

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, laporan tugas akhir dengan berjudul “EVALUASI DEKOLORISASI *METHYLENE BLUE* OLEH BAKTERI KOLEKSI UNIVERSITAS PELITA HARAPAN YANG DIKULTUR DALAM MEDIUM BEKATUL” dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya.

Laporan tugas akhir ini disusun berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sejak Agustus 2017 hingga Januari 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 karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- 1) Bapak Eric Jobiliong, Ph. D., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi;
- 2) Ibu Sunie Rahardja, M.S.CE., 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;

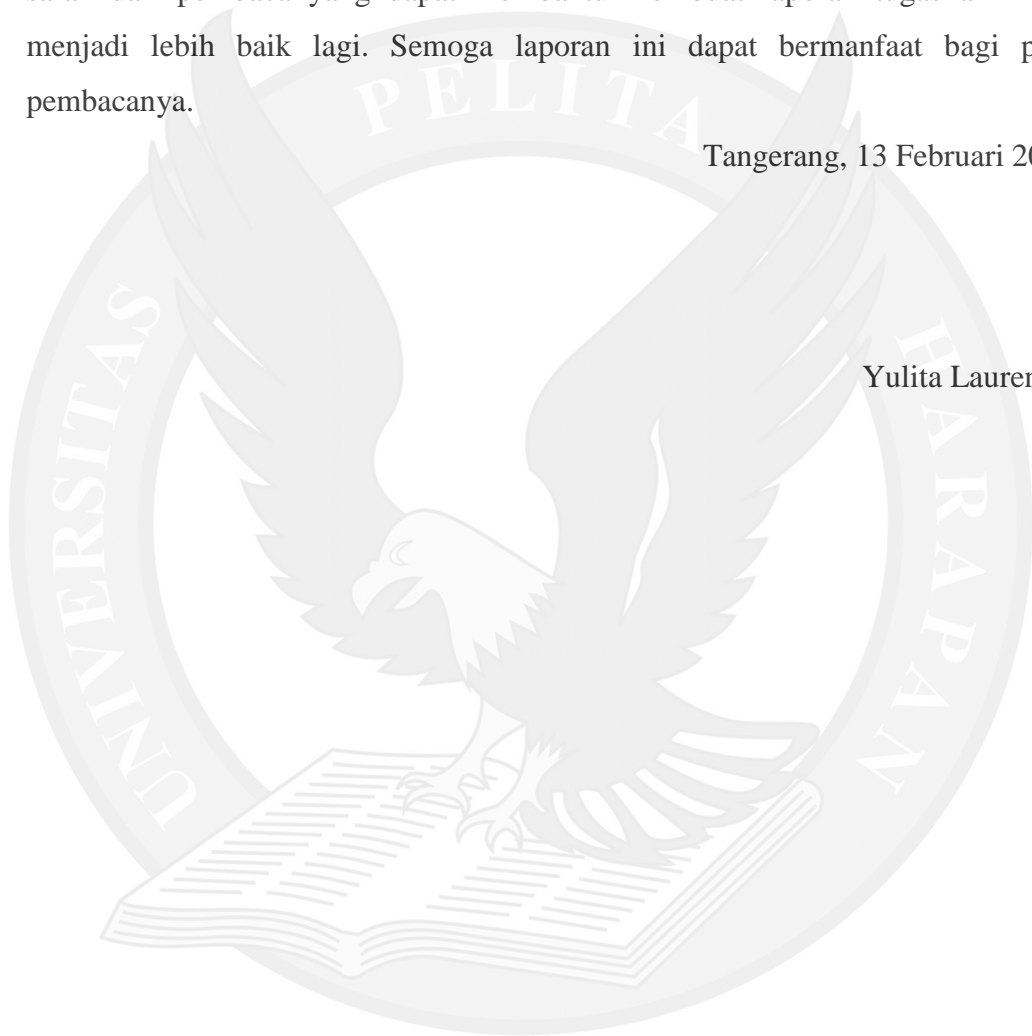
- 6) Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui skema penelitian unggulan perguruan tinggi 2017 kepada Dr. Reinhard Pinontoan (No. 0419/K3/KM/2017);
- 7) Dosen dan Staf Program Studi Biologi, Ibu Agustina Ika Susanti, Ibu Dela Rosa, 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 sanak keluarga penulis yang terus memberi semangat dan dukungan, baik dalam bentuk moral, materiil, serta doa agar penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik;
- 9) Febianca, Milka Theresia, Heidy Dianta Selanno, dan Vincent Ganda yang telah membantu penulis dalam berbagai aspek;
- 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 selalu menemani, memberi dukungan, dan membuat Laboratorium serasa rumah kedua di Universitas Pelita Harapan;
- 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 dan 2016/2017;
- 13) Teman-teman Majelis Perwakilan Mahasiswa Universitas Pelita Harapan (MPM UPH) angkatan 2016/2017;
- 14) Winadi Wiratama selaku teman terkasih yang selalu mendukung dan menemani penulis dalam mengerjakan skripsi di hari libur;
- 15) Lejel HomeShopping yang terdiri dari teman-teman SMA Pahoia yang selalu mendukung;

