

**AKTIVITAS ENZIM BAKTERI POTENSIAL YANG BERPERAN DALAM
DEKOLORISASI LIMBAH CAIR PABRIK GULA RAFINASI**

TESIS
untuk memenuhi sebagian syarat
mencapai gelar akademik Magister Sains (M.Si)



Kinanti Ayu Puji Lestari
NIM. 081414153004

Program Studi Magister Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga
Surabaya
Februari 2016

TESIS
**STUDI AKTIVITAS ENZIM MIKROBA POTENSIAL YANG BERPERAN
DALAM DEKOLORISASI LIMBAH CAIR PABRIK GULA RAFINASI**

yang dipersiapkan dan disusun oleh
Kinanti Ayu Puji Lestari
NIM. 081414153004

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 2 Februari 2016

Susunan Dewan Penguji

Pembimbing Utama



Dr. Ni matuzahroh
NIP.19680105 199203 2 003

Pembimbing Pendamping



Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto M.Sc.
NIP.19681228 199303 1 001

Penguji I



Prof. Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA
NIP.19511012 198003 2 001

Penguji II



Drs. Salamun, M.Kes.
NIP. 19611110 198703 1 003

Penguji III



Prof. Dr. Bambang Irawan
NIP. 19550405 198203 1 004

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
Untuk memperoleh gelar Magister Sains
Tanggal 19 Februari 2016



Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi

Dr. Sucipto Hariyanto, DEA
NIP. 19560902 198601 1 002

Ketua Program Studi Magister Biologi



Dr. Puji Astuti W., Dra., M.Si.
NIP. 19660221 199203 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka

Surabaya, 10 Februari 2016
Yang Menyatakan,



Kinanti Ayu Puji Lestari, S.Pd.

KATA PENGANTAR

Segala puji penulis ucapkan pada Allah subhanahu wata'ala yang telah menganugerahkan segala kenikmatan sehingga penulis bisa menyelesaikan penulisan dan penyusunan Tesis yang berjudul “Aktivitas Enzim Bakteri Potensial yang Berperan dalam Dekolorisasi Limbah Cair Pabrik Gula Rafinasi”. Keberhasilan dalam penulisan tesis ini tidak lepas dari dukungan serta bantuan dari berbagai pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil.

Terima kasih tak terhingga tersampaikan dan ungkapan persembahan penulis haturkan kepada:

1. Dr. Ni'matuzahroh. Ibu kami, dan selaku dosen pembimbing utama yang tak kenal lelah selalu membimbing dan memberikan banyak masukan, kritikan, bantuan, dan motivasi luar biasa hebat dalam penyusunan tesis ini.
2. Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc., selaku dosen pembimbing pendamping yang senantiasa mencurahkan segenap ide, ilmu, waktu tenaga dan materi selama penelitian maupun penyusunan tesis ini
3. Prof. Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA selaku dosen penguji I yang senantiasa memberikan nasihat dan semangat akademik serta telah memberikan saran dan kritikan dalam penulisan tesis ini.
4. Drs. Salamun, M.Kes selaku dosen penguji II yang telah memberikan banyak masukan untuk penyempurnaan tesis ini.
5. Prof. Dr. Bambang Irawan selaku dosen penguji III yang telah memberikan banyak masukan untuk penyempurnaan tesis yang telah dibuat.
6. Dr. Sucipto Haryanto, DEA. selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Sains dan teknologi yang telah memberikan arahan dan bantuan selama melakukan penelitian di Laboratorium Terpadu Biologi.
7. Dr. Sri Puji Astutik, M.Si, selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang telah memberikan arahan dan bantuan selama melakukan penelitian.
8. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.Si., selaku Dosen Wali yang selalu memberikan arahan akademik dan selalu memberikan semangat bagi penulis.

