



TUGAS AKHIR SB-141510

# OPTIMASI PRODUKSI ENZIM PROTEASE DARI *Candida G.3.2*



**Nikita Danniswara Prasetyo**

**1512 100 075**

**Penguji I (Ketua Sidang)**

: Wirdatul Muslihatin, S.Si., M.Si

**Penguji II**

: Ir. Sri Nurhatika, MP

**Penguji III**

: Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya 2016

# OUTLINE



## **Pendahuluan**

Latar Belakang, Rumusan Masalah, Tujuan, Manfaat



## **Metodologi**

Waktu dan Tempat Penelitian, Skema Penelitian, Rancangan Penelitian



## **Hasil dan Pembahasan**

Kurva Pertumbuhan *Candida* G.3.2, Optimasi Masa Inkubasi, Optimasi Suhu dan pH



## **Kesimpulan dan Saran**

Kesimpulan, Saran

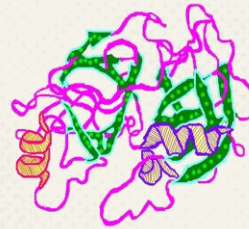


# LATAR BELAKANG

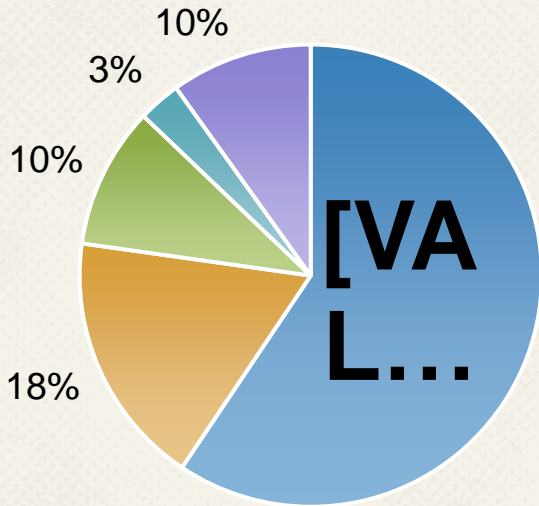
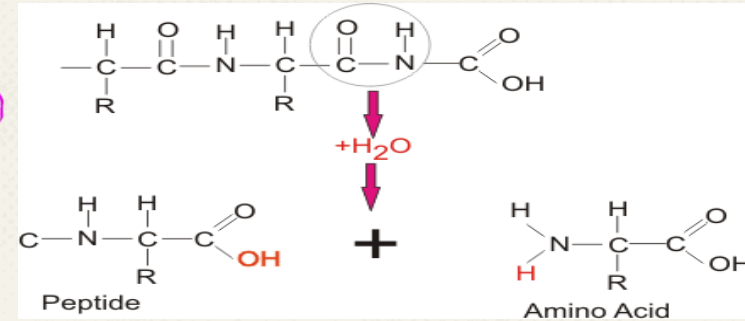
Ikatan peptida

Total Penjualan Enzim

2010 **\$3,3** miliar → 2016 **\$6** miliar



Protease (EC 3.4)



