

PENAPISAN DAN KARAKTERISASI ENZIM AGARASE DARI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN RUMPUT LAUT DI PERAIRAN TIHI-TIHI

NADIA ULFA



**PROGRAM STUDI BOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Penapisan dan Karakterisasi Enzim Agarase dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut di Perairan Tihi-Tihi” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Nadia Ulfa
G8501241014

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- 

RINGKASAN

NADIA ULFA. Penapisan dan Karakterisasi Enzim Agarase dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut di Perairan Tihi-Tihi. Dibimbing oleh MEGA SAFITHRI, DIMAS ANDRIANTO dan FAHRURROZI.

Peningkatan industri rumput laut di Indonesia berdampak pada meningkatnya limbah agar yang mencapai 65–75% dari bahan baku, sehingga diperlukan solusi berkelanjutan dalam penanganannya. Enzim agarase yang diproduksi oleh bakteri laut menjadi alternatif potensial karena mampu menghidrolisis limbah agar menjadi oligosakarida bernilai tinggi yang bermanfaat sebagai antioksidan, probiotik, bahan kosmetik, dan *biofuel*. Penelitian ini memanfaatkan isolat bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut dari perairan Tihi-Tihi, Bontang, Kalimantan Timur sebagai sumber enzim agarase yang berpotensi dikembangkan untuk mendukung pengolahan limbah rumput laut secara efisien. Penapisan 62 isolat bakteri menghasilkan 28 isolat agarolitik; lima isolat paling efektif, berdasarkan indeks agarolitiknya, adalah *Vibrio alginolyticus* (1,412), *Vibrio jasicida* (1,263), *Vibrio* sp. (1,212), *Vibrio harveyi* (1,164), dan *Vibrio* sp. (1,121). *Vibrio alginolyticus* dipilih untuk produksi dan karakterisasi lebih lanjut. Kurva pertumbuhan menunjukkan empat fase pertumbuhan, dengan fase eksponensial terjadi antara jam ke-4 dan ke-16, sedangkan aktivitas enzim tertinggi tercatat setelah 24 jam inkubasi sebesar 0,252 U/mL. Pemurnian parsial menggunakan presipitasi amonium sulfat (60%) dan dialisis meningkatkan tingkat pemurnian menjadi 1,7 kali lipat, dengan aktivitas spesifik sebesar 0,0035 U/mg. Analisis SDS-PAGE terhadap fraksi yang telah didialisis menunjukkan empat pita protein dengan berat molekul 25,6, 15,8, 10,4, dan 9,0 kDa. Pemurnian lebih lanjut dengan Kromatografi Pertukaran Ion (IEC) menghasilkan aktivitas tertinggi pada Puncak 2 (Fraksi 12–13) sebesar 0,632 U/mL. Karakterisasi ekstrak enzim kasar menunjukkan aktivitas optimal pada pH 9 menggunakan *buffer* Tris-HCl dan pada suhu 50°C. Ion Fe^{2+} berfungsi sebagai aktivator, dengan peningkatan aktivitas terbesar teramati pada konsentrasi 10 mM, sebaliknya, K^+ , Ni^{2+} , Cu^{2+} , dan EDTA umumnya menurunkan aktivitas enzim. Ekstrak kasar enzim agarase menunjukkan toleransi yang kuat terhadap surfaktan SDS, dengan peningkatan aktivitas yang signifikan pada konsentrasi 5%, sedangkan Tween 80 dan Triton X-100 menunjukkan efek yang lebih kecil.

Uji spesifisitas substrat memperoleh aktivitas tertinggi pada karagenan (1,50 U/mL), dibandingkan dengan natrium alginat (0,30 U/mL) dan agarosa (0,18 U/mL), yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar masih mengandung campuran enzim ekstraseluler. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa isolat *Vibrio alginolyticus* dari perairan Tihi-Tihi merupakan kandidat yang kuat sebagai sumber enzim agarase yang bekerja secara efektif dalam kondisi alkali, memiliki titik optimum termal pada suhu tinggi, dan toleran terhadap surfaktan anionik, sehingga mendukung potensinya untuk pengembangan lebih lanjut dalam industri pengolahan limbah rumput laut.

Kata kunci: oligosakarida, kadar protein, pemurnian parsial, *Vibrio alginolyticus*



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

SUMMARY

NADIA ULFA. Screening and Characterization of Agarase Enzymes from Bacteria Associated with Seaweed in the Waters of Tihi-Tihi. Advised by MEGA SAFITHRI, DIMAS ANDRIANTO, and FAHRURROZI.

