

**KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE
DARI ISOLAT BAKTERI EKA 20 ENDOSIMBION KECOAK
*Pycnoscelus surinamensis***

SKRIPSI



MEDALIYANA OKTAVIA

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT BAKTERI EKA 20
ENDOSIMBION KECQAK *Pycnoscelus surinamensis*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
Pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Medaliyana Oktavia
NIM 081811433029

Disetujui oleh:

Pembimbing I,


Dr. Ni'matuzahroh
NIP 196801051992032003

Pembimbing II,


Prof. Ir. Dr. Tini Surtiningsih, DEA
NIP 195110121980032001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Karakterisasi Enzim Protease dari Isolat Bakteri EKA 20
Endosimbion Kecoak *Pycnoscelus surinamensis*
Penyusun : Medaliyana Oktavia
NIM : 081811433029
Tanggal Ujian : 15 Agustus 2022

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II,


Dr. Ni'matuzahroh
NIP 196801051992032003


Prof. Ir. Dr. Tini Surtiningsih, DEA
NIP 195110121980032001

Mengetahui:
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga


Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.
NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Medaliyana Oktavia

NIM : 081811433029

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Universitas : Airlangga

Jenjang : Strata 1 (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT BAKTERI EKA 20
ENDOSIMBION KECOAK *Pycnoscelus surinamensis***

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 4 Agustus 2022


Medaliyana Oktavia
NIM. 081811433029

Medaliyana Oktavia. 2022. Karakterisasi Enzim Protease dari Isolat Bakteri EKA 20 Endosimbion Kecoak *Pycnoscelus surinamensis*. Skripsi ini dibimbing oleh Dr. Ni'matuzahroh dan Prof. Ir. Dr. Tini Surtiningsih, DEA., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi enzim protease dari isolat bakteri EKA 20 endosimbion kecoak *Pycnoscelus surinamensis*, dengan melakukan pengujian terhadap variasi suhu, pH, dan pemberian beberapa jenis ion logam. Pengujian aktivitas enzim menggunakan metode Bergmeyer & Grassl (1983) sedangkan kadar protein enzim diuji menggunakan metode Lowry. Enzim protease yang diproduksi selama 24 jam memiliki nilai rata-rata aktivitas enzim sebesar 0,053 U/mL dengan kadar protein sebesar 4,651 mg/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 0,011 U/mg. Enzim protease dari isolat bakteri EKA 20 memiliki indeks protease (IP) sebesar 3 selama 24 jam inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi suhu, pH, dan penambahan ion logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease dari isolat bakteri EKA 20. Aktivitas enzim protease tertinggi terdapat pada suhu 60°C dengan nilai sebesar 0,064 U/mL. Aktivitas enzim tertinggi pada variasi pH terdapat pada pH 5 yaitu 0,058 U/mL. Adapun aktivitas enzim protease tertinggi diperoleh pada perlakuan interaksi suhu 60°C dan pH 5 yaitu 0,058 U/mL sedangkan aktivitas protease terendah diperoleh pada perlakuan interaksi suhu 60°C dan pH 7 yaitu 0,044 U/mL. Penambahan ion logam Mg^{2+} dan Fe^{2+} pada uji aktivitas enzim protease berfungsi sebagai aktivator sedangkan ion logam Ca^{2+} , Cu^{2+} , dan Mn^{2+} berfungsi sebagai inhibitor.

Kata Kunci : Aktivitas Enzim Protease, Kadar Protein, Isolat EKA 20, Karakterisasi Enzim.

