

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR  
DARI BAKTERI LUMPUR RAWA SAKATIGA INDRALAYA,  
KABUPATEN OGAN ILIR, SUMATERA SELATAN**

**Oleh  
ARIEF BUDIMAN**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA  
2008**

551.307 of  
Bud  
8-070206  
2008

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR  
DARI BAKTERI LUMPUR RAWA SAKATIGA INDRALAYA  
KABUPATEN OGAN ILIR, SUMATERA SELATAN**



Oleh  
**ARIEF BUDIMAN**

- 18146  
- 18191



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA  
2008**

## SUMMARY

**ARIEF BUDIMAN.** Isolation, Characteristic of Crude Extract Protease Enzyme from Mud Swamp at Sakatiga Indralaya South Sumatera (Supervised by **RINTO** and **ADE DWI SASANTI**).

The objective of this research was to isolation bacteria that produced protease and know characteristics of protease enzyme from swamp mud bacteria at Sakatiga Indralaya, Ogan Ilir, South Sumatra. The research was conducted from July until August 2008 in Technology of Fishery Product Laboratory, Aquaculture Laboratory, Agricultural Faculty and Microbiology Laboratory Mathematics and Natural Sciences Faculty, Sriwijaya University.

The research used laboratory method that share of some in stage begin of screening microbial that production protease from microbial or bacteria of swamp mud at Sakatiga Indralaya until production bacteria that has protease.

The result showed that isolate bacterial from swamp mud has produced 3 isolate bacterial with has that contain protease that are T<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>S<sub>1</sub> and T<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. The optimum activity in production of protease happen at 48<sup>th</sup> hour. Which has the activity value protease at isolate T<sub>1</sub>S<sub>1</sub> has 0,318 IU/ml, isolate T<sub>3</sub>S<sub>1</sub> has 0,391 IU/ml and isolate T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 0,385 IU/ml. The optimum pH at isolate T<sub>1</sub>S<sub>1</sub> was 7.5, while to T<sub>3</sub>S<sub>1</sub> and T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> was 8. The optimum temperature at isolate T<sub>1</sub>S<sub>1</sub> was 50 °C, isolate T<sub>3</sub>S<sub>1</sub> was 40 °C and isolate T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> was 50 °C. Metal ions FeCl<sub>2</sub> (1 mm) increased enzyme activity at isolate T<sub>1</sub>S<sub>1</sub> and T<sub>3</sub>S<sub>1</sub>. KCl (1 mm) gave an inhibitory effect. Metal ions at isolate T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> had no effects to the enzyme.

## RINGKASAN

**ARIEF BUDIMAN.** Isolasi dan Karakteristik Protease Ekstrak Kasar dari Bakteri Lumpur Rawa Sakatiga Indralaya Ogan Ilir Sumatera Selatan (Dibimbing oleh **RINTO** dan **ADE DWI SASANTI**).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil protease dan mengetahui karakteristik protease ekstrak kasar dari bakteri lumpur rawa Sakatiga Indralaya Ogan Ilir Sumatera Selatan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2008 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penelitian dilakukan dengan metode laboratorium yang terdiri dari beberapa tahap, mulai dari skrining mikroorganisme penghasil protease dari mikroorganisme atau bakteri lumpur rawa Sakatiga Indralaya sampai menghasilkan bakteri penghasil protease yang mempunyai aktifitas terbaik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi bakteri dari lumpur rawa Sakatiga, menghasilkan 3 isolat bakteri yang mengandung protease yaitu  $T_1S_1$ ,  $T_3S_1$  dan  $T_3S_2$ . Produksi optimum aktivitas protease terjadi pada jam ke-48. Nilai aktivitas protease pada isolat  $T_1S_1$  adalah 0,318 IU/ml, isolat  $T_3S_1$  adalah 0,391 IU/ml dan untuk isolat  $T_3S_2$  adalah 0,385 IU/ml. Karakteristik protease pada isolat  $T_1S_1$  aktivitas protease optimum terjadi pada pH 7.5, sedangkan untuk  $T_3S_1$  dan  $T_3S_2$  terjadi pada pH 8. Suhu inkubasi isolat  $T_1S_1$  adalah 50 °C, isolat  $T_3S_1$  pada 40 °C dan

