

## Pengaruh PH dan Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease Isolat LG-37 Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending Kebumen

Dhea Nur Khomala Sari, Dyah Fitri Kusharyati\*, Dini Ryandini

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Soeparno 63 Purwokerto 53122

\*Corresponding Author, Email: dyah.kusharyati@unsoed.ac.id

### Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 12/08/2023

Disetujui : 20/03/2024

### Abstract

Protease enzyme is enzyme that function to hydrolyze protein into peptides and amino acids. Each enzyme has different optimal conditions or activities. Enzyme activity is influenced by various factors including pH and temperature. This research aimed to determine the effect of pH, temperature and their combination on protease activity of LG-37 bacterium isolated from Logending Beach mangrove sediment. The research method was carried out experimentally using a factorial Completely Randomized Design (CRD) with two factors. Each factors was repeated three times. The first factor was variations in pH 4, 5, and 6, while the second factor was variations in temperature 45, 50, and 55°C. The results showed that pH and temperature affected the protease enzyme activity of LG-37 isolate from Logending Beach mangrove sediment. The highest protease activity was obtained in the combination treatment of pH 6 and temperature of 50°C with a protease activity unit value of 1.067 U / mL

**Key words:** Enzyme Activity, LG-37 Isolate, Mangrove Sediment, Optimization, Proteolytic Bacteria

### Abstrak

Enzim protease merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino. Setiap enzim memiliki kondisi atau aktivitas optimal berbeda-beda. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah pH dan suhu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH, suhu, dan kombinasi keduanya terhadap aktivitas enzim protease dari isolat LG-37 asal sedimen mangrove Pantai Logending. Metode penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Masing-masing faktor tersebut dilakukan pengulangan tiga kali. Faktor pertama yakni variasi pH 4, 5, dan 6, sedangkan faktor kedua yakni variasi suhu 45, 50, dan 55°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH dan suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease isolat LG-37 asal sedimen mangrove Pantai Logending. Aktivitas protease tertinggi diperoleh pada perlakuan kombinasi pH 6 dan suhu 50°C dengan nilai unit aktivitas protease sebesar 1,067 U/mL.

**Kata kunci:** Aktivitas Enzim, Bakteri Proteolitik, Isolat LG-37, Optimasi, Sedimen Mangrove

## PENDAHULUAN

Mangrove adalah ekosistem yang berperan penting dalam melindungi pantai dari pengikisan tanah oleh air laut. Mangrove juga merupakan tempat hidup dari berbagai hewan seperti kepiting, ikan, kerang, udang, dan sebagainya. Bakteri sedimen mangrove memainkan peran penting dalam melakukan biodegradasi terhadap senyawa yang masih bersifat kompleks di ekosistem mangrove menjadi senyawa yang lebih sederhana (Hastuti *et al.*, 2017).

Kandungan bahan organik yang terdapat pada sedimen kawasan mangrove cukup tinggi. Hal ini disebabkan sedimen yang mengandung banyak mineral bercampur dengan serasah daun mangrove (Yahya *et al.*, 2014). Tanaman mangrove memiliki kandungan protein yang dapat didegradasi oleh bakteri proteolitik. Bangkai hewan air yang memiliki kandungan protein banyak terdapat pada kawasan sedimentasi mangrove. Protein tersebut kemudian didegradasi oleh bakteri proteolitik yang pada akhirnya dapat meningkatkan nutrisi dalam tanah mangrove. Bakteri secara enzimatik

menguraikan serasah melalui peran aktif dari enzim ekstraseluler, salah satunya enzim protease (Hastuti *et al.*, 2017).

Enzim protease merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino (Rezakhani *et al.*, 2014). Enzim protease dari mikroorganisme lebih menguntungkan secara ekonomi karena mikroorganisme memiliki pertumbuhan yang cepat, mudah ditingkatkan hasilnya melalui rekayasa genetika dan pengaturan kondisi pertumbuhan, dapat menghasilkan enzim dalam kondisi ekstrim, serta mampu tumbuh pada substrat murah (Singh *et al.*, 2016). Aktivitas protease dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan diantaranya yakni pH dan suhu (Sumardi *et al.*, 2019).