Medaliyana Oktavia. 2022. Characterization of Protease Enzyme from Isolate EKA 20 Endosymbionts Cockroach *Pycnoscelus surinamensis*. This script under guidance: Dr. Ni'matuzahroh and Prof. Ir. Dr. Tini Surtiningsih, DEA., Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

This study aims to determine the characterization of protease enzymes from bacterial isolate EKA 20 endosymbionts of the cockroach *Pycnoscelus surinamensis*, by testing variations in temperature, pH, and addition of several types of metal ions. Enzyme activity was tested using the Bergmeyer & Grassl method (1983) while the protein content of the enzyme was tested using the Lowry method. The protease enzyme produced for 24 hours had an average enzyme activity value of 0.053 U/mL with a protein content of 4.651 mg/mL and a specific enzyme activity of 0.011 U/mg. The protease enzyme from bacterial isolate EKA 20 had a protease index (IP) of 3 for 24 hours of incubation. The results showed that variations in temperature, pH, and the addition of metal ions affected the protease enzyme activity of the bacterial isolate EKA 20. The highest protease enzyme activity was at 60°C with a value of 0.064 U/mL. The highest enzyme activity at pH variation was found at pH 5, which was 0.058 U/mL. The highest protease enzyme activity was obtained at the interaction treatment at 60°C and pH 5, which was 0.058 U/mL, while the lowest protease activity was obtained at the interaction treatment at 60°C and pH 7, which was 0.044 U/mL. The addition of metal ions Mg^{2+} and Fe^{2+} in the protease enzyme activity test functioned as activators while metal ions Ca^{2+} , Cu^{2+} , and Mn^{2+} functioned as inhibitors.

Keywords : Protease Enzyme Activity, Protein Content, EKA 20 Isolate, Enzyme Characterization.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul **“Karakterisasi Enzim Protease dari Isolat Bakteri EKA 20 Endosimbion Kecoak *Pycnoscelus surinamensis*”**.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan naskah skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Ni'matuzahroh selaku dosen pembimbing skripsi I yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan masukan dan saran serta bimbingan hingga penelitian dan naskah skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
2. Prof. Ir. Dr. Tini Surtiningsih, DEA selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan masukan dan saran dalam proses pengerjaan skripsi.
3. Dr. Salamun, M.Kes selaku dosen penguji I yang telah memberikan saran dan masukan.
4. Intan Ayu Pratiwi, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan masukan.
5. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku ketua Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
6. Prof. Dr. Moh. Yasin, M.Si. selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
7. Dr. Moch. Affandi, M.Si selaku dosen wali yang senantiasa membimbing serta memberikan masukan selama perkuliahan
8. Bapak dan Ibu dosen Biologi, FST, Universitas Airlangga yang sudah memberikan ilmu selama perkuliahan.

9. Kedua orang tua, bapak Yudi Hartono dan ibu Sutiah yang selalu memberikan dukungan yang tiada henti, doa tanpa batas, kasih sayang, juga selalu menguatkan penulis untuk terus melangkah meraih impian.
10. Nenek tercinta, Maryam yang selalu memberikan kasih sayang dan senantiasa mendoakan penulis dalam segala hal.
11. Adik-adik tercinta, Rama Septian Wijaya dan Ratu Yuliani Febianti yang turut memberikan semangat selama pengerjaan skripsi.
12. Diaz F. A., Sholikhah, Ayu T. W., Cindy G., Abima, Marsa, Mbak Nurul, Mbak Kimal, Mbak Ana, dan Mbak Silvia, selaku rekan penelitian yang memberikan semangat selama proses penelitian skripsi.
13. Teman-teman mahasiswa jurusan Biologi angkatan 2018, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
14. Imam Busthomi, selaku sosok yang selalu bersedia mendengarkan cerita dan keluh kesah penulis dan memberikan semangat selama pengerjaan proposal skripsi.
15. Blacky, si paling hitam manis dan menggemaskan yang turut menghibur penulis selama pengerjaan skripsi.
16. Semua pihak yang telah mendukung penelitian dan penulisan naskah skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Naskah skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan sidang skripsi pendidikan sarjana bidang biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, adanya saran dan kritik dari berbagai pihak sangat diharapkan guna menyempurnakan naskah skripsi ini kedepannya.

