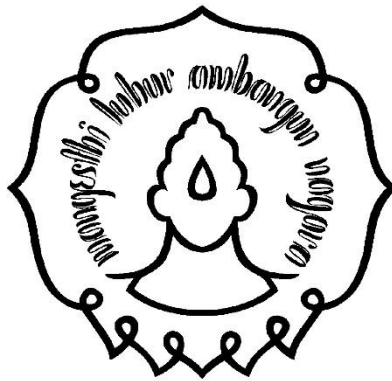


KARAKTERISASI DAN PENGUKURAN STABILITAS β -GLUKOSIDASE
***Bacillus pumilus* GOR2 DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA**
KUMBANG BADAK (*Oryctes rhinoceros*)

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

Robiah Anitasari

M0411067

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2017

PENGESAHAN

Skripsi

**KARAKTERISASI DAN PENGUKURAN STABILITAS β -GLUKOSIDASE
Bacillus pumilus GOR2 DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA
KUMBANG BADAK (*Oryctes rhinoceros*)**

Oleh:
Robiah Anitasari
M0411067

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 7 Maret 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, 7 Juni 2017

Penguji I

Dr. Ratna Setyaningsih., M.Si.
NIP. 1966 0714 1999 03 2 001

Penguji II

Dr. Agung Budiharjo, M.Si
NIP. 19680823 200003 1 001

Penguji III/Pembimbing I

Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech
NIP. 19760812 200501 2 001

Penguji IV/Pembimbing II

Dr. Aftini Pangastuti, M.Si
NIP. 19750531 200003 2 001

Mengesahkan

Kepala Program Studi Biologi



Dr. Ratna Setyaningsih., M.Si.
NIP. 1966 0714 1999 03 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, 7 Maret 2017

Robiah Anitasari
NIM. M0411067

**KARAKTERISASI DAN PENGUKURAN STABILITAS β -GLUKOSIDASE
Bacillus pumilus GOR2 DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA
KUMBANG BADAK (*Oryctes rhinoceros*)**

Robiah Anitasari

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Selulosa merupakan salah satu polisakarida yang banyak ditemukan di alam. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tumbuhan. Selulosa dapat dihidrolisis menghasilkan gula sederhana. β -glukosidase merupakan unit enzim yang penting untuk menghasilkan produk glukosa dari pemecahan selobiosa. Karakterisasi enzim dapat membantu mengetahui kondisi optimum enzim saat bekerja. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pH, suhu dan konsentrasi substrat selobiosa yang optimum untuk aktivitas β -glukosidase *Bacillus pumilus* dari saluran pencernaan larva kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*) dan mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap stabilitas enzim β -glukosidase.

Bakteri yang digunakan adalah bakteri selulolitik *Bacillus pumilus* GOR2 yang berasal saluran pencernaan larva kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*). Aktivitas β -glukosidase ditentukan dengan menggunakan substrat selobiosa. Variasi suhu yang digunakan adalah 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, dan 70°C. Variasi pH yang digunakan adalah 4, 5, 6, 7, dan 8. Variasi konsentrasi substrat yang digunakan adalah 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM dan 25 mM. Pengukuran stabilitas dilakukan pada inkubasi selama 1, 2, 3, 4, dan 5 jam pada suhu 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C kemudian dilakukan pengujian aktivitas pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum.

Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum untuk aktivitas spesifik β -glukosidase yaitu pada suhu 50°C, pH 5, dan konsentrasi substrat 20 mM dengan nilai aktivitas 158.0528 U/mg protein. β -Glukosidase stabil pada kisaran suhu 30-60°C sampai lama waktu inkubasi 3 jam.

Kata kunci: β -glukosidase, *Bacillus pumilus*, Karakterisasi, Stabilitas.

