

**SELEKSI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI
TERMOFILIK PASCA ERUPSI MERAPI SEBAGAI PENGHASIL
ENZIM PROTEASE**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta untuk Memenuhi Sebagian
Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains**



**Disusun Oleh:
HENY DWI KURNIAWATI
NIM. 08308144008**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2012**

PERSETUJUAN

Skripsi yang berjudul “Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Protease” yang disusun oleh Heny Dwi Kurniawati, NIM 08308144008 ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diujikan.



Yogyakarta, 26 Juni 2012

Pembimbing I,

Anna Rakhmawati, M.Si
NIP. 19770102 200112 2 002

Pembimbing II,

Drajat Pramadi, M.Si
NIP. 19601026 198601 1 002

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim.

Tanda tangan dosen penguji yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli, saya siap menerima sanksi ditunda yudisium pada periode berikutnya.

Yogyakarta, 18 Juli 2012

Yang menyatakan,



Heny Dwi Kurniawati
NIM. 08308144008

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Protease" yang disusun oleh Heny Dwi Kurniawati, NIM 08308144008 ini telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 16 Juli 2012 dan dinyatakan lulus.

Nama	Jabatan	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Anna Rakhmawati, M.Si</u> NIP. 19770102 200112 2 002	Ketua Penguji		18-07-2012
<u>Drajat Pramiadi, M.Si</u> NIP. 19601026 198601 1 002	Sekretaris Penguji		18-07-2012
<u>Siti Umniyatie, M.Si</u> NIP. 19511113 198303 2 001	Penguji I		18-07-2012
<u>Evy Yulianti, M.Sc</u> NIP. 19800726 200501 2 001	Penguji II		18-07-2012

Yogyakarta, 20 Juli 2012
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Dekan,



DR. Hartono
NIP. 19620329 198702 1 002

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

{Q.S. Alām Nasyrah (94):6}

“Dan Allah tidak menjadikan pemberian (bala bantuan itu) melainkan sebagai kabar gembira bagi (kemenangan)mu, dan agar hatimu tenram karenanya. Dan kemenanganmu itu hanyalah dari Allah Yang Maha Perkasa lagi Maha Bijaksana.”

(Q.S. Alī ʻImrān :126)

“Perjalanan seribu batu bermula dari satu langkah.”

(Lao Tze)

“Berfokuslah pada satu keinginan yang pencapaiannya memampukan Anda mendapatkan banyak keinginan.”

(Mario Teguh)

“Sesungguhnya keberhasilan itu dekat bagi yang rajin, tapi jauh bagi yang malas.”

(Mario Teguh)

“Bersikaplah kukuh seperti batu karang yang tidak putus-putusnya dipukul ombak. Ia tidak saja tetap berdiri kukuh, bahkan ia menenteramkan amarah ombak dan gelombang itu.”

(Marcus Aurelius)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. *Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah, serta memberikan kelancaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.*
2. *Kedua orangtuaku Ibu Sumilah dan Bapak Muhaeni, yang dengan tulus memberikan kasih sayang, bimbingan, arahan, dukungan, dan doa.*
3. *Kakakku Mas Aji, terima kasih atas kasih sayang, nasihat, dan motivasi yang telah diberikan selama ini.*
4. *Simbah-simbahku, terima kasih atas segala nasihat dan doa demi tercapainya cita-cita Heny.*
5. *Bu Anna dan Pak Drajat, terima kasih atas arahan, bimbingan, dan motivasi yang telah diberikan.*
6. *Sahabat seperjuangan di Lab. Mikrobiologi Upik, Cing, Hendy, Nikmah, Dian, Rifki, Arif, Dana, Eko, Ridi & Dani, terima kasih untuk semua bantuan dan dukungannya terutama selama kita bekerja bersama di Lab.*
7. *Mas Agung Prasetya, terima kasih atas kasih sayang dan motivasi yang telah diberikan selama ini.*
8. *Bu Tutik dan Mbak Erna, terima kasih atas bantuan dan arahannya.*
9. *Keluarga Biologi Swadana'08, terima kasih untuk kebersamaan selama ini. Dari kalian saya bisa belajar banyak hal.*
10. *Keluarga Kos Yudhistira, terima kasih untuk kebersamaan dan motivasi yang telah diberikan.*
11. *Segenap dosen Biologi, terima kasih atas segala ilmu yang telah diberikan.*

