

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas pertolonganNya, laporan tugas akhir dengan judul “KARAKTERISASI ENZIM KITINASE INTRASELULER DARI BAKTERI *Providencia stuartii*” dapat selesai dengan baik.

Laporan ini dibuat melalui penelitian selama 5 bulan, sejak Januari 2017 hingga Mei 2017. Tugas akhir ini adalah persyaratan terakhir bagi mahasiswa yang wajib diselesaikan sesuai kurikulum Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan. Skripsi ini berguna bagi Penulis untuk mempraktekan ilmu pengetahuan yang telah diajarkan selama masa perkuliahan.

Selama penyusunan laporan tugas akhir ini, banyak pihak yang telah membantu Penulis. Oleh karena itu, Penulis mengucapkan terima kasih 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, S.T., M.T. selaku Direktur Fakultas Sains dan Teknologi
4. Bapak Ir. W. Donald R. Pokatong, M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Teknologi Pangan yang telah membantu perkuliahan Penulis
5. Ibu Ratna Handayani, MP., selaku Wakil Ketua Program Studi Teknologi Pangan yang telah membimbing dan membantu dalam perkuliahan saya
6. Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS. selaku pembimbing tugas akhir Penulis yang selalu membimbing dan membantu Penulis selama penelitian
7. Ibu Titri Siratantri Mastuti, S.T., M.Si. selaku co-pembimbing tugas akhir Penulis yang membantu dan membimbing saya selama penelitian
8. Bapak Yosafat Rudju, Bapak Adi, Bapak Adzie, dan Bapak Darius selaku laboran yang telah mendukung Penulis selama melakukan penelitian di laboratorium
9. Orang tua dan adik tercinta, Valen, yang selalu mendoakan dan memberi semangat.
10. Elva Celia selaku teman yang selalu mendoakan dan memberi semangat.

11. Om Akim dan tante Janha yang selalu membantu Penulis dan meminjamkan printer untuk menyelesaikan tugas akhir.
12. Elisa, Desi, Reinald, Gerardo, Felicia, Nicholas selaku teman-teman seperjuangan yang telah banyak berbagi informasi dan membantu Penulis selama penelitian dan pengerjaan laporan tugas akhir ini berlangsung.
13. Ancilla, Angela, Antony, Clara, Bara, Brian, Bryan, Camila, Cfidelia, Ellen, FeliciaWie, Franz, Gabrielle, Steven, Jaron selaku teman - teman seperjuangan dalam menjalani tahap akhir.
14. Jhansen, Katherine, Pingping, Kenny, Malinda, Mario, Marissa, Onel, Nida, Ega, Sonia, Vania, Willy, Kenny, Christoper selaku teman -teman seperjuangan dalam menjalani tahap akhir.
15. Tony, Joyvan, Brandon, Selig, Vito, selaku teman - teman seperjuangan dalam menjalani hidup, yang memberi dukungan dan motivasi.
16. Immanuel, Wilson, Erik, Gary, Stanley, Ryan selaku teman -teman yang selalu menghibur dan memberi dukungan.
17. Samuel, Anthony, Inge, Refina, Ledi, Marlyn, Rosy, Yosa, Dennis selaku teman -teman sekolah yang telah memotivasi dan mendoakan Penulis.
18. Edwin, Andrea, Grazi, Febby, Michelle, 9Vamey, Veronica, Febrico selaku teman - teman UPH yang selalu memotivasi Penulis hingga mampu menyelesaikan segala masalah.
19. Christy, Cecilia selaku senior glukosamin yang membantu mengarahkan Penulis menyelesaikan tugas akhir ini.
20. Wewel, Nathania selaku teman UPH yang memotivasi dan mendoakan penulis.

Semua pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah berjasa dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan tugas akhir.

Akhir kata, saya sadar bahwa laporan tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Penulis sangat terbuka akan segala kritik dan saran. Semoga laporan ini dapat memberikan pengetahuan dan manfaat bagi pembaca.