9. Keluargaku tercinta, kedua orang tua, nenek, dan adikku yang telah memberikan dukungan moral, doa, dan materi yang begitu besar sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
10. Wahyu Fajar Septyanto, yang selalu menjadi pendongkrak semangat yang tiada henti dan selalu setia menemani penulis hingga semua terselesaikan dengan baik.
11. Teman-teman satu tim penelitian, Lailatus Sa'diyah dan Dianita Puspitasari, serta Farid Mahendra dan Resta yang telah bekerja bersama dengan sangat luar biasa mulai dari awal hingga akhir penelitian ini. Kalian hebat.
12. Teman seperjuangan, mahasiswa S2 Biologi angkatan 2014, Mbak Bulan, Ike, Hikmah, Mas Hendri, Mas iqbal, dan Mbak Azmi dan Mbak Putri.
13. Karyawan Departemen Biologi FST Unair atas kerjasama dalam penyelesaian studi S2 Biologi, terutama kepada Bapak Suwarni, S.Sos. yang banyak membantu hingga penyelesaian penelitian ini dan semua pihak yang mendukung terselesaikannya Tesis ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Semoga segala amal kebaikan yang telah diberikan menjadi amal sholeh dan diterima serta mendapat balasan dari Allah subhanahu wata'ala. Harapan dari penyusun, semoga tesis ini dapat menambah informasi bagi pembaca tentang aktivitas enzim oleh bakteri potensial yang berperan dalam dekolonisasi air limbah pabrik gula rafinasi. Tiada gading yang tak retak, tak ada manusia yang sempurna, mohon maaf jika terdapat kesalahan dalam penyusunan tesis ini. Terima kasih, semoga bermanfaat, semoga menjadi berkah.

Surabaya, 10 Februari 2016

Penulis,

Kinanti Ayu Puji Lestari, S.Pd.

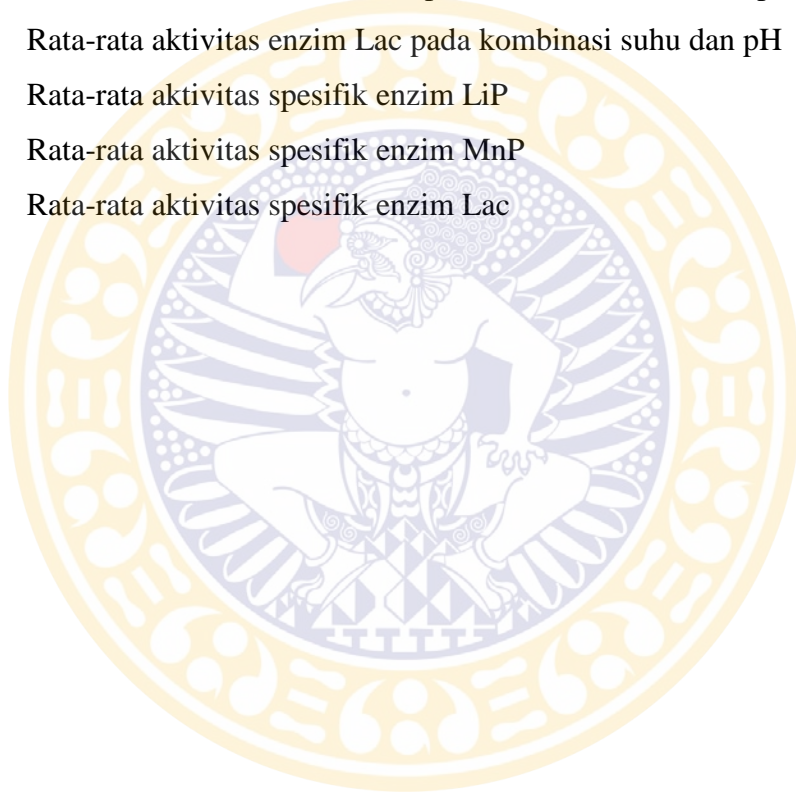
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
ABSTRAK	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Limbah Pabrik Gula Rafinasi	7
2.2. Senyawa Melanoidin	10
2.3. Bakteri Indigenus Pendekolorisasi Air Limbah Pabrik Gula Rafinasi	11
2.4. Enzim Bakteri Lignoselulolitik	12
2.5. Dekolorisasi Senyawa Melanoidin	13
2.6. Kerangka Konsep Penelitian	14
2.7. Hipotesis Penelitian	
2.7.1 Hipotesis Kerja	15
2.7.2 Hipotesis Statistik	15
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	
3.2.1. Bahan kimia	17
3.2.2. Mikroorganisme	17

