengan suhu 70°C, pH 7 dan inkubasi selama 30 menit	32



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Pengukuran Aktivitas pada Optimasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat	43
Lampiran 2. Hasil Presipitasi β -Glukosidase	44
Lampiran 3. Kurva Standar BSA untuk Pengukuran Kadar Protein	45