SELEKSI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK PASCA ERUPSI MERAPI SEBAGAI PENGHASIL ENZIM PROTEASE

Oleh
Heny Dwi Kurniawati
NIM 08308144008

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim protease, karakter fenotipik, genus serta hubungan kekerabatan bakteri termofilik penghasil enzim protease terseleksi dari isolat bakteri termofilik Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksploratif. Penelitian dilakukan dengan tiga tahapan utama, yaitu seleksi, karakterisasi, dan identifikasi. Seleksi bakteri termofilik penghasil enzim protease dilakukan terhadap 96 isolat bakteri termofilik yang berasal dari sampel pasir Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010 dan tumbuh pada suhu inkubasi 55 °C. Seleksi menggunakan media agar susu skim. Kemudian dilakukan karakterisasi fenotipik meliputi morfologi koloni, morfologi sel, dan karakter biokimia. Identifikasi bakteri sampai tingkat genus berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dilakukan dengan metode *profile matching*, serta penentuan hubungan kekerabatan antar isolat berdasarkan indeks Ssm (*Simple Matching Coefficient*). Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan adanya 18 isolat bakteri termofilik penghasil enzim protease. Lima bakteri dengan indeks proteolitik tertinggi dipilih untuk dikarakterisasi. Karakterisasi fenotipik isolat bakteri termofilik penghasil enzim protease menunjukkan hasil tidak jauh berbeda. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri termofilik penghasil enzim protease memiliki level similaritas yang tinggi dengan genus *Thermus*, yaitu sebesar 90%. Berdasarkan indeks similaritas antar isolat dan konstruksi dendogram, diketahui bahwa lima isolat bakteri termofilik penghasil enzim protease terpilih mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat dengan indeks similaritas antar isolat di atas 80%.

Kata kunci: *bakteri, termofilik, enzim protease*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Protease” ini dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains dalam Program Studi Biologi, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan serta tidak akan terlaksana dengan baik tanpa suatu dukungan dari berbagai pihak, baik berupa bimbingan, petunjuk, nasihat, maupun dorongan moral dan spiritual. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak DR. Hartono selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberikan ijin untuk penelitian.
2. Bapak Dr. Slamet Suyanto, M.Ed selaku ketua Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberikan ijin untuk penelitian.
3. Ibu Evy Yulianti, M.Sc selaku Ketua Program Studi Biologi dan dosen penguji II yang telah memberikan pengarahan, masukan dan saran untuk menyempurnakan skripsi ini.

4. Bapak Sukirman, MS selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan.
5. Ibu Anna Rakhmawati, M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, bantuan, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Drajat Pramiadi, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, bantuan, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Ibu Siti Umniyatie, M.Si selaku dosen penguji I yang telah memberikan masukan dan saran untuk menyempurnakan skripsi ini.
8. Segenap dosen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama penulis menempuh studi.
9. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa dan motivasi.
10. Kakak yang selalu memberikan doa dan motivasi.
11. Segenap staf Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta yang telah menyediakan alat dan bahan sehingga mempermudah penulis dalam melakukan penelitian.
12. Keluarga Biologi Swadana 2008 yang telah memberikan bantuan dan motivasi.
13. Keluarga Kos Yudhistira yang telah memberikan motivasi.
14. Semua pihak yang telah mendukung dan membantu penulis selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu saran dan kritik yang membangun dari semua pihak senantiasa penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang berkepentingan.

Yogyakarta, Juli 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Identifikasi Masalah.....	4
C. Batasan Masalah	5
D. Rumusan Masalah.....	5
E. Tujuan Penelitian	6
F. Manfaat Penelitian	7
G. Batasan Operasional	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Deskripsi Teori	10

1. Bakteri Termofilik	10
2. Habitat Bakteri Termofilik	13
3. Adaptasi Bakteri Termofilik	15
4. Enzim Protease	19
5. Klasifikasi Protease	23
6. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	26
7. Erupsi Gunung Merapi	28
8. Aplikasi Mikroorganisme Termofilik	30
9. Taksonomi Numerik	31
10. Penyusunan Hubungan Kekerabatan	32
B. Kerangka Berpikir Teoritis	35