3.2.3. Alat penelitian	17
3.3. Rancangan Penelitian	18
3.4. Cara Kerja	
3.4.1. Sterilisasi alat dan bahan	18
3.4.2. Peremajaan isolat bakteri potensial pendekolorisasi air limbah pabrik gula rafinasi	18
3.4.3. Media kultur isolat terpilih	19
3.4.4. Pembuatan suspensi isolat bakteri	19
3.4.5. Kurva pertumbuhan bakteri	19
3.4.6. Pengukuran konsentrasi protein enzim	19
3.4.7. Aktivitas enzim (LiP, MnP dan Lac)	20
3.4.8. Aktivitas enzim dalam kondisi suhu dan pH yang ditentukan	20
3.4.9. Penentuan aktivitas enzim	20
3.4.10. Penentuan aktivitas spesifik enzim	21
3.5. Variabel Penelitian	23
3.6. Analisis Data	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Pertumbuhan Bakteri dan Jumlah Total Bakteri (CFU/mL)	25
4.2 Analisis Kadar Protein	27
4.3 Analisis Aktivitas Enzim LiP, MnP dan Lac	30
4.3.1 Analisis aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP)	32
4.3.2 Analisis aktivitas enzim manganase peroksidase (MnP)	37
4.3.3 Analisis aktivitas enzim lakase (Lac)	39
4.4 Analisis Aktivitas Spesifik Enzim LiP, MnP dan Lac	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Karakteristik fisik-kimia air limbah pabrik gula rafinasi	8
2.2	Strain bakteri yang mampu mendekolorisasi senyawa melanoidin	10
3.1	Tabel faktorial uji aktivitas enzim isolat bakteri terpilih terhadap kombinasi suhu dan pH yang berbeda	16
4.1	Rata-rata aktivitas enzim LiP pada kombinasi suhu dan pH	36
4.2	Rata-rata aktivitas enzim MnP pada kombinasi suhu dan pH	39
4.3	Rata-rata aktivitas enzim Lac pada kombinasi suhu dan pH	43
4.4	Rata-rata aktivitas spesifik enzim LiP	46
4.5	Rata-rata aktivitas spesifik enzim MnP	46
4.6	Rata-rata aktivitas spesifik enzim Lac	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Instalasi pengolahan air limbah pabrik gula rafinasi	9
2.2	Teknik sampling air limbah pabrik gula rafinasi	9
2.3	Struktur kimia Melanoidin	10
2.4	Metode degradasi senyawa melanoidin	13
2.5	Skema kerangka konsep penelitian	14
4.1	Koloni isolat bakteri DC1, DC2, dan DC7a	25
4.2	Log TPC dan aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac oleh isolat bakteri DC1, DC2, dan DC7a pada variasi waktu panen	25
4.3	Kadar protein oleh isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a pada variasi waktu panen	28
4.4	Kadar protein dan aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac oleh isolat bakteri DC1, DC2, dan DC7a pada variasi waktu panen	28
4.5	Aktivitas Enzim LiP, MnP dan Lac oleh isolat bakteri DC1, DC2, DC7a dalam variasi waktu panen.	30
4.6	Aktivitas enzim LiP isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a pada kombinasi suhu dan pH	33
4.7	Aktivitas enzim MnP isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a pada kombinasi suhu dan pH	37
4.8	Aktivitas enzim Lac isolate bakteri DC1, DC2 dan DC7a pada kombinasi suhu dan pH	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Analisis statistik: perbedaan kombinasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim LiP	L-1
2	Analisis statistik: perbedaan kombinasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim MnP	L-2
3	Analisis statistik: perbedaan kombinasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim Lac	L-3
4	<i>Total Plate Count</i> (TPC) isolat bakteri potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi	L-4
5	Kadar protein isolat bakteri potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi	L-5
6	Uji aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-6
7	Uji aktivitas enzim manganase peroksidase (MnP) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-7
8	Uji aktivitas enzim lakase (Lac) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-8
9	Uji aktivitas spesifik enzim lignin peroksidase (LiP) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-9
10	Uji aktivitas spesifik enzim manganase peroksidase (MnP) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-10

11	Uji aktivitas spesifik enzim lakase (Lac) isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a yang potensial dalam dekolorisasi limbah cair pabrik gula rafinasi terhadap kombinasi suhu dan pH	L-11
12	Isolat bakteri DC1, DC2 dan DC7a dalam media limbah cair pabrik gula rafinasi	L-12
13	Koloni bakteri DC1, DC2 dan DC7a	L-13
14	Alat dan bahan benelitian	L-14