isolat T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 50 °C. Sedangkan ion logam yang menjadi aktivator pada isolat T<sub>1</sub>S<sub>1</sub> dan T<sub>3</sub>S<sub>1</sub> adalah logam FeCl<sub>2</sub> (1 mM) dan yang menjadi inhibitor kuat adalah logam KCl (1 mM). Sedangkan untuk isolat T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> tidak terdapat ion logam yang menjadi aktivator yang mempengaruhi aktivitas protease. Sehingga penambahan ion logam pada isolat T<sub>3</sub>S<sub>2</sub> bertindak sebagai inhibitor.

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR  
DARI BAKTERI LUMPUR RAWA SAKATIGA INDRALAYA,  
KABUPATEN OGAN ILIR, SUMATERA SELATAN**

**Oleh**

**ARIEF BUDIMAN**

**SKRIPSI**

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan

**pada**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA  
2008**

Skripsi

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR  
DARI BAKTERI LUMPUR RAWA SAKATIGA INDRALAYA,  
KABUPATEN OGAN ILIR, SUMATERA SELATAN**

Oleh

**ARIEF BUDIMAN  
05043110009**

telah diterima sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan

Pembimbing I,



Rinto, S.Pi., M.P

Pembimbing II,

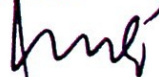


Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si

Indralaya, Desember 2008

Fakultas Pertanian  
Universitas Sriwijaya





Dekan



Prof. Dr. H. Imron Zahri, M.S.  
NIP. 130 516 530

Skripsi berjudul “Isolasi dan Karakteristik Ekstrak Kasar Protease dari Bakteri Lumpur Rawa Sakatiga Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan” oleh Arief Budiman telah dipertahankan di depan komisi penguji pada tanggal 24 Desember 2008.

Komisi Penguji

- |                                   |            |   |
|-----------------------------------|------------|---|
| 1. Rinto, S.Pi., M.P.             | Ketua      | (  )    |
| 2. Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si.  | Sekretaris | (  )    |
| 3. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si. | Anggota    | (  )   |
| 4. Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si. | Anggota    | (  ) |

Mengesahkan,

Ketua Program Studi  
Teknologi Hasil Perikanan

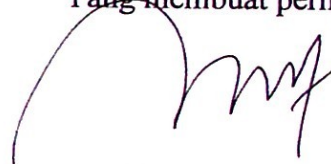
  
Herpandi, S.Pi. M.Si.  
NIP. 132 297 286



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam skripsi ini, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya adalah hasil penelitian atau investigasi saya sendiri dengan pembimbing dan belum pernah atau tidak sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan lain atau gelar kesarjanaan di tempat lain.

Indralaya, Desember 2008  
Yang membuat pernyataan



Arief Budiman

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bukittinggi pada tanggal 1 Februari 1986, merupakan anak pertama dari empat bersaudara dari pasangan Emdasmi dan Zulhasni. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan pada tahun 1998 di SDN 29 Tengah Kamang Hilir, Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama pada tahun 2001 di SLTPN 1 Tilatang Kamang dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Tilatang Kamang Kab. Agam Sumatera Barat. Pada bulan Agustus 2004 diterima sebagai mahasiswa Universitas Sriwijaya, Fakultas Pertanian Program Studi Teknologi Hasil Perikanan melalui jalur SPMB. Sejak itu menjadi mahasiswa di Universitas Sriwijaya.