The expansion of the seaweed industry in Indonesia has led to a significant increase in agar waste, reaching 65–75% of raw materials, necessitating sustainable solutions for its management. Agarase enzymes produced by marine bacteria represent a promising alternative, as they are capable of hydrolyzing agar waste into high-value oligosaccharides with beneficial properties such as antioxidant, probiotic, cosmetic, and *biofuel* applications. This study utilized bacterial isolates associated with seaweed from Tihi-Tihi waters, Bontang, East Kalimantan, as a source of agarase enzyme with potential for development in supporting efficient seaweed waste processing. Screening of 62 bacterial isolates yielded 28 agarolytic isolates; the five most effective isolates, based on their agarolytic index, were *Vibrio alginolyticus* (1.412), *Vibrio jasicida* (1.263), *Vibrio* sp. (1.212), *Vibrio harveyi* (1.164), and *Vibrio* sp. (1.121). *Vibrio alginolyticus* was selected for further production and characterization. The growth curve showed four growth phases, with the exponential phase occurring between the 4th and 16th hours, while the highest enzyme activity was recorded after 24 hours of incubation at 0.252 U/mL. Partial purification using ammonium sulfate precipitation (60%) and dialysis increased the purification level 1.7-fold, with a specific activity of 0.0035 U/mg. SDS-PAGE analysis of the dialyzed fraction revealed four protein bands with molecular weights of 25.6, 15.8, 10.4, and 9 kDa. Further purification by Ion Exchange Chromatography (IEC) yielded the highest activity at *peak* 2 (Fractions 12–13) at 0.632 U/mL. Characterization of the crude enzyme extract revealed optimal activity at pH 9 using Tris-HCl *buffer* and at 50°C. Fe²⁺ ions act as an activator, with the greatest increase in activity observed at a concentration of 10 mM; conversely, K⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, and EDTA generally reduce enzyme activity. The crude agarase enzyme extract exhibited strong tolerance to the surfactant SDS, with a significant increase in activity at a 5% concentration, whereas Tween 80 and Triton X-100 had a smaller effect.

Substrate specificity testing revealed the highest activity with carrageenan (1.50 U/mL), compared to sodium alginate (0.30 U/mL) and agarose (0.18 U/mL), indicating that the crude extract still contains a mixture of extracellular enzymes. Overall, these results indicate that the *Vibrio alginolyticus* isolate from the Tihi-Tihi waters is a strong candidate as a source of agarase that functions effectively under alkaline conditions, has a high thermal optimum, and is tolerant to anionic surfactants, thereby supporting its potential for further development in the seaweed waste processing industry.

Keywords: oligosaccharide, protein content, partial purification, *Vibrio alginolyticus*



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PENAPISAN DAN KARAKTERISASI ENZIM AGARASE DARI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN RUMPUT LAUT DI PERAIRAN TIHI-TIHI

NADIA ULFA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Biokimia

**PROGRAM STUDI BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:
1. Prof. Dr. Ir. Nurjanah, MS.

Judul Tesis : Penapisan dan Karakterisasi Enzim Agarase dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut di Perairan Tihi-Tihi

Nama : Nadia Ulfa
Nim : G8501241014

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si



Pembimbing 2:
Dr. Dimas Andrianto, S.Si., M.Si.



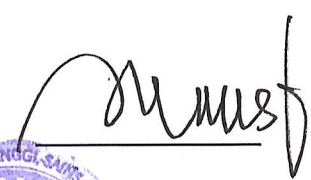
Pembimbing 3:
Dr. rer. nat. Fahrurrozi, M.Si.



Diketahui oleh



Ketua Program Studi:
Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si
NIP. 197005032005011001



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam :
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si
NIP. 197807232007011001



Tanggal Ujian : 11 Agustus 2026

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan Syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala Rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Penapisan dan Karakterisasi Enzim Agarase dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Rumput Laut di Perairan Tihi-Tihi”. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelas Master pada Program Studi Magister Biokimia di IPB University.

Penulis berterima kasih kepada Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si. selaku ketua komisi pembimbing, Dr. Dimas Andrianto, S.Si., M.Si. dan Dr. rer. nat. Fahrurrozi, M.Si. selaku anggota komisi pembimbing, yang telah banyak memberikan arahan selama penyusunan tesis ini. Terima kasih juga kepada Prof. Dr. Ir. Ekowati Chasanah selaku pendamping riset di Laboratorium Taksa BRIN Cibinong yang telah banyak membantu dalam penelitian ini. Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ekspedisi Penelitian dan Inovasi untuk Indonesia yang Makmur (RIIM), yang berjudul “Repositori Sumber Daya Genetik Mikroba dan Fauna Perairan di Perairan Wilayah Kalimantan,” atas dukungan finansialnya dalam pelaksanaan penelitian ini.

Ungkapan terima kasih sebesar-besarnya disampaikan kepada Almarhum Bapak Muhammadun, Mamak Siti Aisyah, Kakak Irianti Erningsih, Kakak Utari Sastri, Kakak Samsi Hendra, Kakak Zulfan Khariyadi serta seluruh keluarga besar Burhanudin yang telah memberikan dukungan moral, moril, doa, dan kasih sayangnya yang berlimpah kepada penulis. Penulis juga berterimakasih banyak kepada sahabat-sahabat tercinta, Zaitunnnisya Y Baso, Risna Milenia, Mutiara Al-Falah, Sri Maryati, Stevanny Nggai, Oyi Chandra Santoso, Siti Zunnuraen, Mumpuni Uji Kawedar Anjung, Ayu Tri Nursyarah, rekan Magister Biokimia 61 dan dan adik-adik Fast track Biokimia 62 atas semua kebaikan dan dukungannya. atas semua kebaikan dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini masih memiliki berbagai kekurangan dan belum sepenuhnya sempurna. Oleh sebab itu, kritik serta saran yang membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan sebagai bahan perbaikan di masa mendatang. Sebagai penutup, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian tesis ini.

