

**SKRINING DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
PENGHASIL ENZIM PEKTINASE ASAL
FERMENTASI KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**Zaki Gunawan Rasyid
1308617038**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA**

2024

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan dibawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta :

Nama : Zaki Gunawan Rasyid

Nomor Registrasi : 1308617038

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul "Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Pektinase Asal Fermentasi Kopi (*Coffea arabica* L.)" yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian pada bulan Juni-Agustus 2023.
2. Bukan merupakan hasil duplikasi skripsi yang pernah dibuat orang lain atau menjiplak hasil karya orang lain.

Jika kemudian hasil ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 24 Januari 2024



METERAL TEMPEL
1906ALX070956063

Zaki Gunawan Rasyid



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220
Telepon/Faksimili: 021-4894221
Laman: lib.unj.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Zaki Gunawan Rasyid
NIM : 1308617038
Fakultas/Prodi : MIPA/ Biologi
Alamat email : Zaki.g.r.bioa17@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

Skripsi Tesis Disertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Pektinase Asal Fermentasi Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 24 Januari 2024

Penulis

(Zaki Gunawan Rasyid)

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

SKRINING DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM PEKTINASE ASAL FERMENTASI KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)

Nama : Zaki Gunawan Rasyid
Nomor Registrasi : 1308617038

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			29-1-24
Dekan	: <u>Prof. Dr. Muktiningsih N., M.Si.</u> NIP. 19640511 198903 2 001		
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: <u>Dr. Esmar Budi, S.Si., M.T</u> NIP. 19720728 199903 1 002		26-1-24
Ketua	: <u>Dr. Reni Indrayanti, M.Si.</u> NIP. 19621023 199803 2 002		25/1/24
Sekretaris/Penguji II	: <u>Dr. Adisyahputra, MS.</u> NIP. 19601111 198703 1 003		24/1/24
Anggota			
Pembimbing I	: <u>Dr. Tri Handayani Kurniati M.Sc.</u> NIP. 19660316 199203 2 001		24/1/24
Pembimbing II	: <u>Rizky Priambodo S.Si, M.Si</u> NIP. 19891223 201903 1 014		25/1/24
Penguji I	: <u>Dr. Dalia Sukmawati, M.Si.</u> NIP. 19720914 200604 2 001		26/1/24

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 17 Januari 2024

KATA PENGANTAR

Pertama, penulis ingin memanjatkan syukur kepada Allah SWT. Atas nikmat dan rahmat yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si selaku dosen pembimbing akademik dan pembimbing I yang telah menerima penulis mengajari dan membimbing penulis dengan sabar dari awal perkuliahan hingga dapat menyelesaikan skripsi ini, memotivasi, memberikan masukan dan saran yang membangun sehingga penulis dapat mengembangkan diri dan terus belajar menjadi lebih baik lagi. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Rizky Priambodo, S.Si, M.Si selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberikan arahan, masukan serta saran yang bermanfaat bagi penulis, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Terima kasih pula penulis ucapkan kepada Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si dan Bapak Dr. Adisyahputra, MS selaku penguji I dan II yang telah memberikan masukan dan saran yang berguna dalam penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Dalia Sukmawati, M.Si selaku Koordinator Program Studi karena beliau penulis dapat menempuh serta menyelesaikan pendidikan di Program Studi Biologi. Terima kasih juga kepada Ibu Deselina, Kak Leni, Bang Ishak dan Pak Hadirin yang telah menyemangati dan banyak membantu penulis dalam menyiapkan kebutuhan alat, ruangan dan bahan untuk penulis selama penelitian. Kepada seluruh dosen pengajar di Biologi FMIPA UNJ, penulis sangat berterima kasih atas ilmu yang telah diberikan selama menjalani perkuliahan.

Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Bpk. Catur dan Ibu Ummi selaku orang tua penulis atas doa, kerja keras dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga menjadi seorang sarjana. Adik Naufal dan Nuzie yang menemani ketika penulis lelah dan seluruh keluarga besar dari kedua orang tua, penulis ucapkan terima kasih atas semua doa dan kepedulian yang selalu diberikan. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kak Hera, Awal, Aldi, Nabil, Saskia, Eliz, Naomi, Lydia, Adik-adik lab mikro angkatan 19 atas dukungan dan bantuannya selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

Terima kasih kepada Sekut yang telah menemani penulis dari awal kuliah, penulis sangat senang dan bangga telah mengenal kalian dan bisa berjuang bersama menuju S.Si Serta juga penulis ucapkan terima kasih kepada teman-teman Biologi A 2017 serta teman-teman Biologi angkatan 17 serta adik-adik Biologi angkatan 18 yang telah membantu penulis selama kuliah, senang bisa mengenal dan menjalani masa perkuliahan bersama kalian.