Penulis telah melaksanakan praktik lapang yang berjudul Penanganan Ikan di Pelabuhan Perikanan Samudera Bungus (PPSB) Padang Sumatera Barat pada tahun 2007 yang dibimbing oleh Bapak Rinto, S.Pi., M.P. dan Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si. Penulis juga telah melaksanakan magang di Pelabuhan Perikanan Samudera Bungus (PPSB) Padang Sumatera Barat pada tahun 2007. Penulis pernah dipercaya sebagai asisten mata kuliah Manajemen Industri Hasil Perikanan pada tahun 2007.

Kegiatan non formal yang pernah diikuti penulis adalah Seminar Regional Perikanan IMASILKAN wilayah Sumatera Selatan pada tahun 2005. Menjabat sebagai Staf Dept. Sosial dan Politik Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Pertanian periode 2005/2006. Penulis pernah mengikuti seminar Strategi Menembus Pasar Kerja tahun 2006, Pelatihan Dasar Organisasi dan Pelatihan ESQ pada tahun 2007 dan seminar *Smart Entrepreneur Talk Show* pada tahun 2008.

## KATA PENGANTAR

Syukur *Alhamdulillah* penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan limpahan nikmat, rahmad dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul Isolasi dan Karakteristik Protease Ekstrak Kasar dari Bakteri Lumpur Rawa Sakatiga Indralaya. Shalawat dan salam selalu terkirim untuk Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan semua yang berjuang di jalan beliau.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Rinto, S.Pi., M.P dan Ibu Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmu hingga terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si., dan Ibu Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.
3. Bapak Ace Baehaki, S.Pi., M.Si. atas saran, masukan dan arahan selama melakukan penelitian.
4. Bapak Budi Purwanto, S.Pi., selaku dosen Pembimbing Akademik (PA) penulis Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi., Ibu Dr. Ir. Elmeizy Arafah, M.S., Ibu Susi Lestari, S.Pi., dan Bapak Agus Supriadi, S.Pt., M.Si. atas

ilmu, bantuan, doa, dukungan, dan perhatian selama ini. Mbak Ani, dan Kak Chan atas bantuannya kepada penulis.

5. Keluarga besar, Ayah dan Ibunda tercinta yang selalu mendo'akan memberikan segenap cinta dengan seluruh kasih sayang, perhatian dan semangat yang tidak terhingga.
6. Teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan semangat dan bantuan.

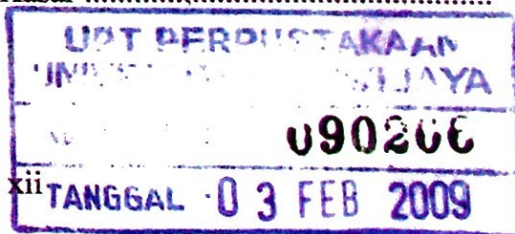
Akhirnya penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat memenuhi harapan kita semua. Amin.

Indralaya, Desember 2008

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan .....	2
C. Hipotesis .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
A. Enzim Protease .....	3
B. Bakteri .....	6
C. Lumpur .....	10
III. PELAKSANAAN PENELITIAN .....	11
A. Tempat dan Waktu .....	11
B. Alat dan Bahan .....	11
C. Metode Penelitian .....	12
D. Cara Kerja .....	12
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	17
A. Isolasi Mikroba Rawa .....	17
B. Uji Proteolitik .....	19
C. Pengukuran Aktivitas Protease .....	22
D. Karakterisasi Produksi Ekstrak Kasar .....	24



VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	32
A. Kesimpulan .....	32
B. Saran .....	33
DAFTAR PUSTAKA .....	34
LAMPIRAN .....	37

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Prosedur pengukuran aktivitas protease .....	14
2. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh .....	17
3. Hasil uji indeks proteolitik .....	20