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian	37
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	37
C. Populasi dan Sampel Penelitian.....	37
D. Parameter Penelitian	37
E. Alat dan Bahan.....	38
F. Prosedur Kerja	39
G. Teknik Analisis Data	48

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	49
1. Seleksi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	49
2. Kemampuan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease.....	50

3.	Karakterisasi Fenotipik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	52
4.	Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	55
5.	Indeks Similaritas <i>Simple Matching Coefficient</i> (Ssm) Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	56
6.	Konstruksi Dendogram Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	59
7.	Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	60
B.	Pembahasan	63
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
A.	Kesimpulan	79
B.	Saran	80
DAFTAR PUSTAKA.....		81

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rentang Suhu Pertumbuhan Mikroba	11
Tabel 2. Klasifikasi Protease.....	25
Tabel 3. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik pada Media Uji Agar Susu Skim dengan Suhu 55 °C Selama 24 Jam	49
Tabel 4. Kemampuan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	51
Tabel 5. Karakteristik Morfologi Koloni, Morfologi Sel, dan Uji Biokimia Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	53
Tabel 6. <i>Profile Matching</i> Genus Acuan <i>Thermus</i> dengan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	55
Tabel 7. Karakter Fenotipik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	57
Tabel 8. Indeks Similaritas <i>Simple Matching Coefficient</i> (Ssm) Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hubungan Suhu dan Pertumbuhan pada Kelompok Mikroorganisme dengan Temperatur yang Berbeda.....	10
Gambar 2. Pohon Filogenetik Bakteri.....	12
Gambar 3. Mekanisme Umum Hidrolisis Enzimatik Substrat Peptida.....	21
Gambar 4. Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	50
Gambar 5. Diagram Kemampuan Aktivitas Proteolitik 18 Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	51
Gambar 6. Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	52
Gambar 7. Pengecatan Gram Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	54
Gambar 8. Dendogram Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih Berdasarkan Indeks Similaritas Karakter Fenotipik.....	60
Gambar 9. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih pada Medium <i>Nutrient Broth</i>	61
Gambar 10. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih pada Medium <i>Nutrient Broth+10% Susu Skim</i>	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Media dan Reagen Kimia Dalam Penelitian.....	83
Lampiran 2. Data Isolat Sampel Penelitian.....	86
Lampiran 3. Skema Kerja Peremajaan Isolat Bakteri Termofilik	89
Lampiran 4. Skema Kerja Seleksi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	90
Lampiran 5. Skema Kerja Uji Kemampuan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease.....	91
Lampiran 6. Skema Kerja Karakterisasi Sifat Morfologi dan Biokimia Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	92
Lampiran 7. Pengamatan Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik pada Media Seleksi Agar Susu Skim.....	93
Lampiran 8. Pengukuran Kemampuan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease.....	96
Lampiran 9. Pengukuran Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih pada Medium <i>Nutrient Broth</i>	114
Lampiran 10. Pengukuran Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih pada Medium <i>Nutrient Broth+10% Susu Skim</i>	115
Lampiran 11. Dokumentasi Tahap Peremajaan Isolat Bakteri Termofilik dari Sampel Pasir Kali Gendol Atas Pasca Erupsi Merapi 2010 yang Tumbuh pada Suhu Inkubasi 55 °C	116
Lampiran 12. Dokumentasi Tahap Seleksi Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease	117
Lampiran 13. Dokumentasi Uji Kemampuan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease.....	130
Lampiran 14. Hasil Pengamatan Karakter Morfologi Koloni Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	134
Lampiran 15. Hasil Pengamatan Karakter Morfologi Sel dan Sifat Gram Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	136

Lampiran 16. Hasil Pengecatan Endospora Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	137
Lampiran 17. Hasil Pengujian Katalase Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	138
Lampiran 18. Hasil Pengujian Kebutuhan Oksigen Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	139
Lampiran 19. Hasil Pengujian Produksi H ₂ S dan Motilitas Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	140
Lampiran 20. Hasil Pengujian Sitrat Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	141
Lampiran 21. Hasil Pengujian Fermentasi Karbohidrat Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih	142
Lampiran 22. Hasil Pengujian Hidrolisis Pati Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Terpilih.....	146
Lampiran 23. Surat Keputusan Penunjukan Dosen Pembimbing Skripsi (TAS)	147
Lampiran 24. Surat Keputusan Penunjukan Dosen Penguji Skripsi (TAS)....	148