- Protease
- Amilase
- Karbohidrase lain
- Lipase
- Enzim lain



Fungi

Yeast

Bakteri



terrestrial



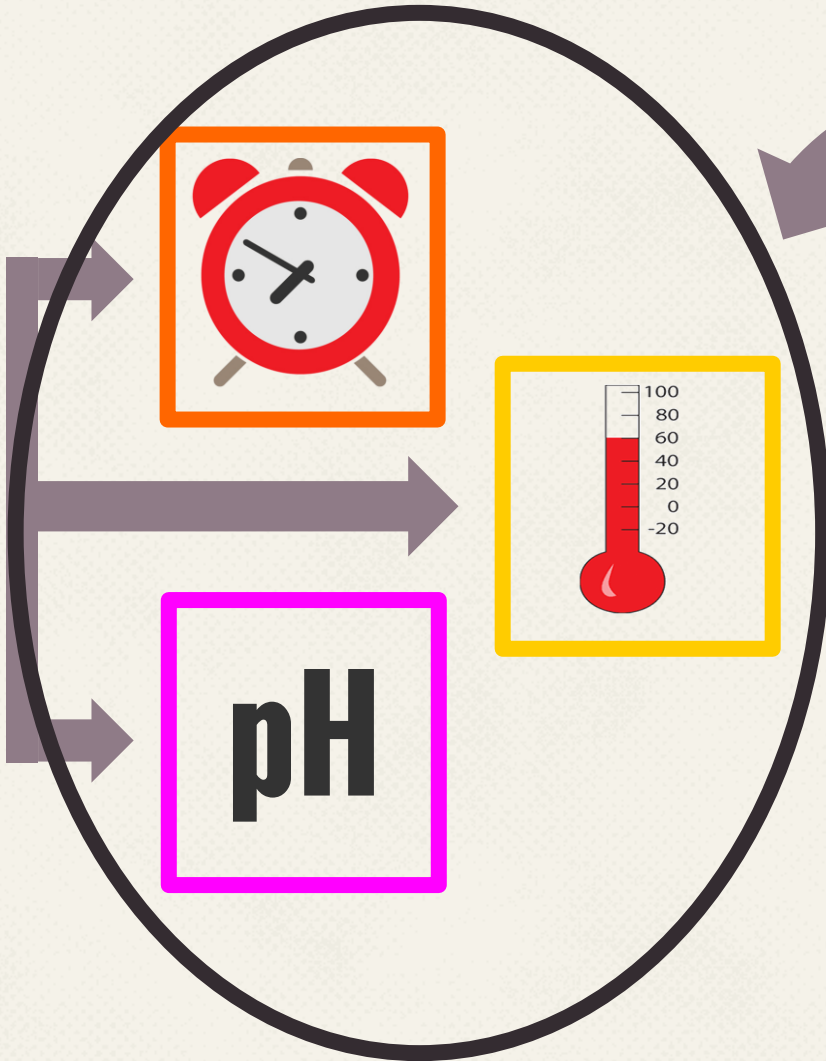
marine





# LATAR BELAKANG

Produksi Protease



Pada penelitian sebelumnya, didapatkan isolat *Candida* G.3.2 yang diketahui mampu memproduksi enzim protease.





# RUMUSAN MASALAH

Permasalahan yang akan dikaji pada penelitian ini adalah bagaimana masa inkubasi serta kombinasi pH dan suhu yang optimal untuk produksi enzim protease dari *Candida* G.3.2.

# BATASAN MASALAH

1. Isolat yang digunakan adalah *Candida* G.3.2. Isolat tersebut merupakan isolat terbaik dari hasil uji potensi secara kualitatif dan kuantitatif dari penelitian sebelumnya yang diisolasi dari Kawasan Rhizosfer Mangrove Gunung Anyar, Surabaya.
2. Pengujian dilakukan dalam skala laboratorium.
3. Variasi masa inkubasi yang digunakan adalah 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 dan 168 jam.
4. Variasi pH yang digunakan adalah 4,5, 7 dan 9.
5. Variasi suhu yang digunakan adalah suhu ruang, 45°C dan 55°C
6. Pengujian optimasi produksi enzim didasarkan pada aktivitas enzim yang dihasilkan.
7. Produk hidrolisis protein oleh protease yang dianalisis pada pengukuran aktivitas enzim adalah tirosin.



## Pendahuluan



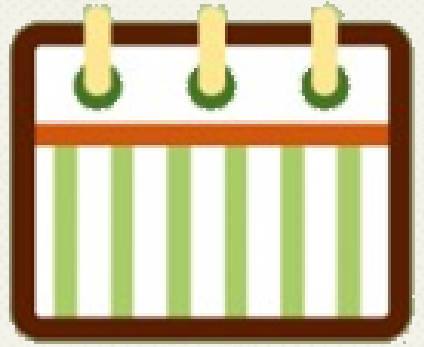
# TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui masa inkubasi serta kombinasi pH dan suhu yang optimal untuk produksi enzim protease dari *Candida* G.3.2.

# MANFAAT

Manfaat penelitian ini adalah mengetahui informasi mengenai masa inkubasi, pH dan suhu yang optimal untuk produksi enzim protease sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan produksi enzim protease dari *marine yeast* yang dapat diaplikasikan pada berbagai macam industri.

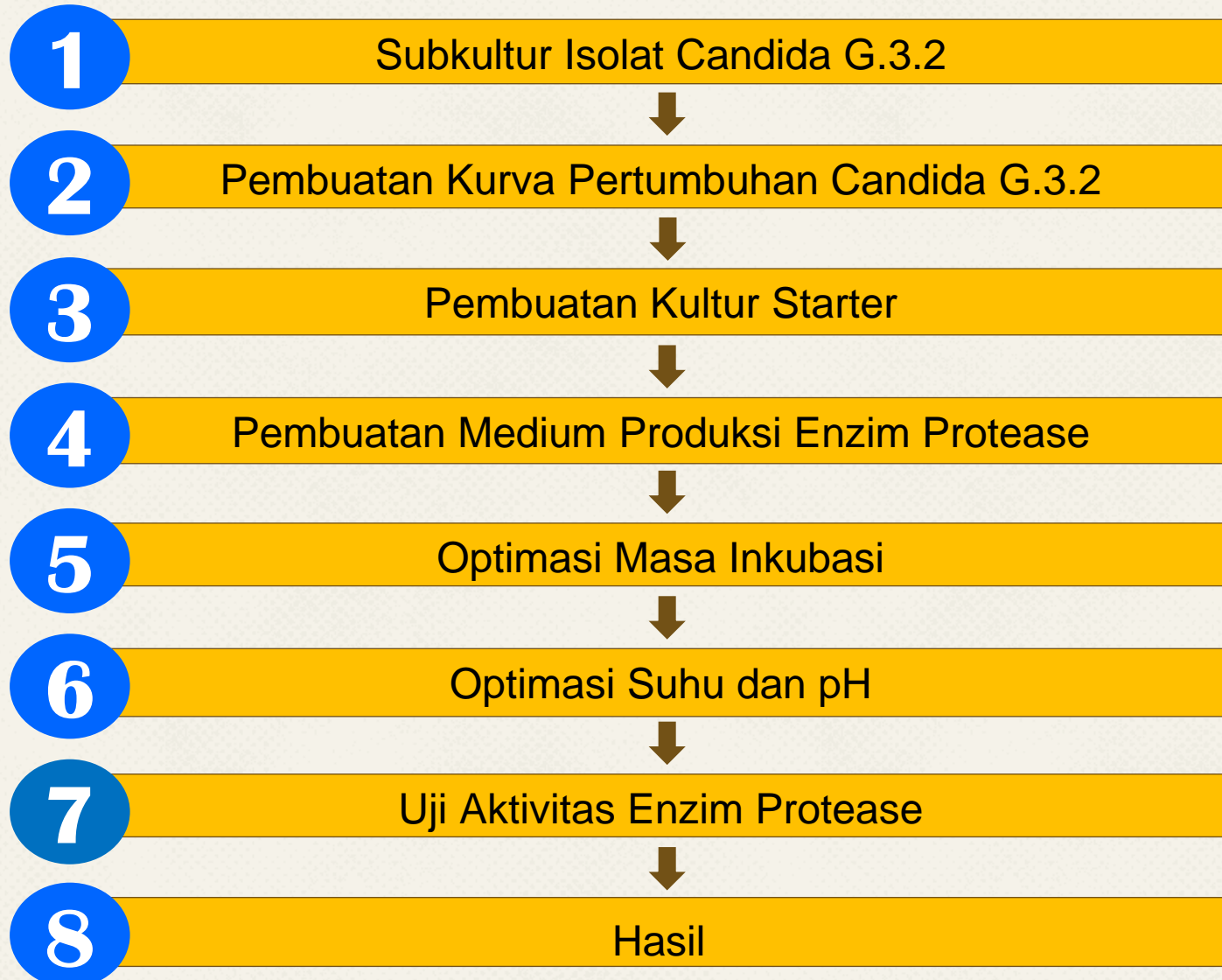
# Waktu dan Tempat Penelitian



Waktu : Februari s.d Mei 2016  
Tempat : Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA ITS



# Skema Penelitian



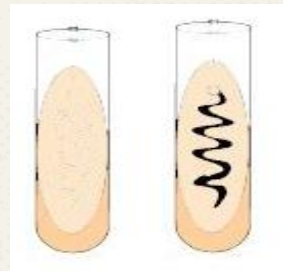




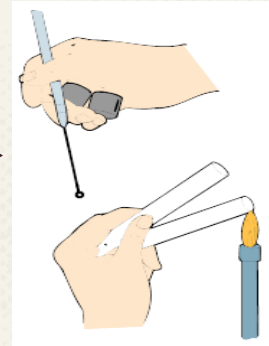
## Subkultur Isolat *Marine Yeast*



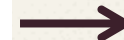
Jarum ose  
dipanaskan pada  
api bunsen



YMEA Isolat  
*slant* G.3.2



Dilakukan  
subkultur isolat  
*yeast* secara  
aseptis



*Streak  
continue*



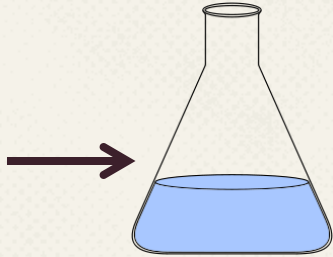
Keberhasilan  
subkultur  
ditandai  
dengan  
tumbuhnya  
koloni



# Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat G.3.2



Subkultur Isolat G.3.2



Disuspensikan dalam 100 mL air fisiologis steril hingga didapatkan OD 0,5 pada  $\lambda$  600 nm

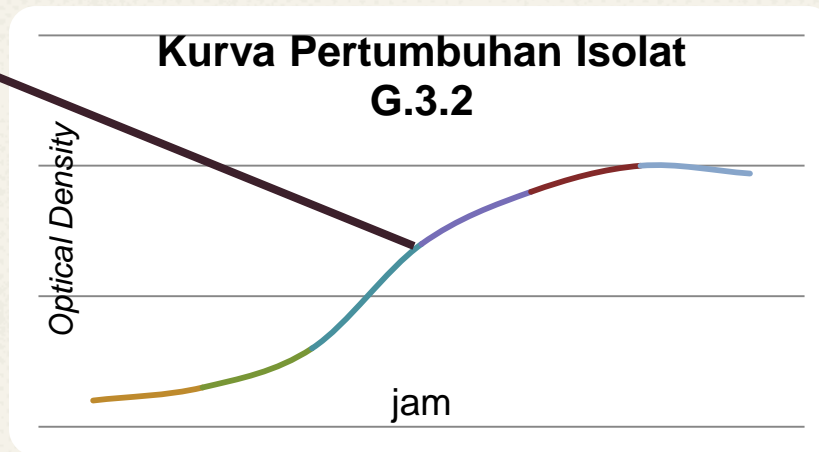


20 mL suspensi yeast + 180 mL medium YMB



Diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 130 rpm pada suhu ruang selama 7 hari

$\mu$  jam (pertengahan fase eksponensial)



Dibuat kurva pertumbuhan dengan sumbu x sebagai waktu (t) dan sumbu y sebagai nilai OD

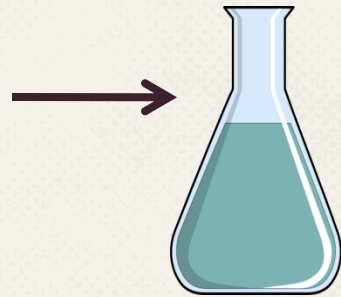


Tiap 24 jam diukur OD menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda=600$  nm



## Pembuatan Medium Produksi Enzim Protease

10 gr glukosa  
5 gr kasein  
5,5 gr *yeast extract*  
10 gr  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   
2 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   
2 gr  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$



Ditambahkan  
1 L akuades



Dihomogenkan dan  
dipanaskan dengan  
*hot plate*



Disterilisasi pada  
suhu  $121^\circ\text{C}$  dan  
tekanan 1,5 atm  
selama 15 menit



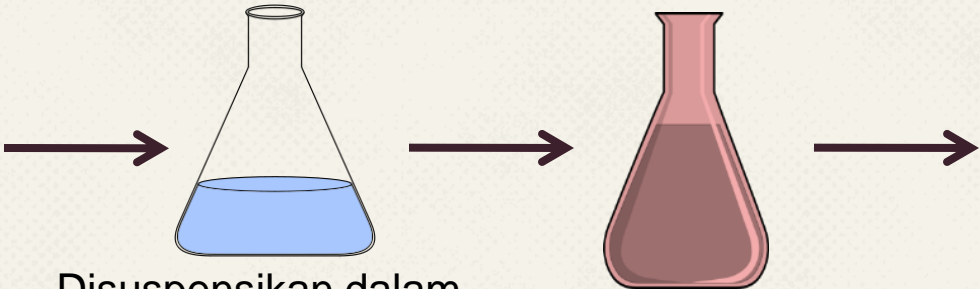
Ditambahkan dengan  
kloramfenikol sebanyak  
200 mg/L



## Medium Prekultur



Subkultur  
Isolat G.3.2



Disuspensikan dalam  
100 mL air fisiologis  
steril hingga  
didapatkan OD 0,5  
pada  $\lambda=600$  nm

30 mL larutan  
suspensi yeast + 270  
mL medium produksi  
protease steril

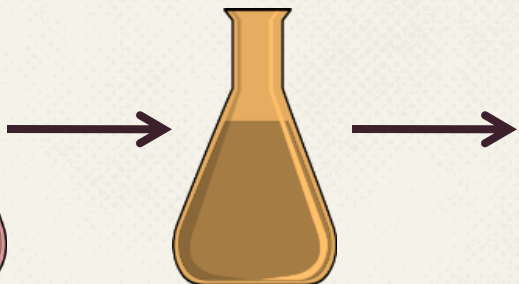


Diinkubasi selama  $\mu$  jam  
dalam *rotary shaker* dengan  
kecepatan 130 rpm pada  
suhu ruang

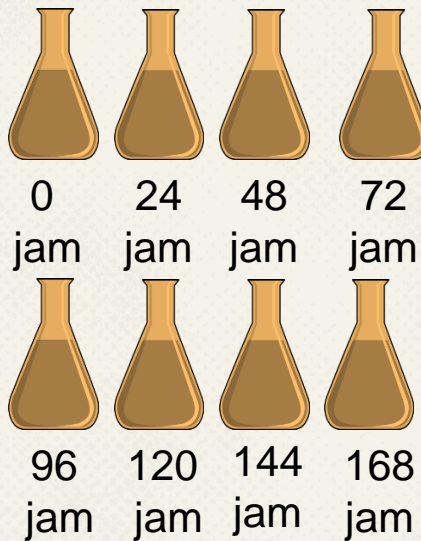
## Pengaruh Masa Inkubasi



10 mL  
medium  
prekultur



Ditambahkan  
ke dalam 90  
mL medium  
produksi enzim  
protease



Diinkubasi pada suhu  
ruang dalam *rotary  
shaker* dengan  
kecepatan 130 rpm



# Optimasi Medium Produksi Enzim Protease



## Pengaruh pH



10 mL  
medium  
prekultur



Ditambahkan ke  
dalam 90 mL  
medium produksi  
enzim protease



pH 3 pH 5 pH 7



pH 9 pH 11



Diinkubasi pada suhu ruang  
dalam *rotary shaker* dengan  
kecepatan 130 rpm

## Pengaruh Suhu



10 mL  
medium  
prekultur



Ditambahkan ke  
dalam 90 mL  
medium produksi  
enzim protease



30°C 45°C 55°C



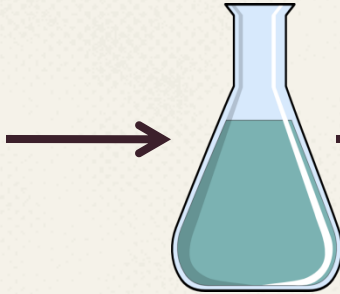
Diinkubasi dalam *rotary shaker*  
dengan  
kecepatan 130 rpm



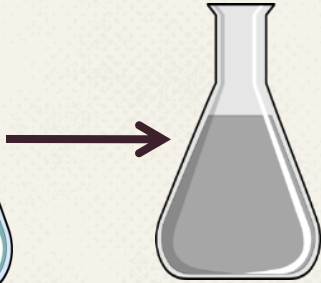
# Pembuatan Kurva Standar Tirosin



2 mg tirosin



Dilarutkan dalam 10 mL akuades

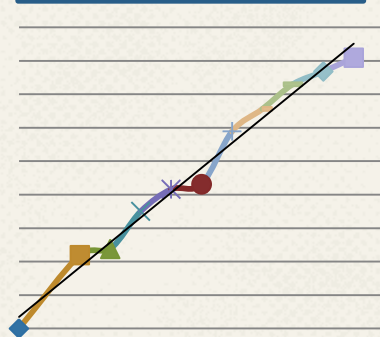


Larutan stok tirosin 0,2 mg/mL



Diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi dengan penambahan akuades

Kurva Standar Tirosin



$$y = 0,148x + 0,034$$
$$R^2 = 0,984$$

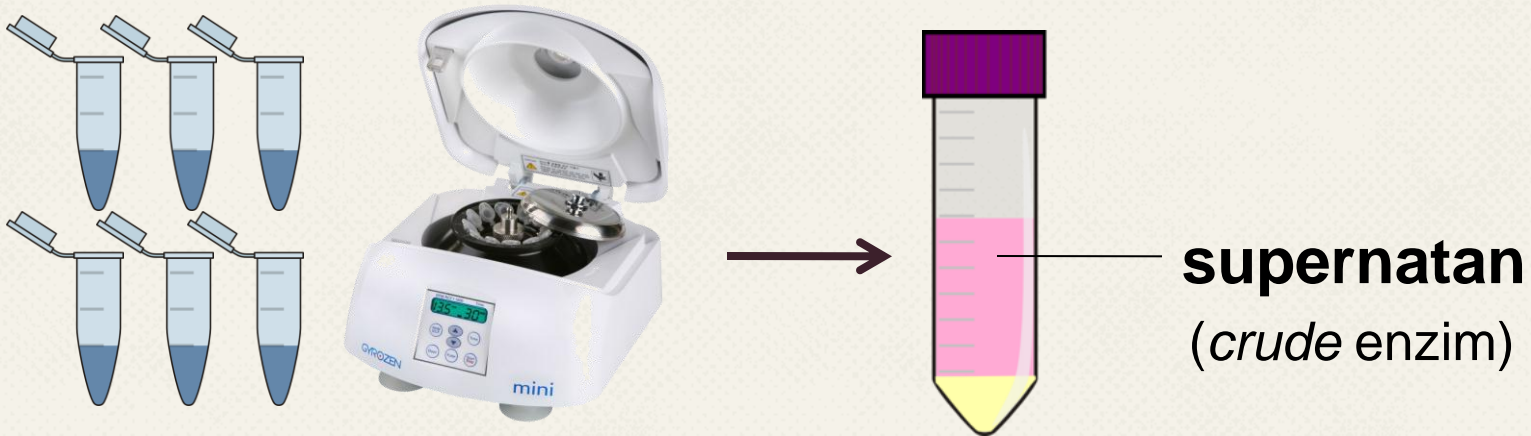
Dibuat kurva standar tirosin



Tiap konsentrasi diukur absorbansinya pada  $\lambda=660$  nm



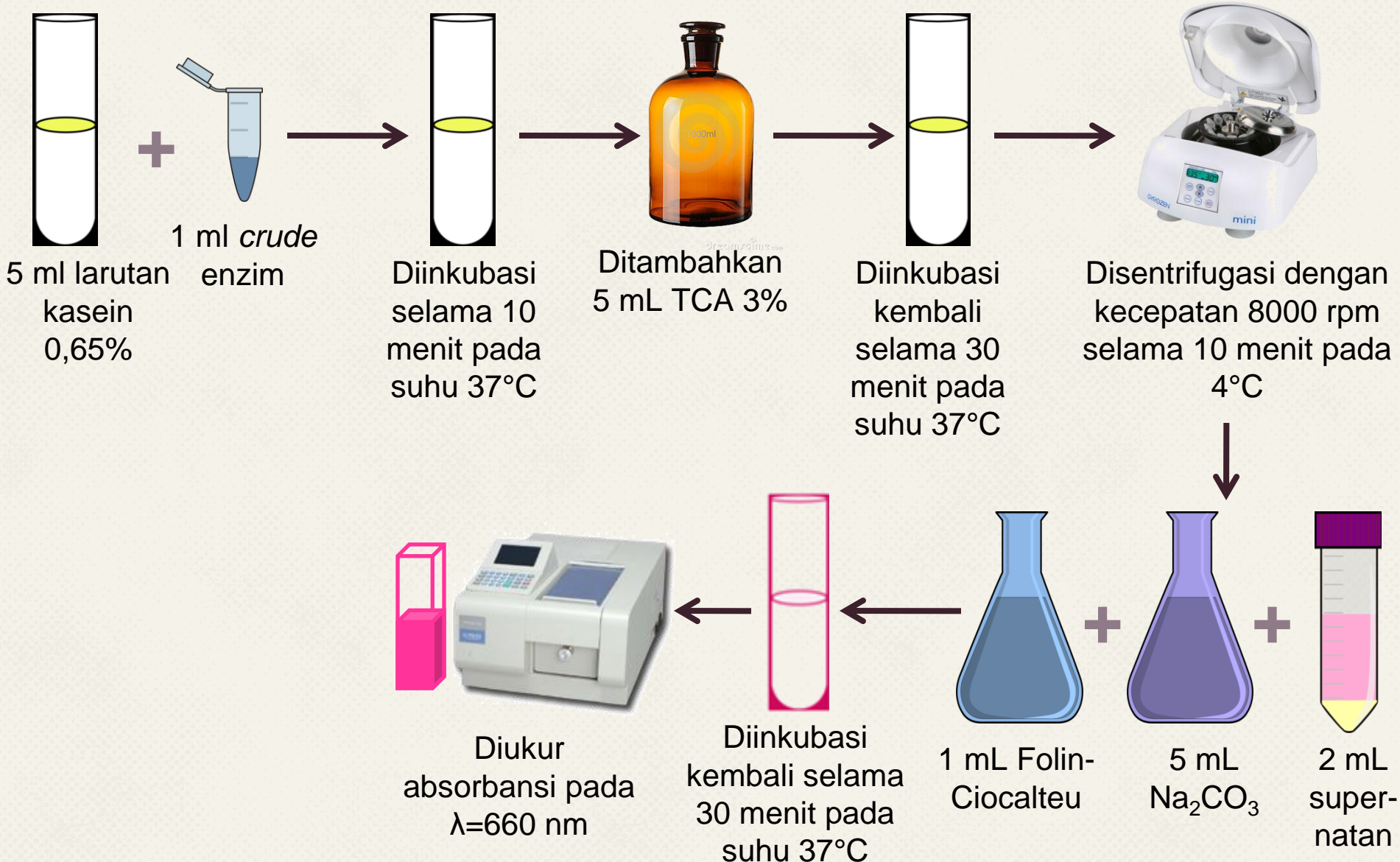
# Produksi Enzim Protease



Kultur produksi disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C



# Uji Aktivitas Enzim Protease







## Uji Aktivitas Enzim Protease

$$UA = \frac{x \cdot V}{a \cdot b \cdot c}$$

Keterangan:

- UA = aktivitas enzim (unit/mL)
- X = konsentrasi tirosin ( $\mu\text{mol}$ )
- V = volume total sampel tiap tabung (mL)
- a = volume enzim (mL)
- b = waktu reaksi (menit)
- c = volume larutan uji (mL)



# Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Desain penelitian menggunakan rancangan faktorial yang terdiri dari dua faktor yang saling dikombinasikan

pH  
(4,5; 7; 9)

Suhu  
(suhu ruang; 45°; 55°C)

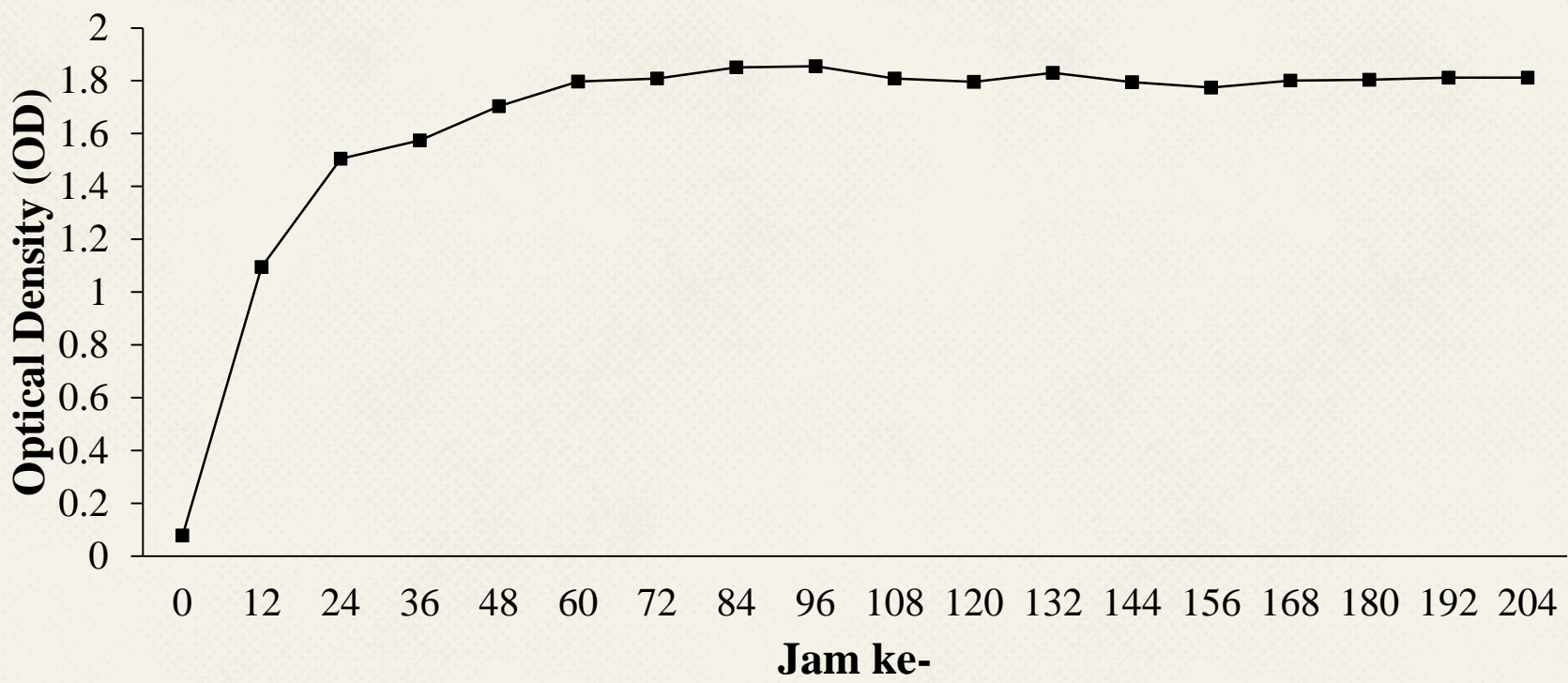
Data aktivitas enzim dari optimasi suhu dan pH dianalisis secara deskriptif kuantitatif dan diperkuat dengan analisis secara statistik menggunakan Anova Two Way

Masa inkubasi  
(0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 jam)

Data aktivitas enzim dari optimasi masa inkubasi dianalisis secara deskriptif kuantitatif



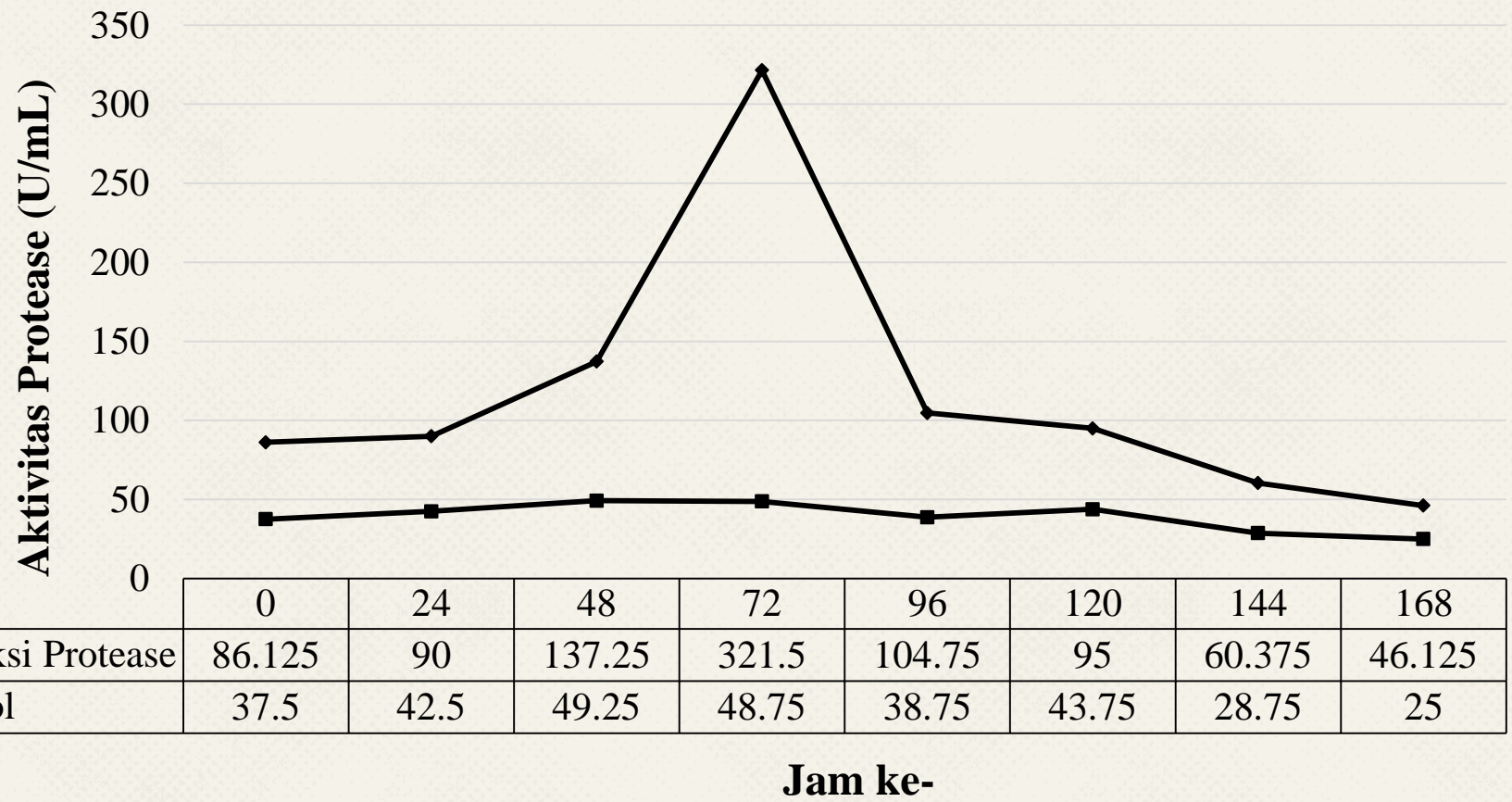
# Kurva Pertumbuhan *Candida* G.3.2



- Tidak ditemukan fase lag
- $\mu$  jam = 30 jam



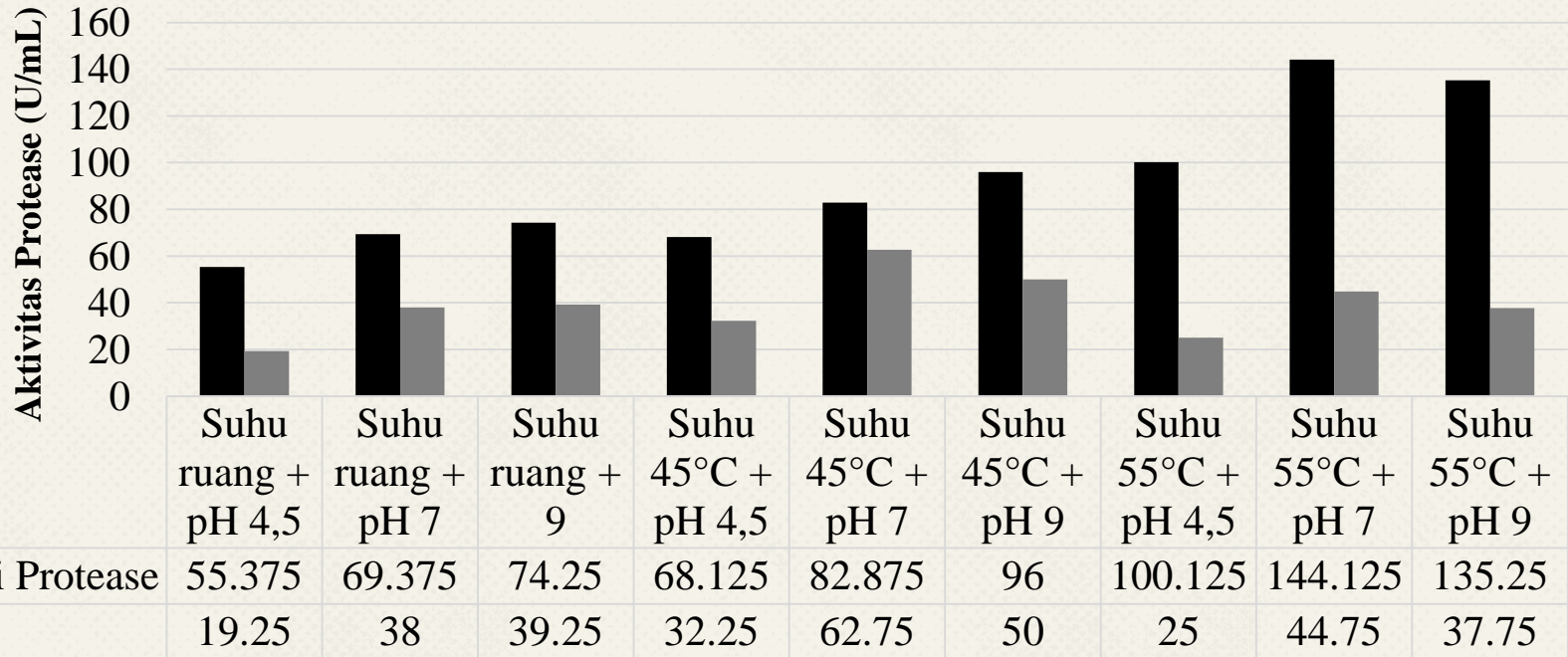
# Optimasi Masa Inkubasi



Terjadi peningkatan aktivitas protease dari jam ke-0 sebesar 86,125 U/mL hingga mencapai aktivitas protease optimal pada **jam ke-72** sebesar **321,5 U/mL**. Setelah itu aktivitas protease menurun secara bertahap sampai jam ke 168 hingga mencapai nilai aktivitas sebesar 46,125 U/mL.



# Optimasi Suhu dan pH



## Perlakuan

- Hasil uji Anova = terdapat pengaruh antara suhu dengan aktivitas protease (P-value 0,000) dan antara pH dengan aktivitas protease (P-value 0,039).
- Hasil uji Tukey = suhu 55°C berbeda signifikan dengan suhu ruang dan 45°C. pH 9 berbeda signifikan dengan pH 4,5 namun tidak berbeda signifikan dengan pH 7.
- Kombinasi suhu dan pH untuk produksi protease optimal adalah **suhu 55°C dan pH 7** dengan nilai aktivitas enzim sebesar **144,125 U/mL**.



# KESIMPULAN dan SARAN

## Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian optimasi produksi enzim protease dari *Candida* G.3.2 adalah *Candida* G.3.2 mampu memproduksi enzim protease secara optimal pada masa inkubasi 72 jam dengan nilai aktivitas sebesar 321,5 U/mL. Kombinasi suhu dan pH yang optimal untuk produksi enzim protease adalah pada suhu 55°C dan pH 7 dengan nilai aktivitas sebesar 144,125 U/mL.

## Saran

1. Perlu penelitian lanjutan mengenai faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi produksi enzim protease.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai purifikasi dan karakterisasi enzim protease yang diproduksi oleh *Candida* G.3.2.

---

**Terima Kasih**