Penulis telah berusaha memberikan yang terbaik dalam penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan digunakan sebaik-baiknya.

Selain itu, semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang penulis terima, menambahkan ilmu kepada kita semua dan senantiasa mendapatkan ridha-Nya atas semua yang telah kita lakukan.

Jakarta, Desember 2023



Zaki Gunawan Rasyid

ABSTRAK

ZAKI GUNAWAN RASYID, Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Pektinase Asal Fermentasi Kopi Arabica (*Coffea arabica* L.). Dibawah Bimbingan **TRI HANDAYANI KURNIATI, RIZKY PRIAMBODO**.

Kopi merupakan perkebunan yang diolah menjadi biji kopi yang memiliki nilai ekonomi. Proses pengelolaan pasca panen biji kopi dilakukan untuk menghilangkan lendir pada biji kopi dengan bantuan mikroba yang menghasilkan enzim pektinase sehingga mempermudah proses pencucian biji kopi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dan identitas dari bakteri penghasil enzim pektinase atau bakteri pektinolitik asal fermentasi kopi arabika. Tahapan penelitian meliputi isolasi bakteri pektinolitik, skrining bakteri pektinolitik, pengujian aktivitas enzim pektinase dengan konsentrasi pektin 1% dan 1,5%, serta identifikasi molekuler melalui analisis 16S rRNA. Tujuh dari dua puluh isolat bakteri menghasilkan enzim pektinase saat ditumbuhkan pada media pektin ditandai adanya zona bening pada media. Tiga isolat yaitu WN 21, H4SC dan H4SA menghasilkan nilai aktivitas enzim pektinase tertinggi diraih oleh WN 21 dengan nilai $7,93 \pm 0,61$ U/ml diikuti oleh H4SC $5,57 \pm 0,18$ U/ml dan H4SA $3,59 \pm 0,50$ U/ml. Hasil identifikasi menunjukkan bakteri pektinolitik asal fermentasi kopi teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* dengan homologi dan *query cover* berturut 99,92% dan 100%, 99,82 dan 100%. Hasil penelitian ini memberikan informasi awal tentang potensi isolat bakteri penghasil pektinase asal fermentasi kopi arabika.

Kata kunci : kopi, pektinase, pektin, bakteri pektinolitik, aktivitas pektinase.

ABSTRACT

ZAKI GUNAWAN RASYID, Screening and Identification Pectinase Producing Bacteria from Arabica Coffee Fermentation (*Coffea arabica* L.). Under Supervision **TRI HANDAYANI KURNIATI, RIZKY PRIAMBODO**.

Coffee is a crop that processed to be coffee beans that have economic value. The post-harvest coffee process is do to eliminate mucilage from coffee fruit with microbe producing pectinase enzyme to lighten coffee beans whasing process. This study purpose is to identify potential and acquiring identity bacteria producing pectinase enzyme from coffee fermentation. The research procedure start from isolating pectinolytic bacteria, screening pectinolytic bacteria and pectinase enzyme activity testing with pectin concentrations 1% and 1,5%, bacterial identification via 16S rRNA gene analysis. Seven from twenty isolated bacteria is producing pectinases with clear zone when testing in pectin medium. Three isolates WN 21, H4SC, H4SA with highest pectinase enzyme activity was achieved by WN 21 with value achieved 7.93 ± 0.61 U/ml followed by H4SC 5.57 ± 0.18 U/ml and H4SA 3.59 ± 0.50 U/ml. The result of the identification showed that pectinolytic bacteria from coffee fermentation were identified as *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* with identity and query cover continued 99,92% and 100%, 99,82 and 100%. The result of this study provide early information about the potential of pectinase producing bacterial isolated from arabica coffee fermentation.