Tangerang, 26 Juli 2018

Gian Giovanni



# DAFTAR ISI

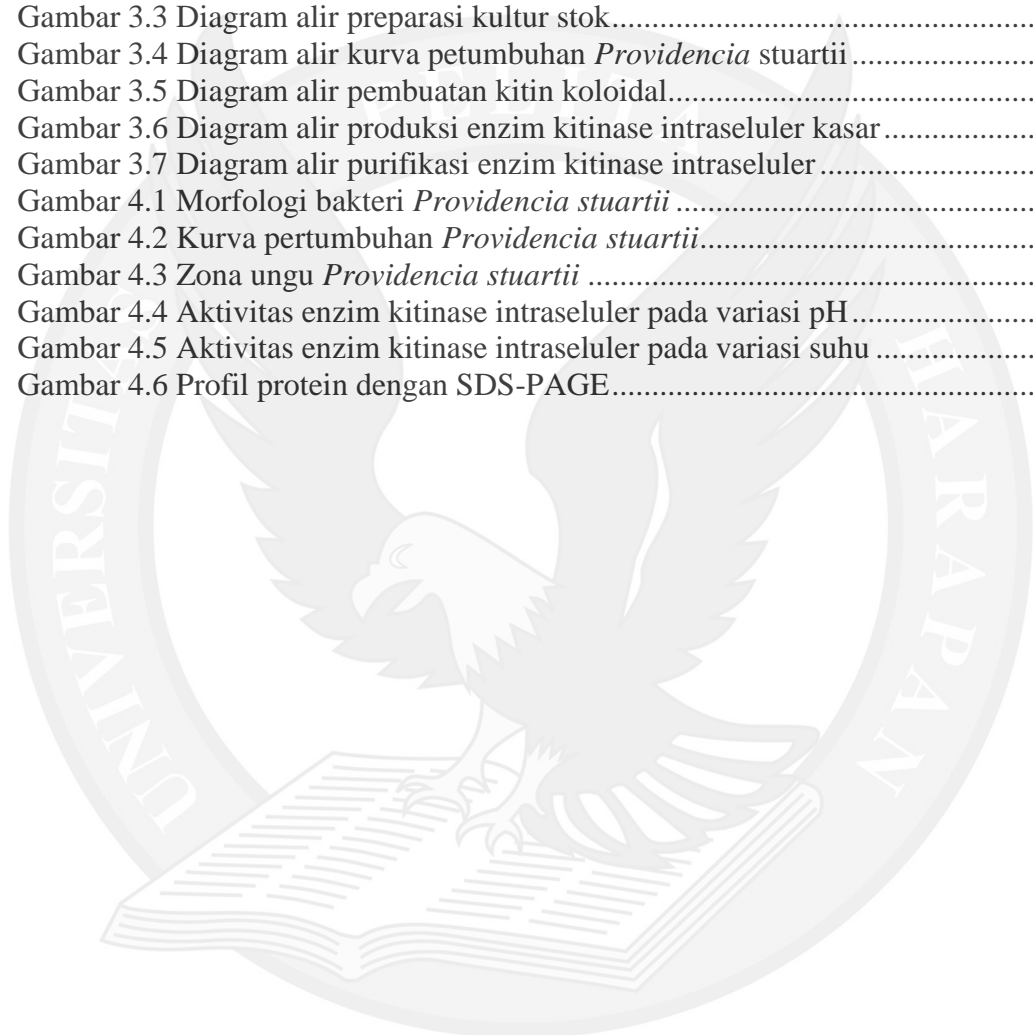
halaman

HALAMAN JUDUL	
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	
PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING TUGAS AKHIR	
PERSETUJUAN DOSEN PEMBIMBING TUGAS AKHIR	
ABSTRACT.....	v
ABSTRAK.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Udang Windu.....	5
2.2 Kitin.....	6
2.3 Enzim Kitinase.....	8
2.4 Produksi dan Purifikasi Enzim Kitinase.....	9
2.5 Karakterisasi Enzim.....	11
2.6 Mikroorganisme Kitinolitik.....	13
BAB III.....	15
METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Bahan dan Alat.....	15
3.2 Metode Penelitian.....	16
3.2.1 Penelitian Tahap I.....	17
3.2.1.1 Prosedur Penelitian.....	18
3.2.1.1.1 Pembuatan Serbuk Kitin (Kolodziejska <i>et al.</i> , 2000).....	18
3.2.1.1.2 Preparasi Kultur Stok (Park <i>et al.</i> , 1999).....	20
3.2.1.1.3 Pewarnaan Gram (Fitri <i>et al.</i> , 2011).....	21
3.2.1.1.4 Kurva Pertumbuhan <i>Providencia stuartii</i> (Magdalena dan Kusnadi, 2015).....	22
3.2.1.1.5 Preparasi Kitin Koloidal (Widhyastuti, 2007 ; Thiagarajan <i>et al.</i> , 2011).....	23

3.2.1.2.6 Produksi Enzim Kitinase Intraseluler dari <i>Providencia stuartii</i> (Chasanah, 2004).....	24
3.2.1.2.7 Purifikasi Enzim Kitinase Intraseluler (Harris dan Angal, 1989; Haliza., 2013).....	26
3.2.2 Penelitian Tahap II.....	27
3.2.2.1 Prosedur Penelitian.....	28
3.2.2.1.1 Kurva Standar N-asetilglukosamin (Rahmansyah dan Sudiana, 2003) .....	28
3.2.2.1.2 Penentuan pH Optimum Enzim Kitinase (Wangtueai, 2007 ; Rahmansyah dan Sudiana, 2003) .....	28