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Grafik yang menunjukkan fase-fase pembiakan bakteri .....	7
2. Bentuk pertumbuhan koloni dari isolat bakteri .....	18
3. Zona bening yang terbentuk dari uji proteolitik .....	21
4. Aktivitas protease optimum isolat bakteri T <sub>1</sub> S <sub>1</sub> .....	23
5. Aktivitas protease optimum isolat bakteri T <sub>3</sub> S <sub>1</sub> .....	23
6. Aktivitas protease optimum isolat bakteri T <sub>3</sub> S <sub>2</sub> .....	23
7. Pengaruh pH terhadap aktivitas protease .....	26
8. Pengaruh suhu terhadap aktivitas protease .....	27
9. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas protease pada isolat bakteri T <sub>1</sub> S <sub>1</sub> .....	30
10. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas protease pada isolat bakteri T <sub>3</sub> S <sub>1</sub> .....	30
11. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas protease pada isolat bakteri T <sub>3</sub> S <sub>2</sub> .....	30





## DAFTAR LAMPIRAN

1. Lokasi pengambilan isolat bakteri .....	37
2. Perhitungan indeks proteolitik zona bening .....	38
3. Perhitungan aktivitas enzim protease .....	39
4. Perhitungan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim protease .....	48
5. Perhitungan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim protease .....	54
6. Perhitungan pengaruh ion logam $\text{FeCl}_2$ , $\text{KCl}$ , $\text{MnCl}_2$ , dan $\text{ZnCl}_2$ dengan konsentrasi 1 mM terhadap aktivitas enzim protease .....	60
7. Perhitungan pengaruh ion logam $\text{FeCl}_2$ , $\text{KCl}$ , $\text{MnCl}_2$ , dan $\text{ZnCl}_2$ dengan konsentrasi 5 mM terhadap aktivitas enzim protease .....	64

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Enzim banyak digunakan dalam pengembangan industri, diantaranya adalah pengolahan pangan, penyamakan kulit, deterjen, dan pengolahan limbah cair. Hingga saat ini sebagian besar enzim yang digunakan dalam industri di Indonesia masih impor. Keadaan ini tentunya sangat merugikan jika ditinjau secara ekonomi, padahal Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber alam hayati, terutama mikroba penghasil enzim, termasuk protease (Naiola dan Widhyastuti, 2007).

Produksi enzim dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme. Enzim yang diproduksi dengan mikroorganisme memiliki beberapa keuntungan, diantaranya yaitu biaya produksi relatif murah, dapat diproduksi dalam waktu singkat sesuai dengan permintaan, mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi serta mudah dikontrol (Fogarty dan Weshoff, 1983). Enzim yang terkandung dalam mikroorganisme dapat diperoleh dengan isolasi, yaitu memisahkan sel secara sentrifugasi dan selanjutnya dilakukan pemurnian dengan cara pengendapan, gel filtrasi, dan kromatografi penukar ion (Smith, 1990).

Adanya mikroorganisme yang unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim. Oleh karena itu, pemanfaatan mikroorganisme penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia. Wilayah rawa yang luas di Sumatera Selatan memberikan peluang yang besar untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim.

Salah satunya adalah rawa di Sakatiga Indralaya yang merupakan daerah rawa yang dekat dengan pemukiman penduduk. Sehingga memungkinkan banyaknya terdapat mikroorganisme, terutama bakteri penghasil protease.

## **B. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil protease dan mengetahui karakteristik enzim protease dari bakteri lumpur rawa Sakatiga Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan.

