

- 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.

**PRODUKSI DAN PURIFIKASI ENZIM PROTEASE
ALKALI DARI BAKTERI HALOFILIK *Staphylococcus
hominis* ASAL SELAT BALI**

WIDARYANTO



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@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 SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Produksi dan Purifikasi Enzim Protease Alkali Dari Bakteri Halofilik *Staphylococcus hominis* Asal Selat Bali” 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 skripsi ini.

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

Bogor, Juni 2025

Widaryanto
NIM G8401211007

- 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.



@Halophilynina IPB University

IPB University

ABSTRAK

WIDARYANTO. Produksi dan Purifikasi Enzim Protease Alkali Dari Bakteri Halofilik *Staphylococcus hominis* Asal Selat Bali. Dibimbing oleh MEGA SAFITHRI dan FINA AMRETA LAKSMI.

Permintaan terhadap produk pembersih ramah lingkungan mendorong pengembangan biodetergen berbasis enzim, khususnya protease alkali yang aktif pada kondisi ekstrem seperti pH dan salinitas tinggi. *Staphylococcus hominis* yang diisolasi dari spons laut di Selat Bali menunjukkan potensi sebagai penghasil protease alkali. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi produksi dan pemurnian protease alkali dari isolat tersebut. Skrining aktivitas proteolitik dilakukan menggunakan media Skim Milk Agar pH 8, dilanjutkan dengan produksi enzim dalam *Zobell Marine Broth* ditambah NaCl 10%. Ekstrak enzim dimurnikan melalui fraksinasi amonium sulfat 40%, diikuti dua tahap *Ion Exchange Chromatography* (IEC) menggunakan kolom 1 mL dan 5 mL, serta *Size Exclusion Chromatography* (SEC). Aktivitas protease diuji dengan metode Sigma's *non-specific* menggunakan substrat kasein, kadar protein ditentukan dengan metode *BCA*, dan kemurnian dianalisis melalui *SDS-PAGE*. Proses pemurnian menunjukkan peningkatan bertahap aktivitas spesifik dari 0,265 U/mg pada ekstrak kasar menjadi 0,435 U/mg pada fraksi hasil SEC, dengan kemurnian relatif tertinggi sebesar 1,64 kali. *SDS-PAGE* menunjukkan pita tunggal dominan berukuran ± 44 kDa pada fraksi SEC (elusi 19–22), mengindikasikan keberhasilan pemisahan enzim dari kontaminan. Hasil ini menunjukkan protease alkali dari *S. hominis* memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai komponen aktif dalam biodetergen ramah lingkungan yang menuntut kestabilan dan aktivitas tinggi pada kondisi ekstrem.

Kata Kunci : protease alkali, purifikasi, enzim, produksi

ABSTRACT

WIDARYANTO. Production and Purification of Alkaline Protease Enzyme from Halophilic Bacteria *Staphylococcus hominis* from Bali Strait. Supervised by MEGA SAFITHRI and FINA AMRETA LAKSMI.

The growing demand for environmentally friendly cleaning products has driven the development of biodetergents based on enzymes, particularly alkaline proteases that remain active under extreme pH and high salinity conditions. *Staphylococcus hominis*, isolated from sea sponges in the Bali Strait, has shown potential as a producer of alkaline protease. This study aimed to evaluate the production and purification of alkaline protease from this isolate. Proteolytic activity was initially screened using Skim Milk Agar at pH 8, followed by enzyme production in *Zobell Marine Broth* supplemented with 10% NaCl. The crude enzyme extract was purified through 40% ammonium sulfate fractionation, followed by two-step *Ion Exchange Chromatography* (IEC) using 1 mL and 5 mL columns, and finalized with *Size Exclusion Chromatography* (SEC). Protease activity was measured using Sigma's *non-specific* method with casein as the substrate, protein concentration was determined via the *BCA* assay, and purity was analyzed by *SDS-PAGE*. The purification process demonstrated a gradual increase

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.



in specific activity from 0.265 U/mg in the crude extract to 0.435 U/mg in the SEC fraction, with the highest relative purity of 1.64-fold. SDS-PAGE revealed a dominant single band at ~44 kDa in the SEC fraction (elution 19–22), confirming successful separation from contaminants. These results indicate that the alkaline protease from *S. hominis* holds significant potential as an active ingredient in eco-friendly biodetergents requiring high stability and activity under extreme conditions.

Keywords: alkaline protease, enzyme purification, production

- 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 2025
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.

**PRODUKSI DAN PURIFIKASI ENZIM PROTEASE
ALKALI DARI BAKTERI HALOFILIK *Staphylococcus*
hominis ASAL SELAT BALI**

WIDARYANTO

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Departemen Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@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 Skripsi:

1. Prof. Dr. drh. Hasim, DEA
2. Rini Kurniasih, S.Si., M.Si.



Judul Skripsi : Produksi dan Purifikasi Enzim Protease Alkali Dari Bakteri
Halofilik *Staphylococcus hominis* Asal Selat Bali

Nama : Widaryanto
NIM : G8401211007

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP. 197709152005012002

Pembimbing 2:
Fina Amreta Laksmi, S.T.P, M.Sc, Ph.D
NIP. 198605212010122001

TT ELEKTRONIK
BRIN

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M. Si.
NIP. 197709152005012002

Tanggal Ujian:

Tanggal Lulus:



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSR E, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code



@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.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga usulan penelitian ini berhasil diselesaikan dengan judul “Produksi dan Purifikasi Enzim Protease Alkali Dari Bakteri Halofilik *Staphylococcus hominis* Asal Selat Bali”. Penyusunan usulan penelitian ini merupakan salah satu syarat yang harus terpenuhi untuk melakukan penelitian tugas akhir di Departemen Biokimia.