Besar harapan penulis agar karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pihak-pihak yang memerlukan serta turut menyumbang bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2026

Nadia Ulfa



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	xvii
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xix
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	2
1.6 Kebaruan (<i>Novelty</i>)	3
1.7 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Rumput Laut	5
2.2 Perairan Tihi-tihi	7
2.3 Agar	8
2.4 Enzim Agarase	9
2.5 Sumber Agarase	10
2.6 Polisakarida	11
2.7 Kromatografi Pertukaran ion	14
III METODE	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Prosedur Kerja	17
3.4 Analisis Data	21
IV HASIL	23
4.1 Penapisan dan Seleksi Isolat Bakteri Agarolitik	23
4.2 Pertumbuhan dan Optimasi Waktu Produksi Enzim Agarase	24
4.3 Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Agarase	25
4.4 Uji Spesifikasi Substrat	28
4.5 Pemurnian Parsial Enzim Agarase	29
4.6 Penentuan Berat Molekul Enzim Agarase	30
4.7 Pengaruh Suhu dan pH terhadap Presipitasi Amonium Sulfat	31
4.8 Pemurnian <i>Ion Exchange Chromatography</i>	32
V PEMBAHASAN	35
5.1 Penapisan dan Seleksi Isolat Bakteri Agarolitik	35
5.2 Pertumbuhan dan Optimasi Waktu Produksi Enzim Agarase	35
5.3 Karakterisasi Enzim Agarase	36
5.4 Spesifikasi Substrat	37
5.5 Pemurnian Parsial Enzim Agarase	38
5.6 Penentuan Berat Molekul	39
5.7 Pengaruh Suhu dan pH terhadap Presipitasi Amonium Sulfat	39

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



5.8	Pemurnian <i>Ion Exchange Chromatography</i>	40
VI	SIMPULAN DAN SARAN	43
6.1	Simpulan	43
6.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	45
	LAMPIRAN	51
	RIWAYAT HIDUP	62

DAFTAR TABEL

1	Komposisi rumput laut	5
2	Sumber, lokasi, kategori, dan mr enzim agarase	11
3	Aktivitas spesifik, Suhu, dan pH enzim agarase	11
4	Hasil penapisan bakteri penghasil agarase	23
5	Pemurnian parsial enzim agarase	30

DAFTAR GAMBAR

1	<i>Gelidium</i> sp.	6
2	<i>Gracilaria</i> sp.	6
3	<i>Eucheuma cottonii</i>	7
4	Lokasi sumber isolat bakteri	8
5	Struktur agar	9
6	Degradasi agar	10
7	Struktur β -agarase (Famili GH50)	10
8	Sumber polisakarida	12
9	Makromolekul utama yang ditemukan dalam tubuh	12
10	Homopolisakarida dan heteropolisakarida	13
11	Pertumbuhan bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> (OD 600 nm)	24
12	Optimasi waktu produksi enzim agarase	25
13	Pengaruh pH terhadap aktivitas relatif enzim	26
14	Pengaruh suhu terhadap aktivitas relatif enzim	26
15	Pengaruh ion logam terhadap aktivitas relatif enzim	27
16	Pengaruh ion logam terhadap aktivitas relatif enzim	28
17	Spesifikasi substrat terhadap aktivitas enzim agarase	28
18	Optimasi konsentrasi amonium sulfat	29
19	Elektrogram hasil elektroforesis Gel SDS-PAGE	30
20	Pengaruh suhu terhadap Presipitasi amonium sulfat	31
21	Pengaruh pH terhadap presipitasi amonium sulfat	32
22	Profil kromatogram pemurnian IEC	33
23	Aktivitas enzim agarase terhadap fraksi IEC	33
24	Analisis SDS PAGE fraksi IEC	34

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	52
2	Penapisan isolat bakteri	53
3	Kurva standar galaktosa	54
4	Kurva standar protein	54
5	Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim ekstrak kasar	55
6	Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim ekstrak kasar	56
7	Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim ekstrak kasar	56



8	Pengaruh surfaktan terhadap aktivitas enzim ekstrak kasar	57
9	Pengaruh pH terhadap presipitasi amonium sulfat	57
10	Pengaruh Suhu terhadap presipitasi amonium sulfat	58
11	Berat molekul enzim agarase	58
12	Berat molekul hasil dialisis enzim agarase	59
13	Berat molekul hasil IEC	59
14	Persiapan gel SDS-PAGE menggunakan (<i>silver staining</i>)	60
15	Persiapan pewarnaan gel menggunakan (<i>silver staining</i>)	60

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.