## **C. Hipotesis**

Diduga pada lumpur rawa Sakatiga Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan terdapat bakteri penghasil protease.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alcarno I.E. 2001. *Fundamentals of microbiology*. Boston: Jones and Bartlett. ISBN 0-7637-1067-9.
- Angelina, F. 2008. Enzim. Online. (<http://www.fionaangelina.com/2008/09/14/enzim>).
- Elisa, 2008. Naskah MikInd. Fermentasi Metabolit Primer. Online. (<http://elisa.ugm.ac.id>)
- Baehaki, A. 2004. Produksi dan Karakterisasi Enzim-Enzim Protease Dari Bakteri Patogen. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Balqis, U. 2006. Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Ekskretori/Sekretori Stadium L3 *Ascaridia galli* dan Pengaruhnya Terhadap Pertahanan dan *Gambaran Histopatologi Usus Halus Ayam Petelur*.
- Basuki, W. 1997. Enzim dalam industri deterjen. Proceeding the first Conference on Industrial Enzyme and Biotechnology; Technology, Strategy and Finance, September 10–11, Jakarta. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. IPB.
- Deutscher PM, 1990. *Methods in Enzymology*, 182. Academic Press Inc., New York.
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Fogarty, W.C. dan Weshoff, D.C. 1983. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. App. Scle. Pub. London and New York.
- Fuad, A.M, R. Rahmawati dan N.R. Mubarik. 2004. Produksi dan karakterisasi Parsial Protease Alkali Termotabil *Bacillus thermoglucosidarius* AF-01. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 9(1): 29–35.
- Martinko J.M. dan Madigan M.T. 2005. *Brock Biology of Microorganisms*, 11th ed., Englewood Cliffs, N.J: Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1
- Mubarik, N.R, A. Suwanto dan M.T. Suhartono, 2000. Isolasi dan karakterisasi protease ekstraseluler dari isolat bakteri termofilik ekstrim. Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi II. Mikrobiologi, Enzim dan Bioteknologi Dalam Perspektif Ekonomi dan Industri. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta.

- Naiola, E dan Widhyastuti, N. 2007. Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus sp.* Hayati: 13 (51–56).
- Rao, M.M., A.M. Tanksale, M.S. Gatge, V.V. Desphande. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbial. And Mol. Biol. Rev.* 62(3):597-635.
- Rismunandar. 1984. Tanah dan Seluk Beluknya. Pustaka Buana. Jakarta
- Richardson, T. and D.G. Hyslop. 1985. Enzyme. In Fenema, O.R. (Ed.). *Food Chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Sadikin, M. 2002. Biokimia Enzim. Widya Medika. Jakarta.
- Sakai D.K. 1985. Significance of extraceluller protease for growth of a heterotrophic bacterium, *Aeromonas salmonicida*. *Appl. And Environ. Microbiol.* 10:1031-1037.
- Smith, E.J. 1990. "Biotechnology Priciple", Terjemahan Usman "Biotechnology Priciple", Terjemahan Usman FS, Bambang S dan Agung S, PT Gramedia, Jakarta, Gramedia. Jakarta.
- Suhartono, M.T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB-Depdikbud. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 2000. Eksplorasi protease bakteri asal Indonesia untuk aplikasi industri dan riset bioteknologi. *Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi II*.
- Sumarsih, S. 2003. Mikrobiologi Dasar. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN Veteran. Yogyakarta.
- Sutedjo, M.M, Kartasapoetra, A.G dan Sastroatmodjo RD.S. 1991. Mikrobiologi Tanah. Riena Cipta. Jakarta.
- Ward, O.P. 1983. Proteinases. In Fogarty, W.M. (Ed.). *Microbial Enzymes and Biotechnolgy*. Applied Science Publishers. London.
- \_\_\_\_\_. 1985. *Proteolytic enzymes*. In Young, M.M. (Ed.). *Comprehensive Biotechnology: The principles, Applications, and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine. Vol. 3*. Pergamon Press. Oxford.

Widowati. 2004. Studi Pengaruh Penambahan Mineral Terhadap Aktivitas Protease dari *Bacillus circulans* (Tesis).. Balai Penelitian Bioteknologi Pangan. Bogor.

Winarno, F.G. 1983. Enzim Pangan. PT Gramedia. Jakarta.

Yandri. 2008. Peningkatan Kestabilan Enzim Protease Dari Bakteri Isolat Lokal *Bacillus subtilis* ITBCCB148 Dengan Modifikasi Kimia. (<http://digilib.unila.ac.id/go.php?id=laptunilapp-gdl-res-2008-yandridrir>, diakses tanggal 02 Juli 2008).