**CHARACTERIZATION AND MEASUREMENT OF STABILITY β -
GLUCOSIDASE *Bacillus pumilus* GOR2 FROM DIGESTION TRACT OF
KUMBANG BADAQ LARVAE (*Oryctes rhinoceros*)**

Robiah Anitasari

Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science
Sebelas Maret University, Surakarta

Cellulose is a polysaccharide found in nature. Cellulose is the primary component of plant cell wall. Cellulose can be hydrolyzed to simpler sugar. β -glucosidase is an important enzyme to produce glucose from cellobiose. Characterization of cellulase enzyme can help determine the optimum conditions the enzymes at work. The aims of this research were found the optimum condition of temperature, pH, and substrate concentration for activity of β -glucosidase *Bacillus pumilus* GOR2 from digestion tract of kumbang badak larvae (*Oryctes rhinoceros*), and was found determine the effect of storage time on the stability of the enzyme β -glucosidase.

The bacteria used in this research was *Bacillus pumilus* GOR2 from digestion tract of kumbang badak larvae (*Oryctes rhinoceros*). β -glucosidase activity was determined using selobiose substrate. Temperature variations used were 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, and 70°C. pH variations used were 4, 5, 6, 7, and 8. Concentration variations used were 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM and 25 mM. Measurements of stability carried out on the of incubation for 1, 2, 3, 4, and 5 hours at a temperature of 30°C, 40°C, 50°C, and 60°C and then testing activity was on the temperature, pH, and the optimum substrate concentration.

The results showed optimum condition for specific activity of β -glucosidase were 50°C, pH 5, and 20 mM substrate concentration with the value of the specific activity 158.0528 U/mg protein. β -glucosidase was stable in the temperature range of 30-60°C until the long incubation time of 3 hours.

Keyword : β -glucosidase, *Bacillus pumilus*, Characterization, Stability.

MOTTO

“Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu tentang Aku, maka (jawablah), bahwasanya Aku adalah dekat. Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila ia memohon kepada-Ku”

(QS. Al-Baqarah: 186)

“Sesungguhnya Allah tidak menyalahi janji”

(QS. Ali Imran: 9)

“Hentikanlah kebohongan, dengan cara bersikap jujur terhadap mereka yang kita bohongi, bahwa kita telah berbohong. Jika tidak, maka kebohongan itu dipastikan akan melahikan kebohongan lainnya.””

(Anonim)

“Sugesti positif akan berbuah positif, sugesti negatif akan berbuah negatif pula”

(Anonim)

“Pulanglah kepada kedua orang tuamu. Buatlah mereka berdua senang dan bahagia, sebagaimana engkau telah membuat mereka menangis”.

(Abdullah bin Amru)

Halaman Persembahan

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

- ✚ *Ibu, Bapak, Dik Aldi dan Keluarga Besar atas cinta dan kasih sayangnya yang tak terhingga dalam hidup saya.*
- ✚ *Keluarga keduaku **KSR PMI Unit UNS** maturnuwun sanget nggih untuk kebersamaan dan pelajaran hidupnya. Especially to **SELIKUR!***
- ✚ *Sahabat- sahabat seperjuangan, Biosukasuka (biologi 2011)*
- ✚ *Almamaterku, Universitas Sebelas Maret*

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan segala rahmat dan kasih sayang-Nya yang tak terhingga. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW uswatun khasanan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Karakterisasi dan Pengukuran Stabilitas β -Glukosidase *Bacillus pumilus* GOR2 dari Saluran Pencernaan Larva Kumbang Badak (*Oryctes rhinoceros*)”. Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons), Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan izin penelitian untuk keperluan skripsi.
2. Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan serta motivasi selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.
3. Dr. Artini Pangastuti, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan serta motivasi selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.
4. Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si selaku dosen penguji I dan Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS yang telah memberikan bimbingan dan masukan kepada penulis.
5. Dr. Agung Budiharjo, M.Si selaku dosen penguji II dan pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi serta semangat selama masa studi di Program Studi Biologi FMIPA UNS.