Isolat bakteri LG-37 merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi yang diketahui bersifat proteolitik dan diisolasi dari lingkungan mangrove pantai Logending Kebumen. Penelitian tentang optimasi pH dan suhu dari aktivitas enzim protease isolat LG-37 telah dilakukan.. Akan tetapi belum diketahui aktivitasnya pada variasi pH dan suhu.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pH, suhu, serta kombinasi pH dan suhu yang optimal aktivitas enzim protease isolat LG-37 asal sedimen mangrove Pantai Logending.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi dan Laboratorium Riset Terpadu Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian dilaksanakan dari Januari hingga Mei 2021.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat bakteri LG-37 (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Unsoed), media *Nutrient Agar* (NA), *Skim Milk Agar* (SMA), *Nutrient Broth* (NB), kasein, 0,1 M TCA (*Trichloroacetic Acid*), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaCl 0,9 %, reagen *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*, pereaksi *Folin Ciocalteu*, tirosin, *buffer*, HCL, dan NaOH.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow*, timbangan analitik, *hotplate stirrer*, *shaker incubator*, oven, mesin sentrifugasi, spektrofotometer, autoklaf, mikroskop, refrigerator, *waterbath*, microtube, pembakar spiritus, dan alat gelas yang lazim digunakan untuk kerja mikrobiologi.

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah pH 4, 5, dan 6, sedangkan faktor kedua adalah suhu 45, 50, dan 55°C. Total perlakuan yaitu 9 (3 x 3) dan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 27 unit percobaan.

### Uji Konfirmasi Aktivitas Protease secara Kualitatif (Baehaki et al., 2011)

Isolat LG-37 diinokulasi sebanyak 1 ose ke media *Skim Milk Agar*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas bakteri mampu menghidrolisis protein.

### Pembuatan Starter Isolat LG-37 (Sumardi et al., 2019)

Isolat LG-37 sebanyak 1 ose diinokulasikan ke dalam 10 mL media NB, kemudian diinkubasi di dalam *shaker* inkubator pada suhu ruang selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm. Setelah 24 jam, suspensi diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 100 mL media NB.

### Pembuatan Kurva Standar dan Kurva Pertumbuhan Bakteri (Rosmania & Yanti, 2020; Sukmawati, 2018)

Starter isolat LG-37 yang berumur 24 jam diambil 3 mL kemudian diukur nilai *Optical Density* awal menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  625 nm. Kemudian dilakukan pengenceran beberapa kali, selanjutnya setiap pengenceran dilakukan pengukuran OD dan penanaman pada medium NA dengan metode tuang (*pour plate method*). Inkubasi dilakukan pada suhu ruang

selama 24 jam. Penghitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count* pada cawan petri dengan jumlah koloni bakteri 30 – 300 koloni. Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri dimasukkan ke dalam rumus :

$$\sum \text{ bakteri: } \frac{\text{Jumlah rata-rata koloni}}{P} \times \frac{1}{PP}$$

Keterangan:

$\sum$  bakteri (CFU/mL)

P : volume pengenceran

PP : volume inokulum (1 mL)

Kurva standar bakteri menghubungkan nilai OD pada sumbu x dan jumlah sel (nilai Log jumlah sel) pada sumbu y sehingga didapatkan persamaan regresi linier.

Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara starter isolat LG-37 diambil 1 ml setiap 4 jam sekali selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran nilai OD menggunakan spektrofotometer. Hasilnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi yang telah dihasilkan dari kurva standar, sehingga diperoleh data jumlah sel. Kultur pada fase logaritmik digunakan untuk pengujian selanjutnya.

