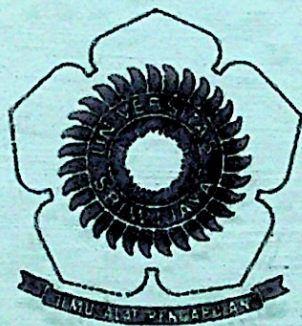


**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR DARI
BAKTERI SALURAN PENCERNAAN GABUS, NILA DAN SEPAT ASAL
RAWA INDRALAYA, KABUPATEN OGAN ILIR**

**Oleh
EKA RELIS**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2009**

639.307
Rel
d-ogad
2009



**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR DARI
BAKTERI SALURAN PENCERNAAN GABUS, NILA DAN SEPAT ASAL
RAWA INDRALAYA, KABUPATEN OGAN ILIR**

**Oleh
EKA RELIS**

- 18592
- 19087



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2009**

SUMMARY

EKA RELLIS. Isolation, Characteristic of Crude Extract Protease Enzyme From gastrointestinal tracts of Snake Head, Tilapia Nile and Opaline Gouramy at Indralaya, Ogan Ilir (Supervised by **RINTO** and **Ade DWI SASANTI**).

The objective of this research was to isolation bacteria that produced protease and know the characteristics of protease enzyme from gastrointestinal tracts of Snake Head, Tilapia Nile and Opaline Gouramy at Indralaya, Ogan Ilir. The research was conducted from July until August 2008 in Technology of Fishery Product Laboratory, Aquaculture Laboratory, and 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 from gastrointestinal track of Snake Head, Tilapia Nile and Opaline Gouramy at Indralaya until production bacteria that has protease.

The result showed that isolate bacteria from of Snake Head, Tilapia Nile and Opaline Gouramy has produced 3 isolates bacterial with has that contain protease that are G_1S_4 , G_3S_4 and N_3S_4 . The Optimum activity in production of protease happen at 48th hour. Wich has the activity value protease at isolate G_1S_4 has 0,395 IU/ml, isolate G_3S_4 has 0, 331 IU/ml dan isolate N_3S_4 has 0,39 IU/ml. Protease characteristic isolate G_1S_4 , G_1S_3 and N_3S_4 has optimum pH at 8 point. Optimum temperature of G_1S_4 isolate, G_1S_3 isolate and N_3S_4 isolate showed at 40° celcius. Metal ion that increasing protease activity of G_1S_4 and G_1S_3 was $ZnCl_2$ (5 mM) and

the inhibitor of this isolate ZnCl_2 (1 mM), KCl (1 mM dan 5 mM), FeCl_2 (1 mM dan 5 mM) and MnCl_2 (1 mM dan 5 mM). The activator of N_3S_4 was FeCl_3 (5 mM) and the inhibitory of N_3S_4 isolate was FeCl_3 (1 mM), ZnCl_2 (1 mM and 5 mM), KCl (1 mM and 5 mM) and MnCl_2 (1 mM and 5 mM).

RINGKASAN

EKA RELIS, Isolasi dan Karakteristik Protease Ekstrak Kasar dari Bakteri Saluran Pencernaan Ikan Rawa, Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir (Dibimbing oleh **RINTO DAN ADE DWI SASANTI**)

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil protease dan mengetahui karakteristik protease ekstrak kasar dari bakteri pencernaan Gabus, Nila dan Sepat asal rawa 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 ini dilakukan dengan metode laboratorium yang terdiri dari beberapa tahap, mulai dari skrining mikroorganisme penghasil protease dari bakteri saluran pencernaan ikan rawa Inderalaya sampai menghasilkan bakteri penghasil protease dengan aktivitas terbaik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi bakteri saluran pencernaan ikan rawa Inderalaya menghasilkan 3 isolat bakteri yang memiliki aktivitas protease yaitu G_1S_4 , G_3S_4 dan N_3S_4 . Produksi optimum aktivitas protease terjadi pada jam ke-48. Nilai aktivitas protease pada isolat G_1S_4 adalah 0,395 IU/ml, isolat G_3S_4 adalah 0,331 IU/ml dan isolate N_3S_4 adalah 0,39 IU/ml. Karakteristik protease isolat G_1S_4 , isolat G_3S_4 dan isolat N_3S_4 optimum pada pH 8. Suhu inkubasi isolat G_1S_4 , isolat G_3S_4 dan isolat N_3S_4 optimum pada suhu 40 °C. Sedangkan ion logam yang menjadi