16) 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, 13 Februari 2018

Yulita Laurensia



# 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.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I    PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
BAB II    TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Fisiologis <i>Methylene Blue</i> .....	5
2.2 Aplikasi <i>Methylene Blue</i> .....	6
2.3 Pencemaran dan Dampak Negatif <i>Methylene Blue</i> .....	7
2.4 Dekolorisasi <i>Methylene Blue</i> .....	7
2.4.1 Reduksi-Oksidasi.....	8
2.4.2 Demetilasi.....	11
2.5 Komposisi Bekatul dan Peranannya dalam Dekolorisasi.....	13
2.5.1 Selulosa.....	14
2.5.2 Hemiselulosa.....	15
2.5.3 Lignin.....	15
2.6 Peranan Mikroorganisme dalam Produksi Enzim Lignolitik..	18
BAB III    MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan.....	20
3.2 Prosedur Penelitian.....	21
3.2.1 Skrining Isolat Bakteri yang Berpotensi dalam Mendekolorisasi <i>Methylene Blue</i> .....	22
3.2.2 Karakterisasi Suhu Dekolorisasi.....	23
3.2.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Potensial	24
3.2.4 Produksi dan Presipitasi Enzim Dekolorisasi.....	24

3.2.5 Uji Enzim.....	25
1) Uji Keberadaan Peroksidase.....	25
2) Uji Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase .....	26
3) Uji Konsentrasi Protein .....	26
4) Analisis Berat Molekul Protein dengan SDS-PAGE .....	27
3.2.6 Penentuan Metabolit Sekunder dengan Spektrofotometer dan TLC .....	28
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	29
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>
4.1 Hasil Skrining Isolat Bakteri yang Berpotensi dalam Mendekolorisasi <i>Methylene Blue</i> .....	31
4.2 Hasil Karakterisasi Suhu Dekolorisasi.....	37
4.3 Hasil Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Potensial	40
4.4 Hasil Uji Keberadaan Peroksidase .....	42
4.5 Hasil Uji Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase .....	44
4.6 Hasil Uji Konsentrasi Protein.....	45
4.7 Hasil Analisis Berat Molekul Protein dengan SDS-PAGE.....	46
4.8 Hasil Penentuan Metabolit Sekunder dengan Spektrofotometer dan TLC.....	48
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>
5.1 Kesimpulan.....	56
5.2 Saran.....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Struktur kimia dari <i>methylene blue</i> .....	5
Gambar 2.2 Reaksi reduksi-oksidasi <i>methylene blue</i> (MB) yang bersifat reversibel .....	8
Gambar 2.3 Perbedaan absorbansi maksimal pada <i>methylene blue</i> yang teroksidasi (MB) dan tereduksi (LMB) .....	9
Gambar 2.4 Perubahan struktur kimia <i>methylene blue</i> terhadap pH.....	10
Gambar 2.5 Perubahan warna pada <i>methylene blue</i> yang dipengaruhi oleh glukosa dan oksigen.....	11
Gambar 2.6 Demetilasi <i>methylene blue</i> menjadi berbagai produk lainnya .....	12
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian secara komprehensif .....	21
Gambar 4.1 Skrining isolat bakteri dengan inokulasi titik pada medium NA + 0,005 % MB yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 72 jam .....	31
Gambar 4.2 Skrining isolat bakteri dengan inokulasi titik pada medium NA + 0,005 % MB yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3 × 24 jam.....	32
Gambar 4.3 Skrining isolat bakteri dengan metode gores pada medium NA + 0,005 % MB yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 hari dan 9 hari.....	34
Gambar 4.4 Hasil inokulasi keempat isolat bakteri pada medium cair NB + 0,005% MB selama 48 jam.....	35
Gambar 4.5 Hasil inokulasi keempat isolat bakteri pada 0,5 % medium cair bekatul + 0,005% MB .....	36
Gambar 4.6 Hasil dekolorisasi 0,5 % medium bekatul + 0,005 % MB oleh KMB 2 yang diinkubasi pada berbagai suhu (25 °C, 30 °C, 35 °C, dan 40 °C) selama 72 jam.....	37
Gambar 4.7 Persentase dekolorisasi <i>methylene blue</i> (0,005 %) pada 0,5 % medium bekatul pada berbagai suhu dengan waktu inkubasi 72 jam .....	38
Gambar 4.8 Kurva tumbuh KMB 2 pada medium NB dan 0,5 % bekatul selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan pengukuran A <sub>600</sub> .....	41
Gambar 4.9 Hasil pengujian enzim yang diproduksi pada suhu 25 °C selama 48 jam dengan <i>pyrogallol</i> pada 1,5 % <i>bacteriological agar</i> .....	43
Gambar 4.10 Hasil SDS-PAGE <i>crude enzyme</i> dan presipitat enzim yang dipanen selama 48 jam pada suhu 25 °C dalam 0,5 % medium bekatul + 0,005 % MB .....	46
Gambar 4.11 Spektrofotometer hasil pengukuran <i>wavescan methylene blue</i> 0,0025 % pada air steril dengan Biodrop .....	49
Gambar 4.12 Spektrofotometer hasil pengukuran <i>wavescan methylene blue</i> 0,005 % pada medium bekatul dengan Biodrop.....	50