### Produksi Enzim Protease dan Pengukuran Berat Kering Biomassa Sel (Zainuddin et al., 2017; Effendi, 2017; Sumardi et al., 2019)

Starter isolat LG-37 dengan umur 8 jam, kepadatan sel 10<sup>8</sup> sel/mL diinokulasikan sebanyak 10 mL ke dalam 100 mL media NB yang telah ditambah 1% kasein. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang di dalam *shaker* inkubator dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya, dilakukan isolasi enzim dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 6720 G selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk pengujian aktivitas protease. Sedangkan natan yang diperoleh digunakan untuk pengukuran berat kering sel akhir.

Natan ditambah 5 ml NaCl 0,9 %, lalu disentrifus pada kecepatan 605 G selama 20 menit. Endapan sel dikeringkan di dalam oven selama 26 jam pada suhu 60°C. Berat kering sel awal ditentukan dengan tahapan yang sama terhadap inokulum awal (10 mL inokulum dengan kepadatan sel 10<sup>8</sup> sel/mL). Berat kering biomassa sel dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Wk = Wt - W0$$

Keterangan :

Wk = Berat kering biomassa sel (gram)

Wt = Berat sampel dan kertas saring setelah pengeringan (gram)

W0 = Berat kertas saring (gram)

### Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktivitas Protease secara Kuantitatif (Bergmeyer dan Grassl, 1983; Djajasukma, 1993)

Aktivitas protease dilakukan dengan terlebih dahulu disiapkan tabung untuk sampel, blanko dan

standar. Prosedur pengujian aktivitas protease adalah substrat kasein 2% dalam buffer (pH 4, 5, dan 6) dimasukkan sebanyak 0,5 mL ke dalam masing-masing tabung. Tabung sampel, standar, dan blanko, diisi dengan masing-masing 0,1 mL enzim, 0,1 mL tirosin (5 mM), dan 0,1 mL akuades. Campuran reaksi diinkubasi pada perbedaan suhu 45, 50, dan 55°C selama 10 menit di dalam *waterbath*, kemudian ditambahkan TCA sebanyak 0,5 mL pada ketiga tabung, 0,1 mL enzim pada tabung blanko dan tabung standar, dan 0,1 mL akuades pada tabung sampel. Larutan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6720 G selama 10 menit pada suhu 4°C. Selanjutnya supernatan diambil 0,375 mL dan ditambahkan 1,25 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,4 M serta 0,25 mL pereaksi Folin Ciocalteu dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 578 nm. Aktivitas enzim protease dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{PU} = \frac{\text{Asp} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \times \frac{1}{T}$$

Keterangan:

PU = unit aktivitas protease (unit/mL)

Ast = nilai absorbansi standar

Abl = nilai absorbansi blanko

Asp = nilai absorbansi sampel

T = waktu inkubasi enzim (10 menit)

### Karakterisasi Bakteri Proteolitik

Karakterisasi isolat bakteri proteolitik LG-37 asal sedimen mangrove meliputi karakterisasi makromorfologi yaitu pengamatan morfologi koloni bakteri, karakterisasi mikromorfologi meliputi pengujian motilitas dan pewarnaan Gram, dan karakterisasi biokimiawi meliputi pengujian katalase dan oksidase.

### Analisis Data

Data pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas protease dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilakukan uji lanjut dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Uji Konfirmasi Aktivitas Protease secara Kualitatif

Hasil uji konfirmasi isolat bakteri LG-37 sebagai bakteri proteolitik memperlihatkan pembentukan zona jernih di sekeliling koloni sehingga menunjukkan bahwa isolat LG-37 positif menghasilkan enzim protease. Enzim protease mampu menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino. Kemampuan hidrolisis menyebabkan perubahan warna pada medium SMA menjadi jernih atau tidak berwarna (Budiharjo *et al.*, 2017).