Keberhasilan usulan penelitian ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan semua pihak terkait. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. Mega Safithri, M.Si. dan Ibu Fina Amreta Laksmi, S.T.P, M.Sc, Ph.D. selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, masukan berharga, serta kesabaran selama proses penyusunan usulan penelitian ini. Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua dan keluarga tercinta yang senantiasa memberikan dukungan moril, materiil, serta doa tanpa henti.

Penulis juga ingin menyampaikan apresiasi kepada teman-teman seperjuangan yaitu Fariz Fadillah, Ahmad F. Ramdhani, Rava Raisha, Tobias, Gavriel, Nisrina Malihah, dan Lalita atas diskusi produktif, semangat, serta kebersamaan yang penuh makna selama proses penyusunan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh anggota Kelompok Riset Enzim Ekstremofil yaitu Pak Wiga, Ka Changing, Mas David, Ka Muti, Widaad, Fauziah, Azriel, Farah, Nanda, Sabrina, Ka Awal, dan Pak Panji atas bantuan teknis, berbagi pengetahuan, serta suasana kekeluargaan di laboratorium yang sangat mendukung kelancaran penelitian ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa usulan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan guna penyempurnaan penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang enzimologi dan bioteknologi, serta bermanfaat bagi berbagai pihak yang membutuhkan.

Bogor, Juni 2025

Widaryanto



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	v
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim Protease Alkali	4
2.2 Bakteri Halofilik	5
2.3 <i>Staphylococcus hominis</i>	6
2.4 Uji Aktivitas Protease <i>Sigma's Non-specific</i>	6
2.5 <i>Ion Exchange Chromatography (IEC)</i>	7
2.6 <i>Size Exclusion Chromatography (SEC)</i>	9
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Prosedur Kerja	11
IV HASIL	18
4.1 Potensi Protease <i>S. hominis</i>	18
4.2 Aktivitas Protease Secara Kualitatif	19
4.3 Purifikasi Parsial	20
4.4 Purifikasi <i>Ion Exchange Chromatography</i>	21
4.4 Purifikasi <i>Size Exclusion Chromatography (SEC)</i>	24
4.5 Kemurian Enzim Protease Alkali	26
V PEMBAHASAN	28
5.1 Potensi Protease	28
5.2 Aktivitas Protease Secara Kualitatif	29
5.2 Purifikasi Parsial	30



5.3	Purifikasi <i>Ion Exchange Chromatography (IEC)</i>	30
5.4	Purifikasi <i>Size Exclusion Chromatography (SEC)</i>	32
5.5	Kemurnian Protein	32
VI	SIMPULAN DAN SARAN	35
6.1	Simpulan	35
6.2	Saran	35
	DAFTAR PUSTAKA	36
	LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

1	Komposisi gel SDS-PAGE	16
2	Komposisi <i>Working Reagent BCA Assay</i> (1 mL)	16
3	Analisis <i>BLASTn</i> dari sekuen hasil 16sRNA	18
4	Skrining <i>serine protease</i> dari <i>complete genome S. hominis</i> strain IVB647	19
6	Kemurnian Enzim Protease Alkali	27

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme <i>Ion-Exchange Chromatography</i>	8
2	Mekanisme <i>Size Exclusion Chromatography</i>	10
3	Pohon filogenetik dari sekuen <i>serine protease</i>	19
4	Aktivitas Proteolitik Ekstraseluler <i>S. hominis</i>	20
5	Pretisipasi amonium sulfat 20%-60%	20
6	Aktivitas spesifik pretisipasi amonium sulfat 20%-60%	21
7	Profil kromatogram purifikasi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 1mL	22
8	Elusi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 1mL	22
9	Aktivitas spesifik elusi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 1mL	23
10	Profil kromatogram purifikasi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 5mL	24
11	Elusi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 5mL	24
12	Aktivitas spesifik elusi <i>Ion Exchange Chromatography</i> kolom 5mL	24
13	Profil kromatogram purifikasi <i>Size Exclusion Chromatography</i>	25
14	Elusi <i>Size Exclusion Chromatography</i>	25
15	Aktivitas spesifik elusi <i>Size Exclusion Chromatography</i>	26
16	Profil Kemurnian Enzim protease alkali	27

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	44
2	Standar <i>Bovie Serum Albumin</i>	45
3	Data Kuantifikasi Protein	46
4	Standar L-tirosin	47
5	Data Aktivitas Protease Alkali Fraksi Pretisipasi Amonium Sulfat	48
6	Data Aktivitas Protease Alkali Elusi IEC dengan Kolom 1 mL	50
7	Data Aktivitas Protease Alkali Elusi IEC dengan Kolom 5 mL	42
8	Data Aktivitas Protease Alkali Elusi SEC	54
9	Data Aktivitas Protease Alkali	56
10	Perhitungan Bobot Molekul <i>SEC (Low Molecular Weight)</i>	58



@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.