aktivator pada isolat G₁S₄ dan isolat G₃S₄ adalah ZnCl₂ (5 mM) dan yang menjadi inhibitor adalah logam ZnCl₂ (1 mM), KCl (1 mM dan 5 mM), FeCl₂ (1 mM dan 5 mM) dan MnCl₂ (1 mM dan 5 mM) Pada isolat N₃S₄ ion logam yang dapat meningkatkan aktivitas protease adalah ion logam Fe²⁺ dari logam FeCl₂ dengan konsentrasi 5 mM. Sedangkan logam FeCl₂ dengan konsentrasi 1 mM menurunkan aktivitas protease isolat N₃S₄, begitu pula logam ZnCl₂, KCl dan MnCl₂ dengan konsentrasi 1 mM dan 5 mM bersifat inhibitor pada isolat N₃S₄

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR
DARI BAKTERI SALURAN PENCERNAAN GABUS, NILA DAN SEPAT
ASAL RAWA INDRALAYA, KABUPATEN OGAN ILIR**



Oleh

EKA RELLIS

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pada

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

**INDRALAYA
2009**

Skripsi

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK PROTEASE EKSTRAK KASAR
DARI BAKTERI SALURAN PENCERNAAN GABUS, NILA DAN SEPAT
ASAL RAWA INDRALAYA, KABUPATEN OGAN ILIR**

Oleh
EKA RELLIS
05053110002

telah diterima sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pembimbing I,



Rinto, S.Pi., M.P.

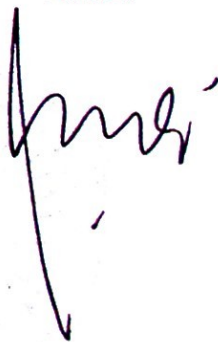
Pembimbing II



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

Indralaya, Juli 2009

Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya
Dekan



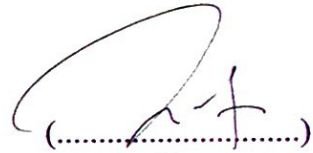
Prof. Dr. Ir. H. Imron Zahri, M.S.
NIP. 130 516 530

Skripsi berjudul “Isolasi dan Karakteristik Protease Ekstrak Kasar dari Bakteri Saluran Pencernaan Gabus, Nila dan Sepat Asal Rawa Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir” oleh Eka Rellis telah dipertahankan di depan Komisi Penguji pada tanggal 29 Mei 2009.

Komisi Penguji

1. Rinto, S.Pi., M.P.

Ketua


(.....)

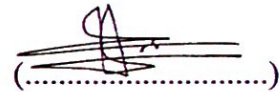
2. Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si.

Sekretaris


(.....)

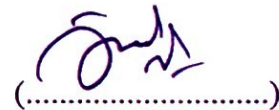
3. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.

Anggota


(.....)

4. Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si.

Anggota


(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi
Teknologi Hasil Perikanan



Rinto, S.Pi., M.P.
NIP. 132 296 432

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh 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, Juni 2009

Yang membuat pernyataan

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Eka Rellis', written in a cursive style.

Eka Rellis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Palembang 1 Februari 1987, merupakan anak pertama dari 4 bersaudara dari pasangan Usman Majid. Alm. dan Ismiwati. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan pada tahun 1999 di SDN 11 Lahat, Kabupaten Lahat Sumatera Selatan, Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama pada tahun 2002 di SLTPN 5 Lahat, Kabupaten Lahat Sumatera Selatan dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 2 Lahat, Kabupaten Lahat, Sumatera Selatan. Pada bulan Agustus 2005 diterima sebagai mahasiswa Universitas Sriwijaya, Fakultas Pertanian, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan melalui Jalur PMP. Sejak saat itu menjadi mahasiswa di Universitas Sriwijaya.