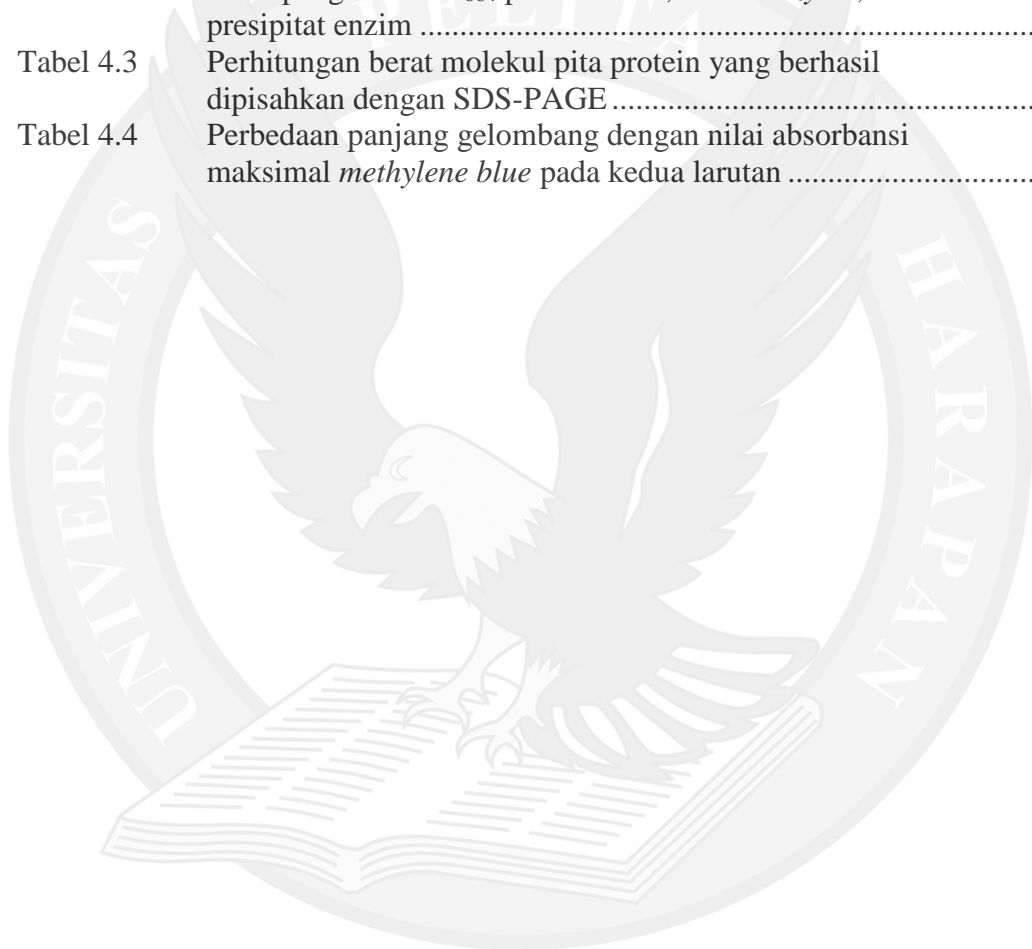
Gambar 4.13 Hasil *wavescan* dekolorisasi *methylene blue* oleh KMB 2 pada berbagai suhu inkubasi selama 72 jam dengan panjang gelombang 230 – 800 nm .....52

Gambar 4.14 Hasil pemisahan metabolit sekunder melalui TLC .....54



## DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 2.1	Perbandingan ketiga enzim berdasarkan berbagai parameter ..... 18
Tabel 3.1	Hasil perhitungan nilai log berat molekul dan Rf pada ketiga pita protein pada <i>marker</i> ..... 28
Tabel 4.1	Rata-rata persentase dekolorisasi <i>methylene blue</i> pada berbagai suhu serta pengujian pH..... 38
Tabel 4.2	Hasil pengukuran $A_{664}$ pada kontrol, <i>crude enzyme</i> , dan presipitat enzim ..... 44
Tabel 4.3	Perhitungan berat molekul pita protein yang berhasil dipisahkan dengan SDS-PAGE ..... 47
Tabel 4.4	Perbedaan panjang gelombang dengan nilai absorbansi maksimal <i>methylene blue</i> pada kedua larutan ..... 51





## DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran A	
Daftar isolat bakteri koleksi UPH yang digunakan pada proses skrining bakteri .....	A - 1
Lampiran B	
Daftar komposisi medium, reagen, dan <i>buffer</i> yang digunakan selama proses penelitian .....	B - 1
Lampiran C	
Data hasil karakterisasi suhu beserta perubahan pH dekolonisasi pada medium bekatul .....	C - 1
Lampiran D	
Data kurva pertumbuhan pada medium NB dan medium bekatul.....	D - 1
Lampiran E	
Data pengukuran absorbansi $A_{664}$ pada 0 jam dan 24 jam pada pengujian aktivitas lignin peroksidase .....	E - 1
Lampiran F	
Kurva standar perhitungan konsentrasi protein total dan data perhitungan konsentrasi protein total pada enzim.....	F - 1
Lampiran G	
Data kurva standar perhitungan berat molekul hasil pemisahan sampel dengan SDS-PAGE .....	G - 1
Lampiran H	
Data hasil pengukuran nilai Rf pada masing-masing titik.....	H - 1