Key word : *Coffee, pectinase, pectin, pectinolytic bacteria, pectinolytic activity.*

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	i
LEMBAR PERNYATAAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II KAJIAN PUSTAKA	5
A. Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.).....	5
B. Fermentasi Kopi.....	6
C. Enzim Pektinase	7
D. Bakteri Pektinolitik	9
E. Identifikasi Bakteri.....	10
BAB III METODE PENELITIAN	12
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
B. Metode Penelitian	12
1. Alat dan Bahan	13
2. Prosedur Penelitian	14
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
A. Isolat Bakteri Asal Fermentasi Kopi	21
B. Bakteri Pektinolitik Asal Fermentasi Kopi.....	23
C. Nilai Aktivitas Enzim Pektinase Bakteri Pektinolitik.....	25
D. Identitas Isolat Bakteri Pektinolitik Asal Fermentasi Kopi.....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
A. Kesimpulan.....	34
B. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	44
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bagian dari buah kopi	5
2. Jalur Embden-Meyerhof Parnas (Tortora <i>et al.</i> , 2019).....	7
3. Jalur isomerase asam galakturonat menjadi asam piruvat dan gliserol dehidra-3-fosfat (Richard & Hilditch, 2009).....	7
4. Proses kerja enzim pektinase. a. polimetilgalakturonase (PMG), poligalakturonase (PG) b. pektinesterase (PE) c. pektin lyase (PL) pektat lyase (PGL) (Haile & Ayele, 2022).	8
5. Bagan alir penelitian	14
6. Kurva standar glukosa.....	17
7. Tiga metode fermentasi kopi a. <i>Honey</i> b. <i>Wash</i> c. <i>Wine</i>	21
8. Isolat H3B pada media pektin 1%, 30°C selama 48 jam	24
9. Nilai aktivitas enzim pektinase bakteri pektinolitik	27
10. Pohon filogenetik isolat WN21 berdasarkan analisis gen 16S rRNA dengan metode <i>neighbour-joining</i> , dan <i>bootstrap</i> 1000X. <i>Type strain</i> ditandai dengan huruf superskrip T	32
11. Pohon filogenetik isolat H4SC berdasarkan analisis gen 16S rRNA dengan metode <i>neighbor-joining</i> (NJ), dan <i>bootstrap</i> 1.000X. <i>Type strain</i> ditandai dengan huruf superskrip T	33
12. Kurva standar glukosa panjang gelombang 540 nm	47
13. Morfologi isolat bakteri asal fermentasi kopi dengan pewarnaan <i>Gram</i> a. H4SA b. H4SB c. H4SC d. H2A e. H3A f. H3B g. WN21	51
14. Zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri asal fermentasi kopi dengan pewarnaan <i>Gram</i> pada perbesaran 1000X a. H4SA b. H4SB c. H4SC d. H2A e. H3A f. H3B g. WN21	52
15. Pita DNA hasil elektroforesis isolat asal fermentasi kopi 5. H4SA, 6. H4SC, 7. WN21	52

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Karakteristik morfologi koloni bakteri asal fermentasi kopi	23
2. Karakteristik mikroskopis isolat bakteri pektinolitik asal fermentasi kopi	24
3. Hasil pengukuran indeks zona bening isolat asal fermentasi kopi.....	25
4. Hasil uji DMRT pada isolat bakteri terhadap aktivitas enzim pektinase	28
5. Pengaruh konsentrasi substrat pektin terhadap aktivitas enzim pektinase	28
6. Hasil identifikasi isolat bakteri pektinolitik asal fermentasi kopi berdasarkan analisis sekuens daerah 16S rRNA dengan program BLAST	31
7. Konsentrasi larutan standar glukosa dan nilai absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm	47
8. Hasil pengukuran indeks pektinolitik isolat asal fermentasi kopi.....	48
9. Hasil analisis ragam satu arah indeks pektinolitik.	48
10. Aktivitas enzim pektinase isolat asal fermentasi kopi	49
11. Hasil analisis ragam 2 arah uji aktivitas enzim pektinase	49
12. Analisis uji lanjut DMRT aktivitas enzim pektinase terhadap isolat bakteri	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Pembuatan medium.....	44
2. Sterilisasi peralatan dan medium	46
3. Konsentrasi larutan standar glukosa dan kurva standar glukosa.....	47
4. Analisis statistik pengukuran indeks pektinolitik	48
5. Analisis statistik aktivitas enzim pektinase.....	49
6. Morfologi isolat bakteri asal fermentasi kopi, skrining, dan visualisasi isolat pektinolitik.....	51
7. Sekuen DNA isolat bakteri pektinolitik asal fermentasi kopi.....	53