Gambar 1. Hasil uji konfirmasi aktivitas protease pada medium *Skim Milk Agar* (SMA)

### B. Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease LG-37

Produksi enzim protease oleh isolat LG-37 dilakukan selama masa inkubasi 48 jam. Golongan mikroorganisme yang merupakan sumber enzim protease antara lain *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Serratia* dll. *Bacillus subtilis* menghasilkan aktivitas enzim protease tertinggi pada jam ke 48 yaitu sebesar 2,163 U/mL (Efendi *et al.*, 2017). Waktu produksi optimal enzim protease berbanding lurus dengan pertumbuhan bakteri (Efendi *et al.*, 2017). Aktivitas enzim protease dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan diantaranya yakni suhu dan pH (Sumardi *et al.*, 2019). Enzim protease LG-37 diuji aktivitasnya pada variasi pH dan suhu untuk mengetahui kondisi optimum aktivitasnya. Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim protease isolat LG-37 menunjukkan perlakuan variasi pH dan suhu berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas protease isolat LG-37 ( $F$  hitung >  $F$  tabel).

### Pengaruh pH

Berdasarkan hasil Anova, maka dilakukan uji lanjut DMRT (0,05). Hasil uji menunjukkan bahwa pH yang berbeda menghasilkan aktivitas enzim protease berbeda, dan perlakuan pH 6 menunjukkan hasil tertinggi (notasi c) dan perlakuan pH 4 menunjukkan hasil terendah (notasi a) (Tabel 1.). Hal ini menunjukkan bahwa pH yang berbeda mempengaruhi aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat LG-37.

Hasil penelitian berbeda dengan hasil penelitian Sumardi *et al.* (2019), bahwa pH optimal aktivitas enzim protease isolat *Bacillus* sp. (UJ132) adalah pH 5. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Anggrahini (2016), aktivitas enzim protease maksimum yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* sesuai dengan isolat LG-37 yaitu terjadi pada pH 6. Hal tersebut menandakan bahwa setiap bakteri memiliki batas toleransi terhadap kondisi lingkungan tertentu (Fahrudin *et al.*, 2019). Perbedaan kondisi optimal pH terhadap aktivitas suatu enzim dapat disebabkan oleh perbedaan strain bakteri yang digunakan (Agustien, 2010).

**Tabel 1.** Hasil Uji DMRT 0,05 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Protease Isolat LG-37 Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending Kebumen

Perlakuan	Aktivitas Enzim Protease (Unit/mL)
pH 4	0,36967 a
pH 5	0,53967 b
pH 6	0,69789 c

Aktivitas suatu enzim bergantung pada kondisi pH nya. Kondisi pH yang optimal akan meningkatkan kecepatan enzim protease dalam mengkatalisis reaksi hidrolisis substrat, sehingga produk yang dihasilkan akan semakin banyak (Bahri *et al.*, 2012). Struktur tiga dimensi enzim pada pH optimal merupakan struktur yang paling kondusif dalam berikatan dengan substrat. Aktivitas enzim secara progresif dapat hilang hingga tidak fungsional apabila pH mengalami perubahan dari kondisi optimal.

#### Pengaruh Suhu

Hasil uji DMRT 0,05 menunjukkan bahwa suhu yang berbeda menghasilkan aktivitas enzim protease tertinggi pada perlakuan suhu 50°C yang ditandai dengan notasi (c) dan berbeda sangat nyata dengan suhu 45°C dan 55°C. Aktivitas enzim terendah dihasilkan pada perlakuan suhu 55°C yang diikuti dengan notasi (a). Hal ini menunjukkan bahwa suhu yang berbeda mempengaruhi aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat LG-37 (Tabel 2.).

**Tabel 2.** Hasil Uji DMRT 0,05 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease Isolat LG-37 Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending Kebumen

Perlakuan	Aktivitas Enzim Protease (Unit/mL)
Suhu 55 °C	0,31344 a
Suhu 45 °C	0,43078 b
Suhu 50 °C	0,86300 c

Hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan penelitian Sumardi *et al.* (2019), bahwa aktivitas enzim protease dari isolat *Bacillus* sp. (UJ132) yang diisolasi dari *Metapenaeus affinis* di kawasan hutan mangrove Desa Margasari, optimal pada suhu 50°C. Penelitian Anggrahini (2016), menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease tertinggi yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* terjadi pada suhu 50°C.

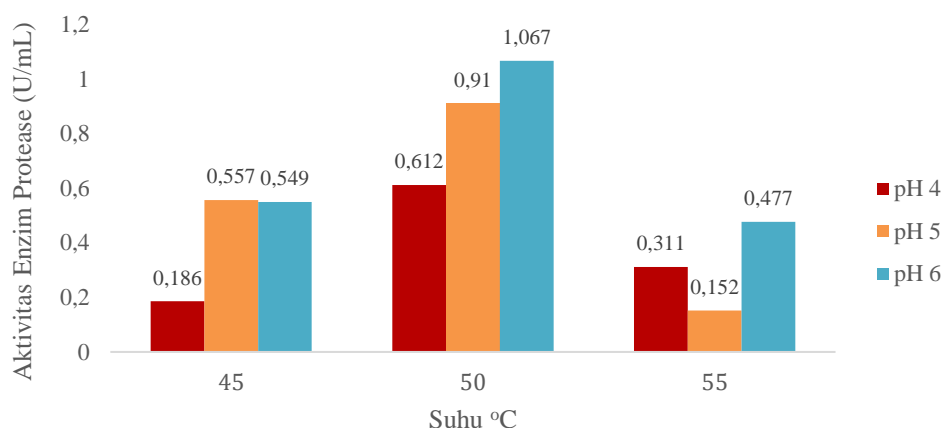
Energi kinetik meningkat akibat suhu yang semakin tinggi. Hal tersebut menyebabkan intensitas tumbukan antara enzim dan substrat semakin bertambah (Noviyanti & Ardiningsih, 2012). Ketika suhu optimal telah tercapai dan reaksi enzimatik mencapai maksimum, maka pembentukan kompleks enzim dengan substrat

semakin mudah sehingga produk yang dihasilkan semakin banyak. Kenaikan suhu hingga melewati suhu optimal dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi sehingga menghambat substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim dan pada akhirnya dapat menurunkan aktivitas enzim (Noviyanti & Ardiningsih, 2012).

#### Pengaruh Kombinasi pH dan Suhu

Hasil uji DMRT 0,05 menunjukkan bahwa kombinasi antara pH dan suhu yang berbeda menghasilkan aktivitas enzim protease tertinggi pada perlakuan pH 6 dengan suhu 50°C yang ditandai dengan notasi (f) dan berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan yang diuji. Aktivitas enzim terendah dihasilkan pada perlakuan pH 5 dengan suhu 55°C yang diikuti dengan notasi (a) dan hasil ini berbeda tidak nyata dengan perlakuan pH 4 dengan suhu 45°C (Gambar 1.)

Pengaruh kombinasi pH dan suhu terhadap aktivitas enzim protease isolat LG-37 menghasilkan aktivitas tertinggi pada kombinasi antara pH 6 dengan suhu 50°C dengan nilai unit aktivitas sebesar 1,067 U/mL (Gambar 1). Aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat LG-37 tergolong tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Rahayu (2014), yang menunjukkan bahwa protease yang dihasilkan oleh isolat TM2A-2 menunjukkan aktivitas tertinggi pada kondisi suhu 50°C dan pH 7 dengan nilai aktivitas sebesar 0,0437 U/mL. Tingginya aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat LG-37 dapat disebabkan oleh jumlah sel bakteri yang tinggi. Berat kering biomassa sel isolat LG-37 tergolong tinggi yaitu sebesar 0,2 g/100 mL pada waktu akhir inkubasi 48 jam. Biomassa sel pada inokulum awal sebelum produksi adalah sebesar 0,1 g/100 mL. Biomassa sel mengalami peningkatan pertumbuhan (0,1 g/100 mL) selama masa inkubasi dan menghasilkan enzim protease. Biomassa sel LG-37 lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat 36K yang diperoleh dari sedimen mangrove Karimunjawa Jepara (Setyati *et al.*, 2015), yaitu sebesar 0,058 g/100 mL pada jam ke 8 dan 0,15 g/100 mL pada jam ke 48 dengan kenaikan biomassa yang lebih rendah pula dibandingkan isolat LG-37 yaitu sebesar 0,092 g/100 mL. Menurut Das *et al.* (2013), tingginya atau rendahnya nilai aktivitas protease ditentukan oleh aktivitas metabolisme sel bakteri dalam melakukan sintesis enzim dan pembelahan sel. Semakin banyak jumlah sel bakteri, maka semakin tinggi pula nilai aktivitas enzim. Wijanarka *et al.* (2013), menyatakan bahwa meningkatnya aktivitas enzim disebabkan karena nutrisi yang diperlukan sel bakteri untuk melakukan metabolisme sel masih tersedia dalam jumlah besar. Aktivitas enzim akan menurun jika nutrisi dalam medium mulai habis.



**Gambar 1.** Histogram Pengaruh Kombinasi pH dan Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease Isolat LG-37 Asal Sedimen Mangrove Pantai Logending Kebumen.

### C. Karakterisasi Isolat Bakteri Proteolitik LG-37

Berdasarkan hasil karakterisasi, isolat bakteri LG-37 termasuk golongan bakteri Gram positif karena sel terwarnai ungu dengan sel berbentuk batang (basil), susunan sel *strepto*, bersifat motil, reaksi oksidase positif yang menunjukkan bahwa bakteri mampu menghasilkan enzim sitokrom oksidase dan katalase negatif yang menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu menghasilkan enzim katalase dan tidak dapat merubah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Berdasarkan pengamatan makromorfologi, koloni bakteri LG-37 berwarna putih susu, permukaan halus, berbentuk bulat, tepi koloni rata, ukuran koloni sedang, elevasi cembung, dan optik koloni *opaque* (Tabel 4). Berdasarkan kesamaan karakteristik tersebut dengan yang diamati berdasarkan buku Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, diduga isolat LG-37 termasuk ke dalam Genus *Lactobacillus* (Vos *et al.*, 2009).

**Tabel 4.** Karakterisasi Isolat LG-37

Karakteristik	Interpretasi
<b>Makromorfologi :</b>	
Bentuk koloni	Bulat
Permukaan koloni	Halus mengkilap
Ukuran koloni	Kecil
Tepi koloni	Rata
Elevasi koloni	Cembung
Warna koloni	Putih susu
Optik koloni	<i>Opaque</i>
<b>Mikromorfologi :</b>	
Bentuk sel	Batang
Gram	+
Susunan sel	<i>Strepto</i>
Motilitas	+
<b>Biokimiawi :</b>	
Katalase	-
Oksidase	+

### SIMPULAN

Nilai pH optimal aktivitas enzim protease isolat LG-37 adalah pH 6. Suhu 50°C merupakan suhu optimal dari aktivitas enzim protease isolat LG-37. Nilai pH dan suhu yang optimal dari aktivitas enzim protease isolat LG-37 adalah kombinasi antara pH 6 dan suhu 50°C.

### Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada projek penelitian yang didanai oleh BLU Unsoed 2020 dengan skema penelitian Riset Peningkatan Kompetensi.

### DAFTAR REFERENSI

- Agustien, A., 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. Bandung: Universitas Padjajaran Press.
- Anggrahini, D. N. D., 2016. Produksi, Pemekatan, Dan Karakterisasi Enzim Protease Dari *Lactobacillus Plantarum* Sk (5). Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Baehaki, A., Rinto & Budiman, A., 2011. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 12(1), pp. 40-45.
- Bahri, S., Mirzan, M. & Hasan, M., 2012. Karakterisasi Enzim Amilase dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays* Ceratina 1.). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 1(1), pp. 132-143.
- Bergmeyer, H. U. & Grassl, F., 1983. *Method of Enzymatic Analysis*. Jerman: VCH (Verlagsgesellschaft).
- Budiharjo, R., Sarjono, P. R. & Asy'ari, M., 2017. Pengaruh Konsentrasi NaCl Terhadap Aktivitas Spesifik Protease Ekstraseluler dan Pertumbuhan Bakteri Halofilik Isolat Bittern Tambak Garam Madura. *Jurnal*

- Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(3), pp.142-145.
- Das, A., Paul, T., Halder, S. K., Maity, C., Mohapatra, P. K. D., Pati, B. R. & Mondal, K. C., 2013. Study on Regulation of Growth and Biosynthesis of Cellulolytic Enzymes from Newly Isolated 33 *Aspergillus fumigatus* ABK9. *Journal of Microbiology*, 62(1), pp. 31- 43.
- Djajasukma, 1993. *Isolasi Enzim Protease dari Mucor javanicus*. Prosiding Seminar Hasil Litbang SDH.
- Efendi, Y., Yusra & Efendi, V. O., 2017. Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(1), pp. 87-94.
- Fahrudin, F., Haedar, N. H. N., Santoso, S. & Wahyuni, S., 2019. Uji Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri dari Air dan Sedimen Sungai Tallo Terhadap Logam Timbal (Pb). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10(2), pp. 58-64.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S. A. & Al Asna, P. M., 2017. *Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan*. Balikpapan, Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning.
- Noviyanti, T. & Ardinarsih, P., 2012. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), pp. 31-34.
- Rahayu, S., 2014. *Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Sumber Air Panas Tamalantik Mamasa Sulawesi Barat*. *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rezakhani, N., Parivar, K., Khayati, M. & Etemadzade, S., 2014. Immobilization of Protease in Biopolymers (Mixture of Alginate-Chitosan). *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*, 5(4), pp. 108-113.
- Rosmania, R. & Yanti, F., 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), pp. 76-86.
- Setyati, W. A., Martani, E. & Zainuddin, M., 2015. Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Protease Isolat 36k dari Sedimen Ekosistem Mangrove, Karimun Jawa, Jepara. *Indonesian Journal of Marine Sciences / Ilmu Kelautan*, 20(3), pp. 163-169.
- Singh, R., Anshumali, M., Manoj, K. & Praveen, K. M., 2016. Microbial Proteases in Commercial Applications. *Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, 4(3), pp. 365-374.
- Sukmawati, 2018. Total Microbial Plates on Beef and Beef Offal. *Bioscience*, 2(1), 22– 28.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C. N. & Diana, M. S., 2019. Aktivitas dan Karakterisasi Enzim Protease Isolat *Bacillus* sp. (UJ132) Secara Kualitatif dan Kuantitatif. *Jurnal Riset Akuakultur*, 14(3), pp. 193-199.
- Vos, P. D., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H. & Whitman, W. B., 2009, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer Science-Business Media.
- Wijanarka, W., Soetarto, E. S., Dewi, K. & Indrianto, A., 2013. Kinetika Pertumbuhan dan Produksi Inulinase Fusan F7. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 15(2), pp. 53-57.
- Yahya, Y., Nusyam, H., Risjani, Y. & Soemarno, S., 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan*, 19(1), pp. 35-42.
- Zainuddin, M., Setyati, W. A. & Renta, P. P., 2017. Zona Hidrolisis dan Pertumbuhan Bakteri Proteolitik dari Sedimen Ekosistem Mangrove *Rhizophora mucronata* Telukawur-Jepara. *Jurnal Sumberdaya Perairan*. 11(2), pp. 31-35.