Surabaya, 4 Agustus 2022

Penulis,

Medaliyana Oktavia

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Asumsi	4
1.5 Hipotesis	5
1.6 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Enzim Protease	6
2.1.1 Substrat protease	7
2.1.2 Klasifikasi enzim protease	7
2.2 Bakteri Proteolitik	9
2.2.1 Bakteri endosimbion hewan dekomposer kecoak	11
2.2.2 Isolat bakteri EKA 20	12
2.3 Karakteristik Enzim Protease	12
2.3.1 Spesifitas substrat	12
2.3.2 pH optimum	13

2.3.3 Suhu optimum	13
2.3.4 Keberadaan ion logam	14
BAB III METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.2.1 Alat penelitian	15
3.2.2 Bahan penelitian.....	15
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Variabel Penelitian	16
3.5 Prosedur Kerja	16
3.5.1 Peremajaan isolat bakteri EKA 20	16
3.5.2 Pembuatan media inokulum dan media produksi enzim protease	16
3.5.3 Produksi enzim protease dari isolat bakteri EKA 20.....	17
3.5.4 Analisis aktivitas enzim protease dan kadar protein dari isolat bakteri EKA 20	17
3.5.4.1 Pembuatan kurva standar tirosin	17
3.5.4.2 Uji aktivitas enzim protease	17
3.5.4.3 Pembuatan kurva baku standar BSA dan penentuan kadar protein.....	18
3.5.4.4 Penentuan aktivitas spesifik enzim.....	18
3.5.5 Karakterisasi enzim protease.....	20
3.5.5.1 Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim.....	20
3.5.5.2 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim	20
3.5.5.3 Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim	21
3.6 Analisis Data	21
3.7 Kerangka Operasional Penelitian	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil	23
4.1.1 Uji kemurnian isolat bakteri EKA 20	23
4.1.2 Produksi enzim protease isolat bakteri EKA 20	24
4.1.3 Uji aktivitas enzim protease isolat bakteri EKA 20 secara kualitatif	25

4.1.4 Uji aktivitas enzim protease dan kadar protein isolat bakteri EKA 20	26
4.1.5 Karakterisasi enzim	28
4.1.5.1 Pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim protease .	28
4.1.5.2 Pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim protease....	29
4.1.5.3 Pengaruh pemberian ion logam terhadap aktivitas enzim protease.....	30
4.2 Pembahasan	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
4.1	Nilai OD (<i>optical density</i>) kultur isolat bakteri EKA 20 pada pH sebelum (D0) dan sesudah (D1) inkubasi 24 jam	24
4.2	Aktivitas enzim protease, kadar protein, aktivitas spesifik enzim isolat bakteri EKA 20 setelah inkubasi 24 jam pada suhu ruang	27

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
3.1	Kerangka penelitian	22
4.1	(A) Hasil <i>quadrant streak</i> isolat bakteri EKA 20 pada cawan petri; (B) Pewarnaan Gram isolat bakteri EKA 20	23
4.2	Nilai log TPC isolat bakteri EKA 20 sebelum (D0) dan sesudah (D1) Inkubasi 24 jam pada suhu ruang	25
4.3	Zona bening yang menunjukkan aktivitas proteolitik dari isolat bakteri EKA 20 setelah 24 jam inkubasi. (A) zona halo dari supernatan (B) zona bening dari koloni isolat bakteri EKA 20	26
4.4	Aktivitas enzim protease isolat bakteri EKA 20 pada variasi suhu	28
4.5	Aktivitas enzim protease isolat bakteri EKA 20 pada variasi pH	29
4.6	Aktivitas enzim protease isolat bakteri EKA 20 pada penambahan beberapa ion logam yang berbeda	30

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Prosedur Penelitian
2	Pembuatan Reagen Penelitian
3	Perhitungan Berat Kering Endapan Hasil Sentrifugasi
4	Pembuatan Kurva Baku Tirosin dan Kurva Standar BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>)
5	Perhitungan Aktivitas Enzim Protease dan Kadar Protein
6	Hasil Karakterisasi Enzim Protease Pada Variasi Suhu, pH, dan Penambahan Ion Logam
7	Dokumentasi Penelitian