Penulis telah melaksanakan Praktik Lapang yang berjudul Sanitasi dan Higiene Proses Pra Pengalengan Rajungan di PT. Tonga Tour Area Bangka Provinsi Bangka Belitung pada tahun 2008 yang dibimbing oleh Bapak Rinto S.Pi., M.P. Penulis juga telah melaksanakan magang di PT. Tonga Tour Area Bangka Provinsi Bangka Belitung pada tahun 2008. Penulis pernah dipercaya menjadi asisten kuliah Ikhtiologi tahun 2007 dan 2008 serta pernah menjadi asisiten mata kuliah Penilaian Inderawi pada tahun 2008.

Kegiatan non formal yang pernah diikuti adalah seminar dan Pelatihan Statistik bidang perikanan pada tahun 2007 dan seminar pelatihan Penulisan proposal PKM (Program Kreativitas Mahasiswa) Fakultas Pertanian Unsri 2007. Selama kuliah penulis pernah bekerja sebagai karyawan di prepararasi mobil "Venom Audio

Station” di Kenten Permai Palembang Sumatera Selatan pada tahun 2006 dan teknisi jaringan dan operator di Star-Net Indralaya pada tahun 2007.

KATA PENGANTAR

Syukur *alhamdulillah* penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT, yang telah menganugerahkan rahmat dan nikmatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Isolasi dan karakteristik Protease ekstrak Kasar dari Saluran Pencernaan Gabus, Nila dan Sepat Asal Rawa Indralaya, Ogan Ilir. Salawat dan salam selalu kami haturkan kepada nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, Sahabat dan semua yang berjuang di Jalan-Nya.

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 ingin 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 terselesaikan 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 bimbingan dan arahan selama melakukan penelitian
4. Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi., selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat serta dukungannya selama ini.

5. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Bapak Agus Supriadi, S.Pt., M.Si., Ibu Susi Lestari dan ibu Shanti Dwita Lestari, S.Pi yang telah banyak memberikan ilmu yang bermanfaat.
6. Mbak Ani yang telah banyak sekali memberikan bantuannya.
7. Ibuku tercinta yang rela berkorban dan berjuang sendirian demi masa depan anaknya.
8. Teman-temanku seangkatan 2005 dan adik tingkat THI serta kakak tingkat.

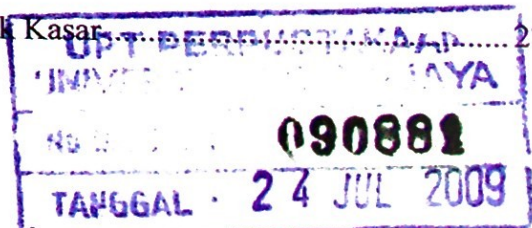
Akhirnya penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat mendukung kemajuan ilmu pengetahuan bidang perikanan.Amin.

Indralaya, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan.....	2
C. Hipotesis	2
II. Tinjauan Pustaka.....	3
A. Enzim Protease.....	3
B. Bakteri	11
C. Ikan	12
III. Pelaksanaan Penelitian	14
A. Tempat dan Waktu.....	14
B. Alat dan Bahan	14
C. Metode Penelitian	15
D. Cara Kerja.....	15
IV. Hasil dan Pembahasan.....	21
A. Isolasi Bakteri Pencernaan Ikan	21
B. Hasil Uji Proteolitik	23
C. Pengukuran Aktivitas Protease.....	25
D. Karakterisasi Produksi Ekstrak Kasar.....	27



V. Kesimpulan dan Saran.....	34
A. Kesimpulan.....	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Prosedur Pengukuran Aktivitas Protease	17
2. Jumlah Koloni Bakteri yang Tumbuh	21
3. Hasil Uji Proteolitik Bakteri.....	24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Reaksi Enzimatis Serin Secara <i>Catalyc Triad</i>	5
2. Koloni bakteri setelah dimurnikan	22
3. Isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas protease.....	25
4. Aktivitas protease	26
5. Pengaruh pH terhadap protease.....	28
6. Pengaruh suhu terhadap aktivitas protease.....	31
7. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas protease	31
8. Sampel Ikan (a) Gabus, (b) Nila, (c) Sepat	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Gambar Sampel Ikan (a) Gabus, (b) Nila, (c) Sepat	39
2. Diagram alir kegiatan penelitian	40
3. Perhitungan indeks proteolitik isolat bakteri.....	41
4. Perhitungan aktivitas protease isolat G ₁ S ₄	42
5. Perhitungan aktivitas protease isolat G ₃ S ₄	45
6. Perhitungan aktivitas protease isolat N ₃ S ₄	48
7. Perhitungan pengaruh pH terhadap aktivitas protease isolat G ₁ S ₄	51
8. Perhitungan pengaruh pH terhadap aktivitas protease isolat G ₃ S ₄	53
9. Perhitungan pengaruh pH terhadap aktivitas protease isolat N ₃ S ₄	55
10. Perhitungan pengaruh suhu terhadap aktivitas protease isolat G ₁ S ₄	57
11. Perhitungan pengaruh suhu terhadap aktivitas protease isolat G ₃ S ₄	59
12. Perhitungan pengaruh suhu terhadap aktivitas protease isolat N ₃ S ₄	61
13. Perhitungan pengaruh senyawa logam terhadap aktivitas protease G ₁ S ₄	63
14. Perhitungan pengaruh senyawa logam terhadap aktivitas protease G ₃ S ₄	66
15. Perhitungan pengaruh senyawa logam terhadap aktivitas protease N ₃ S ₄	69

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan enzim protease dalam berbagai produk komersial semakin meluas sejalan dengan kemajuan bidang bioteknologi. Protease dimanfaatkan dalam bidang industri antara lain dalam pengolahan pangan, penyamakan kulit, deterjen dan pengolahan limbah cair. Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat namun kebutuhan ini masih tergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap impor tersebut adalah dengan adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Daniel, 1979 *dalam* Naiola dan Widhyastuti, 2007).

Salah satu sumber enzim protease adalah mikroorganisme. Sebagai sumber enzim, mikroorganisme lebih menguntungkan memiliki beberapa keunggulan antara lain, mikroba memiliki siklus hidup yang singkat, efisiensi waktu dan tempat, produktivitas tinggi dan memudahkan kita untuk melakukan manipulasi genetik (melalui rekayasa genetika mikroba) (Putranto, 2006).

Mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil protease antara lain bakteri saluran pencernaan ikan. Ini dikarenakan sebagian besar bakteri hidup di saluran pencernaan. Selain itu saluran pencernaan ikan terhubung langsung ke perairan dimana air merupakan media utama pertumbuhan bakteri dan beragamnya jenis nutrisi yang dimakan oleh bakteri menjadi faktor bervariasinya jenis bakteri di saluran pencernaan ikan (Floch *et al.*, 1970 *dalam* Kar dan Ghosh, 2008).

Mengingat betapa pentingnya peran enzim terutama protease dalam bidang industri dan masih kurangnya pemanfaatan mikroorganisme sebagai penghasil enzim protease di Indonesia, maka perlu dilakukan penelitian untuk mencari alternatif baru bakteri penghasil protease dengan mengisolasi sampel bakteri dari saluran pencernaan ikan rawa yang diharapkan memiliki bakteri penghasil protease.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil protease dan mengetahui karakteristik enzim protease dari bakteri saluran pencernaan ikan gabus, nila dan sepat asal rawa Sakatiga, Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir.

Hipotesis

Diduga pada saluran pencernaan ikan gabus, nila dan sepat asal rawa, Sakatiga, Indralaya, Ogan Ilir terdapat bakteri penghasil protease yang dapat diisolasi dan diketahui karakteristiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aftab, S., Ahmed, S., Saeed, S. dan Rasool, S.A. 2006. Screening, Isolation and Characterization of Alkaline Protease Producing Bacteria from Soil. Pakistan Journal of Biological Sciences. 9(11) : 2122-2126.
- Akhdiya, A. 2003. *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil*. Buletin Plasma Nutfah. (9):2.
- Arbaeiauskiene, V. Skrodenyte. 2000. *Proteolytic activity of the Roach (Rutilus rutilus L) Intestinal Microflora*. Acta Zoologica. Lituanica Institute of Ecology, Akademijos Vilnius. Lithuania. Vol.10 :Numerus 3.
- Baehaki, A.2004. *Produksi dan Karakterisasi Enzim-enzim Protease dari Bakteri Pathogen*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Fahri, M. 2008. *Enzim: Suatu Molekul Penting*. Program Pasca Sarjana Budidaya Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Feliatra, Irwan, E dan Suryadi E. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (Ephinephelus fuscogatus) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan*. Jurnal Natur Indonesia. 6(2) : 75-80.
- Gencal, H. 2004. Studies on Alkaline Protease Production from *Bacillus* sp.. İzmir Institute of Technology, Turkey. Departemen Biotechnology and Bioengineering
- Harwati, U dan Sunarko, B. 2006. *Biokatalis, Enzim dan Biotransformasi*. BioTrends I. (2) : 27-29.
- Hedstrom, L. 2002. *An Overview of Serine Proteases*. Massachusetts. Brandeis University
- Hultmann, L. 2003. *Endogenous Proteolytic Enzymes - Studies of Their Impact on Fish Muscle Proteins and Texture*. Dr.ing.-thesis. Faculty of Natural Sciences and Technology Department of Biotechnology. Norwegian.
- Ibrahim, S.S.Abdelnasser, El-Shayeb M.A. Nefisa dan Mabrouk S. Sohair. 2007. *Isolation and Identification of Alkaline Protease Producing Alkaliphilic Bacteria from an Egyptian Soda Lake*. Journal of Applied Sciences Research. 3(11) : 1363-1368.

- Kar, N and Koushik, G. 2008. Enzyme Producing Bacteria in the Gastrointestinal Tracts of *Labeo rohita* (Hamilton) and *Channa punctatus* (Bloch). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol.8 : 115-120.
- Kombong H. 2004. Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur *Aspergillus niger*. Jur. Ilmu Dasar.5(1) : 16-20.
- Naiola, E dan Widhyastuti, N.2007.Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus sp.* Berk. Penel. Hayati: 13 (51–56).
- Olajuyigbe, Folasade M. dan Joshua O. Ajele. 2008. Some properties of extracellular protease from *Bacillus licheniformis* LBBL-11 isolated from “iru”, a traditionally fermented African locust bean condiment. African Journal of Biochemistry Research. Nigeria. 2(10) : .206-210.
- Pelczar, M.J dan Chan E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. *Hill Book Company.McGraw*
- Palmer, T. 1990. Understanding Enzyme third edition. Ellis Hoerwood.
- Priani, N.2003.*Metabolisme Bakteri*.Jurusan Biologi, Universitas Sumatera Utara.USU Digital Library.Sumatera Utara.
- Putranto, W.S. 2006. Purifikasi dan Karakterisasi Protease Yang Dihasilkan *Lactobacillus acidophilus* dalam Fermentasi Susu Sapi Perah. Seminar Nasional Bioteknologi. Universitas Padjadjaran.Bandung
- Ramiadi, A. (2008). Isolasi dan Karakteristik Protease Ekstrak Kasar Dari Air Rawa Inderalaya, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan. Skripsi. Universitas Sriwijaya.
- Rao, M.M. Tanksale, M.S. Gatge, dan V.V. Desphane. 1998. *Molecular and Biotechnological Aspectects of microbial proteases*. Microbial and Mol.Biol.Rev. 62(3) : 597-635.
- Sari, M. 2004. *Enzim*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara.
- Secades, P and Guijarr, J. A. 1999. *Purification and Characterization of an Extracellular Protease from the Fish Pathogen Yersinia ruckeri and Effect of Culture Conditions on Production*. Applied and Environmental Microbiology. 65(9):3969-3975.
- Soetijoso, S. Pengaruh Modifikasi Kimiawi Selektif Terhadap Kesetabilan α -Amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera*. Jurnal Bionatura. 7(3):259-273.

Sumarsih, S. 2003. *Kuliah Mikrobiologi Dasar.Diktat*. Fakultas pertanian. UPN Veteran. Yogyakarta.

Widowati, S, Sukarno, L dan Raharto P. 2005. *Studi Pengaruh Penambahan Mineral terhadap Aktivitas Protease dari Bacillus circulans 9b3*. Tesis. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan.Bogor