Kinanti Ayu Puji Lestari. 2016, Aktivitas Enzim Bakteri Potensial yang Berperan dalam Dekolorisasi Limbah Cair Pabrik Gula Rafinasi, TESIS ini dibawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Dr. rer. nat Ganden, Supriyanto, M.Sc., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP), manganase peroksidase (MnP) dan Lakase (Lac) dari isolat bakteri potensial dalam dekolourisasi limbah cair pabrik gula rafinasi, mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac pada variasi suhu dan pH dan mengetahui kombinasi suhu dan pH untuk mendapatkan aktivitas tertinggi enzim LiP, MnP dan Lac dari masing-masing isolat bakteri uji. Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan rancangan acak lengkap dengan 3 kali pengulangan. Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa: 1) jumlah populasi bakteri (CFU/mL); 2) kadar protein dalam produksi enzim LiP, MnP dan Lac; 3) aktivitas enzim LiP; 4) aktivitas enzim MnP; 5) aktivitas enzim Lac; dan 6) aktivitas spesifik enzim LiP, MnP dan Lac. Data aktivitas enzim dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA (derajat signifikansi = 5%). Terdapat aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac oleh masing-masing isolat bakteri. Variasi kombinasi suhu dan pH memberikan perbedaan aktivitas enzim LiP, MnP dan Lac pada masing-masing isolat bakteri uji. Aktivitas enzim LiP tertinggi didapat oleh isolat bakteri DC7a pada kombinasi suhu 50°C dan pH 11 sebesar 0,651 U/mL, diikuti oleh isolat bakteri DC2 pada kombinasi suhu 50°C dan pH 11 sebesar 0,637 U/mL dan isolat bakteri DC1 pada kombinasi suhu 50°C dan pH 11 sebesar 0,548 U/mL. Aktivitas enzim MnP tertinggi oleh isolat bakteri DC7a, pada kombinasi suhu 30°C dan pH 13 sebesar 0,320 U/mL, diikuti oleh isolat bakteri DC1 pada kombinasi suhu 40°C dan pH 11 sebesar 0,165 U/mL dan isolat bakteri DC2 pada kombinasi suhu 40°C dan pH 11 sebesar 0,083 U/mL. Sedangkan aktivitas enzim Lac tertinggi oleh isolat bakteri DC7a, pada kombinasi suhu 50°C dan pH 11 sebesar 0,216 U/mL, diikuti oleh isolat bakteri DC1 pada kombinasi suhu 50°C dan pH 13 sebesar 0,165 U/mL dan isolat bakteri DC2 pada kombinasi suhu 40°C dan pH 11 sebesar 0,146 U/mL.

Kata kunci: Aktivitas enzim, lignin peroksidase, manganase peroksidase, lakase.

Kinanti Ayu Puji Lestari. 2016, Enzyme Activity of Potential Bacteria Involved in Decolorization of Refined Sugar Effluent, this Thesis under the guidance of Dr. Ni'matuzahroh and Dr. rer. nat. Ganden, Supriyanto, M. Sc., Department of Biology, Faculty of Science and Technology, University of Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

This study aim to determine lignin peroxidase (LiP), manganese peroxide (MnP), and Laccase (Lac) enzyme activity of isolate bacteria that involved in decolorization of refined sugar effluent, to determine whether there is difference in LiP, MnP and Lac enzyme activity in variation of temperature and pH and to determine combination of temperature and pH to obtain the highest LiP, MnP and Lac enzyme activity of each isolate bacteria. This research is an experimental study with a completely randomized design with three replications. Data obtained from this study include: 1) the total population of bacteria (CFU/mL); 2) protein content of enzyme production; 3) LiP enzyme activity; 4) MnP enzyme activity; 5) Lac enzyme activity; and 6) LiP, MnP and Lac specific enzyme activity. Data were analyzed statistically, while percentage data of enzyme activity was tested using the ANOVA (degrees of significance = 5%). There are LiP, MnP and Lac activity of each isolate bacteria. The combination of temperature and pH variation makes a difference of LiP, MnP, and Lac enzyme activity of each isolate bacteria. The highest LiP enzyme activity was 0,651 U/mL obtained by isolate bacteria DC7a at temperature 50°C and pH 11, followed by isolate bacteria DC2 and DC1 at 50°C and pH 11, activities measured 0,637 U/mL and 0,548 U/mL. The highest MnP enzyme activity was 0,320 U/mL obtained by isolate bacteria DC7a at temperature 50°C and pH 13, followed by isolate bacteria DC1 and DC2 at 40°C and pH 11, activities measured 0,165 U/mL and 0,083 U/mL. The highest Lac enzyme activity was 0,216 U/mL obtained by isolate bacteria DC7a at temperature 50°C and pH 11, followed by isolate bacteria DC1 at temperature 50°C and pH 13 and DC2 at 40°C and pH 11, activities measured 0,165 U/mL and 0,146 U/mL.

Keywords: Enzyme activity, lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase