

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, laporan tugas akhir dengan berjudul “EVALUASI BIODEGRADASI *MALACHITE GREEN* OLEH BAKTERI KOLEKSI UNIVERSITAS PELITA HARAPAN SERTA ANALISIS METABOLIT YANG DIHASILKAN” dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya.

Laporan tugas akhir ini disusun berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sejak bulan Januari 2018 hingga Juni 2018. Tugas akhir merupakan persyaratan terakhir bagi mahasiswa yang wajib ditempuh sesuai dengan kurikulum Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan. Skripsi ini juga bermanfaat bagi penulis untuk menerapkan pengetahuan yang telah didapat dan memperoleh pengalaman baru yang tidak dapat diperoleh dari perkuliahan.

Dalam penyusunan laporan tugas akhir ini, penulis mendapat dukungan dari banyak pihak. Oleh sebab itu dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

- 1) Bapak Eric Jobiliong, Ph. D., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi;
- 2) Ibu Sunie Rahardja, M.S.C.E., selaku Wakil Dekan Fakultas Sains dan Teknologi;
- 3) Bapak Laurence, MT., selaku Direktur Fakultas Sains dan Teknologi;
- 4) Dr. Reinhard Pinontoan, selaku Ketua Program Studi Biologi dan Dosen Pembimbing Utama atas seluruh dedikasi serta kepercayaannya selama proses penelitian dan pembuatan laporan tugas akhir ini;
- 5) Jap Lucy, M.Sc.Med., selaku Ketua Laboratorium sekaligus Co-Pembimbing atas izin dan kepercayaannya dalam melaksanakan penelitian serta memanfaatkan seluruh alat dan bahan yang ada pada Laboratorium Biologi UPH (B202 dan B407), atas seluruh waktu, saran, serta pembelajaran yang telah diberikan selama proses penelitian dan pembuatan laporan tugas akhir ini;

- 6) Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui skema penelitian unggulan perguruan tinggi 2017 kepada Dr. Reinhard Pinontoan (No. 0419/K3/KM/2017);
- 7) Dosen dan Staf Program Studi Biologi, Ibu Agustina Ika Susanti, Ibu Dela Rosa, Ibu Marcelia Sugata, Kak Joan Christy Wijaya, Kak Valerie, Kak Steven Ryan Susanto, Bapak Michael Gotama, Ibu Astia Sanjaya, Bapak Hans Victor, Bapak Fardiansyah, dan Ibu Stevani;
- 8) Orang tua dan keluarga penulis yang tidak kenal lelah memberikan dukungan moral, materiil dan doa agar penulis dapat menyelesaikan karya tugas akhir ini;
- 9) Febianca, Heidy Dianta Selanno, Yulita Laurensia, dan Vincent Ganda yang selalu memberikan dukungan kepada penulis dalam suka maupun duka;
- 10) Teman-teman Biologi 2014, Alberta Theofila Sugianto, Amanda Atmadja, Andrew Jounatan, Danish Andrian, Delvin, Denny Juvi, Denny Rizkinata, Dikson, Elbert Hartosuwignyo, Jeff Sumitaro, Firliandy Murdaya Eddy, Martinez Nova, Michelle, Michelle Amelia Yuswandi, Paulus Franky Raharjo, Rachael Melati Nalapraya, Rachel Arvy Nabasa, Stefanie Christanti, Steffi Sosa, Sthefanie, Veny Trifena Septiani, dan Yosef Maria Untung yang selama 4 tahun selalu menemani, memberi dukungan, dan membuat masa-masa perkuliahan dan penelitian di Universitas Pelita Harapan menjadi lebih berwarna;
- 11) Senior serta adik kelas Program Studi Biologi yang telah memberi semangat dalam mengerjakan tugas akhir;
- 12) Teman-teman Himpunan Mahasiswa Biologi Angkatan 2015/2016;
- 13) Vania, Cindy, Syelvi, dan teman-teman SMA Strada St. Thomas Aquino yang telah mendukung;
- 14) Renny Magdalena yang telah membantu penulis dalam pemeriksaan terakhir penulisan tugas akhir; serta
- 15) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang sudah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam pembuatan tugas akhir ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa laporan tugas akhir ini masih sangat jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka akan kritik dan saran dari pembaca yang dapat membantu membuat laporan tugas akhir ini menjadi lebih baik lagi. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi para pembacanya.

Tangerang, 24 Agustus 2018

Milka Theresia



DAFTAR ISI

halaman

HALAMAN JUDUL	
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TUGAS AKHIR	
PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING	
PERSETUJUAN TIM PENGUJI TUGAS AKHIR	
ABSTRACT.....	v
ABSTRAK.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pewarna <i>Malachite Green</i> (MG).....	5
2.2 Aplikasi <i>Malachite Green</i>	6
2.3 Toksisitas <i>Malachite Green</i>	7
2.4 Biodegradasi <i>Malachite Green</i>	8
2.5 Mekanisme Biodegradasi <i>Malachite Green</i>	11
2.6 Enzim yang Berperan dalam Biodegradasi <i>Malachite Green</i>	15
2.7 Metode Analisis Metabolit.....	19
BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan.....	22
3.2 Prosedur Penelitian.....	23
3.2.1 Seleksi Isolat Pendekolorisasi Koleksi UPH.....	25
3.2.2 Karakterisasi Suhu Optimum.....	26
3.2.3 Pengaruh Konsentrasi Pewarna MG dan Volume Medium Terhadap Kemampuan Dekolorisasi.....	26
3.2.4 Produksi dan Presipitasi Enzim.....	27
3.2.5 <i>Enzyme Assay</i>	28
3.2.6 Analisis Metabolit Hasil Biodegradasi.....	29
3.2.7 Uji Toksisitas Metabolit.....	30
3.2.8 Uji Kemampuan Dekolorisasi MG oleh Enzim.....	30
3.2.9 Analisis Statistik.....	31

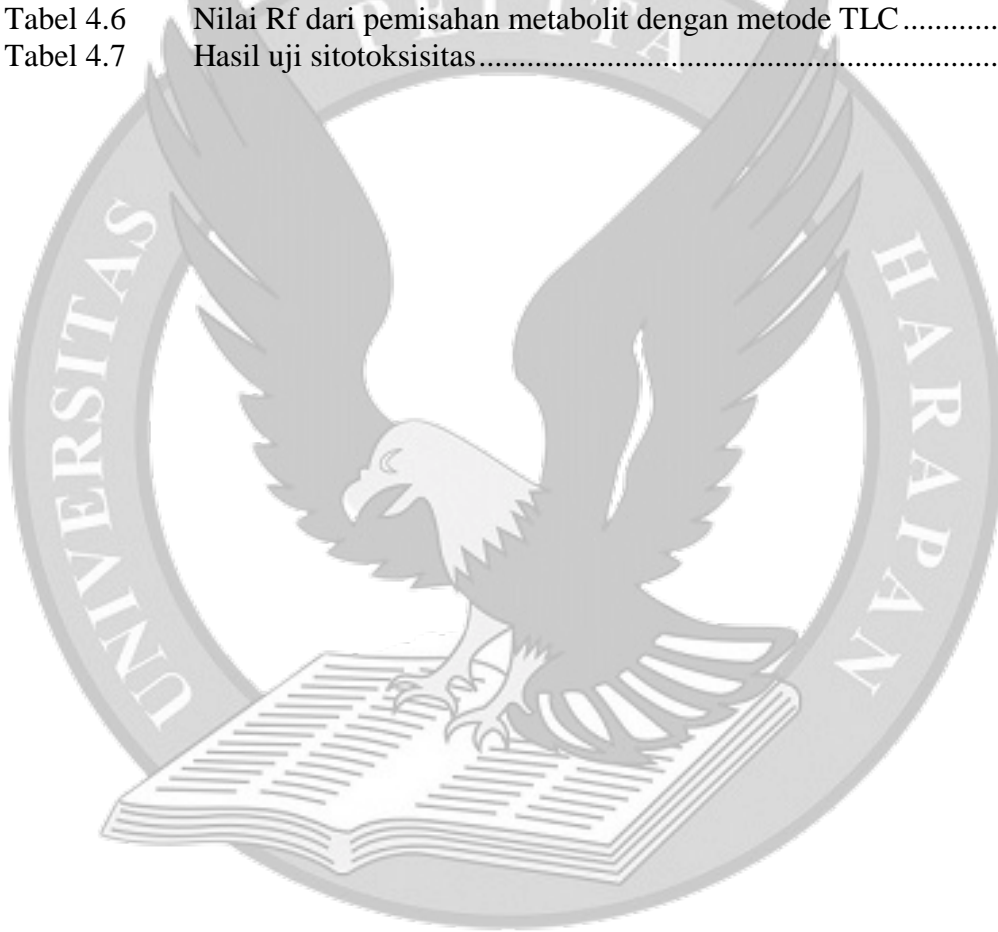
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Seleksi Isolat Pendekolorisasi Koleksi UPH yang Berpotensi dalam Mendekolorisasi <i>Malachite Green</i>	32
4.2 Karakterisasi Suhu Optimum Dekolorisasi	37
4.3 Pengaruh Konsentrasi Pewarna MG dan Volume Medium Terhadap Kemampuan Dekolorisasi	39
4.4 <i>Enzyme Assay</i>	44
4.5 Analisis Metabolit Hasil Dekolorisasi.....	51
4.5.1 Analisis Metabolit dengan Metode TLC	51
4.5.2 Analisis Metabolit dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis	54
4.5.3 Analisis Toksisitas Metabolit dengan Metode Sitotoksisitas	57
4.6 Uji Kemampuan Dekolorisasi MG oleh Enzim	60
4.7 Potensi <i>Enterobacter cloacae</i> M8 dan <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> GYP CV4 Sebagai Agen Bioremediasi <i>Malachite Green</i>	67
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	71
5.2 Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1	Struktur kimia pewarna <i>malachite green</i> 5
Gambar 2.2	Proses degradasi <i>malachite green</i> 13
Gambar 2.3	Proses degradasi <i>malachite green</i> oleh enzim lakase 15
Gambar 2.4	Reaksi yang dikatalis lignin peroksidase 17
Gambar 2.5	Reaksi yang dikatalis NADH-DCIP reduktase..... 18
Gambar 2.6	Reaksi yang dikatalis MG reduktase 19
Gambar 2.7	Perbandingan kurva MG dengan LMG pada spektrofotometer UV-Vis 20
Gambar 2.8	Pemisahan MG dan metabolit hasil degradasinya dengan metode TLC 21
Gambar 3.1	Diagram alur penelitian 24
Gambar 4.1	Hasil inokulasi titik isolat koleksi UPH pada medium NA + 0,005 % MG selama 48 jam 34
Gambar 4.2	Hasil inokulasi isolat koleksi UPH pada medium NB + MG 0,01 % selama 48 jam 35
Gambar 4.3	Hasil karakteristik suhu optimum..... 38
Gambar 4.4	Persentase dekolorisasi uji karakteristik suhu 38
Gambar 4.5	Hasil pengujian pengaruh konsentrasi pewarna 40
Gambar 4.5	Hasil uji volume medium terhadap kemampuan dekolorisasi 43
Gambar 4.7	Hasil pemisahan protein ekstraseluler dalam SDS-PAGE 47
Gambar 4.8	Hasil pengujian enzim dengan <i>pyrogallol</i> pada 1,5 % <i>bacteriological agar</i> 50
Gambar 4.9	Hasil pemisahan metabolit dengan metode TLC 52
Gambar 4.10	Hasil analisis metabolit dengan metode spektrofotometer UV-Vis..... 55
Gambar 4.11	Hasil aplikasi <i>crude</i> dan presipitat enzim untuk dekolorisasi pewarna MG pada medium agar 61
Gambar 4.12	Hasil aplikasi <i>crude enzyme</i> isolat M8 untuk dekolorisasi pewarna MG 63
Gambar 4.13	Hasil aplikasi <i>crude enzyme</i> isolat GYP CV4 untuk dekolorisasi pewarna MG 64
Gambar 4.14	Persentase dekolorisasi dari aplikasi <i>crude enzyme</i> untuk dekolorisasi MG isolat M8 66
Gambar 4.15	Persentase dekolorisasi dari aplikasi <i>crude enzyme</i> untuk dekolorisasi MG isolat GYP CV4 66

DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 4.1	Persentase dekolorisasi keempat isolat..... 36
Tabel 4.2	Persentase dekolorisasi uji pengaruh konsentrasi pewarna 40
Tabel 4.3	Persentase dekolorisasi uji pengaruh volume medium..... 43
Tabel 4.4	Perhitungan berat molekul pita protein yang berhasil dipisahkan dengan SDS-PAGE 48
Tabel 4.5	Perkiraan protein ekstraseluler yang dihasilkan kedua isolat..... 48
Tabel 4.6	Nilai Rf dari pemisahan metabolit dengan metode TLC 52
Tabel 4.7	Hasil uji sitotoksitas 58



DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran A	
Daftar isolat bakteri koleksi UPH yang digunakan pada proses seleksi bakteri	A - 1
Lampiran B	
Daftar komposisi medium, reagen, dan <i>buffer</i> yang digunakan selama penelitian.....	B - 1
Lampiran C	
Persentase dekolorisasi 22 isolat pada tahap seleksi.....	C - 1
Lampiran D	
Data karakterisasi suhu optimum dalam proses dekolorisasi.....	D - 1
Lampiran E	
Data hasil pengujian pengaruh konsentrasi pewarna MG terhadap kemampuan dekolorisasi	E - 1
Lampiran F	
Hasil visualisasi SDS-PAGE dalam menentukan perbandingan presipitasi aseton dan penentuan waktu panen enzim.....	F - 1
Lampiran G	
Kurva standar perhitungan konsentrasi protein total dan data perhitungan konsentrasi protein total pada enzim	G - 1
Lampiran H	
Data kurva standar perhitungan berat molekul hasil pemisahan sampel dengan SDS-PAGE.....	H - 1
Lampiran I	
Metabolit yang digunakan untuk analisis TLC dan uji sitotoksitas .I - 1	
Lampiran J	
Grafik pemindaian panjang gelombang <i>nutrient broth</i> dalam air pada spektrofotometer UV-Vis	J - 1
Lampiran K	
Data mentah hasil uji sitotoksitas.....	K - 1
Lampiran L	
Persentase dekolorisasi dari aplikasi <i>crude enzyme</i>	L - 1