6. Dosen-dosen di Program Studi Biologi FMIPA UNS, yang telah dengan sabar memberikan pengarahannya yang tiada henti-hentinya dan dorongan baik spiritual maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Staff Laboratorium Biologi Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian,
8. Dewi Kurniawati selaku partner dalam penelitian ini yang bersama – sama dalam setiap proses, naik, turun, gagal, ulang dan akhirnya berhasil dan telah memberikan bantuan yang sangat berarti dalam proses penelitian ini
9. Ayahanda Sugianto, dan ibunda Sulami serta seluruh keluarga penulis yang telah mencurahkan kasih sayang begitu besar, dukungan semangat, dan doa tiada henti.
10. Keluarga besar KSR PMI Unit UNS
11. Biologi FMIPA UNS 2011 dan sahabatku Ainun F., Niken D., Rosa I. C., Rosewati I., Sisilia P., Juliana Ekaputri S., Alwidya A. S., Nia R, Naditya F. H., Nuha R., Anang R., Khoirul A., M. Priyo P., Wisnu T. Y., R. Yari S., M. Hasan S., M. Akbar R., Eva Yulita S., atas dukungan dan bahu yang siap untuk disandarkan.
12. Keluarga besar SKI F-MIPA tahun amanah 2014-1015 yang telah memberikan begitu banyak pelajaran hidup dan selalu menjadi saudara yang selalu mengingatkan dalam kebaikan.

Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua dan pihak-pihak yang terkait.

Surakarta, 20 Februari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II LANDASAN TEORI	3
A. Tinjauan Pustaka	3
1. Selulosa	3
2. Enzim Selulase	4
3. Mikroba Penghasil Selulase	5
4. β -Glukosidase	6
5. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim	7
6. Stabilitas Enzim	9
B. Kerangka Pemikiran	10
BAB III METODE PENELITIAN	12
A. Waktu dan Tempat Penelitian	12
B. Alat dan Bahan	12
1. Alat	12

2. Bahan	12
a. Bakteri	12
b. Media.....	12
c. Pengukuran Aktivitas Selobiase.....	12
C. Cara Kerja Penelitian	13
1. Peremajaan Bakteri	13
2. Produksi Selulase	13
3. Pengukuran Aktivitas β -Glukosidase.....	13
4. Pengukuran Kadar Glukosa dengan GOD	14
5. Karakterisasi β -Glukosidase	14
a. Suhu	14
b. pH.....	14
c. Konsentrasi Substrat Selobiosa.....	15
6. Pengukuran Kadar Protein	15
7. Stabilitas Enzim	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
A. Karakterisasi β -glukosidase	16
1. Suhu Optimum	16
2. pH Optimum	18
3. Konsentrasi Substrat Optimum	21
B. Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Stabilitas Enzim	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	26
A. Kesimpulan	26
B. Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur selulosa.....	3
Gambar 2. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase.	5
Gambar 3. Alur kerangka berpikir	11
Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik β -glukosidase <i>Bacillus pumilus</i> pada pH 7 dengan waktu inkubasi 30 menit.....	16
Gambar 5. Pengaruh pH terhadap aktivitas spesifik β -glukosidase dalam satuan U/mg protein pada suhu inkubasi optimum 50°C selama 30 menit.....	19
Gambar 6. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas spesifik β - glukosidase dalam satuan U/mg protein pada suhu inkubasi optimum 50°C, pH optimum 5, selama 5 menit.....	21
Gambar 7. Aktivitas spesifik β -glukosidase setelah penyimpanan pada suhu 30°, 40°, 50°, dan 60°C	23
Gambar 8. Persentase sisa aktivitas enzim β -glukosidase pada suhu 30°, 40°, 50°, dan 60°C	25

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri selulolitik dan hemiselolitik yang diisolasi dari saluran pencernaan larva Kumbang Badak <i>Oryctes rhinoceros</i> berdasarkan sekuen gen 16S rRNA.....	6
---	---

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kurva standar BSA untuk pengukuran kadar protein terlarut	32
Lampiran 2. Riwayat hidup penulis	33