3.2.2.1.3 Penentuan Suhu Optimum Enzim Kitinase (Wangtueai, 2007 ; Rahmansyah dan Sudiana, 2003) .....	29
3.2.2.1.4 Penentuan Berat Molekul dengan Elektroforesis.....	30
3.3 Prosedur Analisis Parameter .....	32
3.3.1 Indeks Kitinolitik (Suryadi <i>et al.</i> , 2013 ; Wongjiratthiti dan Yottakot, 2017) .....	32
3.3.2 Kadar Air (AOAC, 2005).....	33
3.3.3 Kadar Abu (AOAC, 2005).....	34
3.3.4 Kadar Protein (Bradford, 1976) .....	34
3.3.4 Derajat Deasetilasi (Biskup <i>et al.</i> , 2012) .....	35
3.3.5 Penentuan Akitivitas Enzim Kitinase (Orinda, 2015).....	36
BAB IV .....	37
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Penelitian Tahap I .....	37
4.1.1 Hasil Analisis Serbuk Kulit Udang Windu dan Serbuk Kitin.....	37
4.1.11 Rendemen Serbuk Kulit Udang Windu dan Serbuk Kitin .....	38
4.1.12 Kadar Air Serbuk Kulit Udang Windu dan Serbuk Kitin .....	39
4.1.13 Kadar Abu Serbuk Kulit Udang Windu dan Serbuk Kitin.....	40
4.1.14 Kadar Protein Serbuk Kulit Udang Windu .....	42
4.1.15 Derajat Deasetilasi Serbuk Kitin.....	43
4.1.2 Karakterisasi <i>Providencia stuartii</i> .....	44
4.1.2.1 Morfologi Bakteri .....	44
4.1.2.2 Kurva Pertumbuhan .....	45
4.1.2.3 Indeks Kitinolitik .....	47
4.2 Penelitian Tahap II .....	48
4.2.1 Aktivitas Enzim Kitinase Intraseluler .....	48
4.2.1.1 pH Optimum .....	49
4.2.1.2 Suhu Optimum .....	51
4.2.2 Berat Molekul Enzim Kitinase Intraseluler .....	52
BAB V.....	55
KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1 Kesimpulan .....	55
5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA .....	56
LAMPIRAN	

## DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 2.1 Morfologi udang windu.....	5
Gambar 2.2 Struktur kimia kitin .....	8
Gambar 3.1 Diagram alir keseluruhan .....	17
Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan serbuk kitin .....	19
Gambar 3.3 Diagram alir preparasi kultur stok.....	21
Gambar 3.4 Diagram alir kurva pertumbuhan <i>Providencia stuartii</i> .....	23
Gambar 3.5 Diagram alir pembuatan kitin koloidal.....	24
Gambar 3.6 Diagram alir produksi enzim kitinase intraseluler kasar .....	25
Gambar 3.7 Diagram alir purifikasi enzim kitinase intraseluler .....	27
Gambar 4.1 Morfologi bakteri <i>Providencia stuartii</i> .....	44
Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan <i>Providencia stuartii</i> .....	46
Gambar 4.3 Zona ungu <i>Providencia stuartii</i> .....	47
Gambar 4.4 Aktivitas enzim kitinase intraseluler pada variasi pH.....	50
Gambar 4.5 Aktivitas enzim kitinase intraseluler pada variasi suhu .....	51
Gambar 4.6 Profil protein dengan SDS-PAGE.....	53



## DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 4.1 Parameter serbuk kulit udang windu dan serbuk kitin.....	38
Tabel 4.2 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim kitinase pada setiap tahap purifikasi.....	49
Tabel 4.3 Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim kitinase pada setiap tahap purifikasi.....	49



## DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran A	
Gambar A.1 Hasil identifikasi sampel utama .....	A-1
Gambar A.2 Kulit udang windu .....	A-2
Lampiran B.	
Gambar B.1 serbuk kulit udang windu .....	B-1
Gambar B.2 Demineralisasi serbuk kulit udang windu .....	B-1
Tabel B.1 Rendemen serbuk kulit udang windu .....	B-2
Tabel B.2 Kadar air serbuk kulit udang windu .....	B-3
Tabel B.3 Kadar abu serbuk kulit udang windu .....	B-4
Tabel B.4 Kurva standar protein .....	B-4
Gambar B.3 Grafik kurva standar protein .....	B-5
Tabel B.5 Kadar protein serbuk kulit udang windu .....	B-6
Lampiran C	
Gambar C.1 Deproteinasi .....	C-1
Gambar C.2 Serbuk kitin .....	C-2
Gambar C.3 Kitin koloidal .....	C-3
Tabel C.1 Rendemen serbuk kitin .....	C-3
Tabel C.2 Kadar air serbuk kitin .....	C-4
Tabel C.3 Kadar abu serbuk kitin .....	C-4
Tabel C.4 Kadar protein serbuk kitin .....	C-5
Gambar C.4 Derajat deasetilasi serbuk kitin .....	C-7
Lampiran D	
Gambar D.1 Morfologi bakteri <i>Providencia stuartii</i> .....	D-1
Tabel D.1 Kurva pertumbuhan bakteri <i>Providencia stuartii</i> .....	D-2
Tabel D.2 Indeks kitinolitik <i>Providencia stuartii</i> .....	D-4
Lampiran E	
Gambar E.1 Ekstrak enzim kasar .....	E-1
Gambar E.2 Enzim setelah proses pengendapan amonium Sulfat 70% .....	E-1
Gambar E.3 Enzim setelah dialisis .....	E-2
Tabel E.1 Kurva standar N-asetilglukosamin (540 nm) .....	E-2
Gambar E.4 Grafik kurva standar N-asetilglukosamin (540 nm) .....	E-3
Tabel E.2 Aktivitas enzim kitinase pada variasi pH .....	E-4
Tabel E.3 Aktivitas enzim kitinase pada variasi suhu .....	E-7
Gambar E.5 Berat molekul enzim kitinase dengan SDS-PAGE .....	E-10
Gambar E.6 Profil Protein dengan <i>Coomasie Blue</i> .....	E-11
Tabel E.4 Jarak pita dan log berat molekul protein <i>marker</i> .....	E-12
Gambar E.7 Kurva persamaan linier protein <i>marker</i> .....	E-12
Tabel E.5 Berat molekul enzim kitinase intraseluler .....	E-13