

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
PROTEASE DARI BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Bacillus subtilis* ATCC 6633**



**Diajukan Oleh:
Riqqah Qulbi Dzakirah
23175061A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
PROTEASE DARI BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Bacillus subtilis* ATCC 6633**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

Riqqah Qulbi Dzakhirah

23175061A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
PROTEASE DARI BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Bacillus subtilis* ATCC 6633**

Oleh :

**Riqqah Qulbi Dzakhirah
23175061A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : April 2021

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing Utama

Dr. Mardiyono, M.Si

Pembimbing Pendamping

Destik Wulandari, S.Pd, M.Si

Penguji :

1. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si
2. apt. Mamik Ponco Rahayu, M.Si.
3. apt. Fitri Kurniasari, M.Farm
4. Dr. Mardiyono, M.Si

1.

2.

3.

4.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini terdapat jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 6 April 2021



Riqqah Qulbi Dzakhirah

PERSEMBAHAN

“Allah SWT tidak pernah terlambat dalam mengabulkan semua permintaan hamba_Nya, hanya saja terkadang kita yang kurang bersabar dan bersyukur”

Persembahan syukurku untuk :

1. ALLAH SWT yang meridhai setiap perjuangan hamba-Nya.
2. Bapak, Ibu, dan semua keluarga besar yang selalu memberi semangat serta do'a.
3. Bapak Mardiyono dan Ibu Destik yang selalu memberi masukan, ilmu dan bimbingan sehingga tercapainya skripsi ini dengan baik.
4. Teman-teman seperjuangan Progdil S-1 Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan kasih-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “OPTIMASI WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Bacillus subtilis* ATCC 6633”, dengan harapan dapat memberikan tambahan ilmu terhadap kemajuan pendidikan khususnya dibidang farmasi. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rector Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. apt., R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. apt. Dewi Ekowati, S.Si, M.Sc selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memonitoring kemajuan proses perkuliahan.
4. Dr. Mardiyono, M.Si, selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, semangat, nasehat dan ilmu dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si, selaku dosen pembimbing pendamping yang selalu memberikan semangat, do'a, arahan , ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Tim penguji yang telah berkenan hadir dan memberikan kritik serta saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
7. Bapak, Ibu, serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan bimbingan, dukungan, do'a dan kesabaran sehingga penulis semangat dalam menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
8. Teman-temanku tersayang Juli, Dwi, Martha, Bep, Ria, Putri, Rohma, Ega, Aspin, serta teman-teman lain yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu yang telah mendukung saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

9. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
10. Semua pihak yang penulis tidak dapat menyebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari seluruh pihak terkait maka skripsi tidak akan selesai dengan baik. Penulis sangat berharap agar skripsi ini menjadi penambah ilmu bagi generasi penerus khususnya dalam bidang Farmasi. Dengan senang hati, penulis menerima kritik dan saran dari masyarakat karena penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna. Semoga Allah SWT selalu memberika keberkahan disetiap apa yang penulis selesaikan.

Surakarta, 6 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2. Morfologi dan identifikasi	5
B. <i>Bacillus subtilis</i>	6
1. Sistematika <i>Bacillus subtilis</i>	6
2. Morfologi dan identifikasi	7
C. Pertumbuhan Mikroorganisme	8
D. Fermentasi	10
E. Enzim Protease	11
F. Aplikasi Enzim Protease	14
G. Skim Milk Agar	15
H. Uji Aktivitas Enzim Protease Secara Kualitatif	16
I. Landasan Teori	17
J. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Populasi dan Sampel	20
1. Populasi	20

2.	Sampel	20
B.	Variabel Penelitian	20
1.	Identifikasi Variabel Utama	20
2.	Klasifikasi Variabel Utama	20
3.	Definisi Operasional Variabel Utama	21
C.	Alat dan Bahan	21
1.	Alat	21
2.	Bahan	22
D.	Jalannya Penelitian	22
1.	Sterilisasi Alat dan Bahan	22
2.	Pembuatan Media	22
3.	Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	23
4.	Peremajaan Isolat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	26
5.	Fermentasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	26
6.	Uji Aktivitas Enzim Protease Secara Kualitatif	26
E.	Analisis Data	27
F.	Skema Jalannya Penelitian	28
BAB IV	31
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	31
A.	Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	31
1.	Uji Morfologi	31
2.	Pewarnaan Gram	32
3.	Uji Koagulase	33
4.	Uji Katalase	34
B.	Identifikasi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	35
1.	Uji Morfologi	35
2.	Pewarnaan Gram	36
3.	Pewarnaan Spora	37
4.	Uji Gula-Gula	38
5.	Uji Koagulase	39
6.	Uji Katalase	40
C.	Peremajaan Isolat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	41

D. Inkubasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	41
E. Uji Aktivitas Enzim Protease yang dihasilkan oleh <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	44
BAB V	56
PENUTUP	56
A. Kesimpulan	56
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	66

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Aplikasi protease	15
2. Nilai Diameter Zona Bening Ekstrak Kasar Enzim	44
3. Nilai Diameter Zona Bening Pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2. Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	7
3. Kurva pertumbuhan mikroba.....	8
4. Skema jalannya penelitian	28
5. Produksi enzim protease.....	29
6. Tahapan uji aktifitas enzim protease.....	30
7. Pengamatan koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media selektif MSA.	31
8. Hasil pengamatan pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i> dibawah mikroskop.....	33
9. Hasil uji koagulase <i>Staphylococcus aureus</i>	34
10. Hasil uji katalase pada <i>Staphylococcus aureus</i>	35
11. Pengamatan koloni <i>Bacillus subtilis</i> pada media NA.	36
12. Hasil pengamatan pewarnaan Gram <i>Bacillus subtilis</i> dibawah mikroskop...	37
13. Hasil pengamatan pewarnaan spora <i>Bacillus subtilis</i> dibawah mikroskop...	38
14. Hasil uji gula-gula pada <i>Bacillus subtilis</i>	39
15. Hasil uji koagulase pada <i>Bacillus subtilis</i>	40
16. Hasil uji katalase pada <i>Bacillus subtilis</i>	41
17. Zona bening uji aktivitas protease pada ekstrak kasar enzim hasil inkubasi hari Ke-1.....	45
18. Zona bening uji aktivitas protease pada ekstrak kasar enzim hasil inkubasi hari Ke-2.....	46
19. Zona bening uji aktivitas protease pada ekstrak kasar enzim hasil inkubasi hari Ke-3.....	46
20. Zona bening uji aktivitas protease pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> hari Ke-1	49

21. Zona bening uji aktivitas protease pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> hari Ke-2.....	50
22. Zona bening uji aktivitas protease pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> hari Ke-3.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil Inkubasi Isolat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	67
2. Analisis SPSS Ekstrak Kasar Enzim dari Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	67
3. Analisis SPSS Isolat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	70

ABSTRAK

DZAKIRAH, R.Q., 2021, OPTIMASI WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Bacillus subtilis* ATCC 6633, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. Dibimbing oleh Dr. Mardiyono, M.Si dan Destik Wulandari, S.Pd., M.Si

Bakteri proteolitik adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim protease. Enzim protease telah diaplikasikan secara luas dibidang industri hingga kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui optimasi waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, dan untuk mengetahui bakteri yang menghasilkan aktivitas enzim protease yang lebih tinggi.

Beberapa tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu identifikasi bakteri, fermentasi bakteri, dan uji aktivitas enzim protease dari hasil fermentasi serta pada isolat *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk pada media *skim milk agar* saat proses inkubasi hari-1, ke-2 dan ke-3. Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dengan metode *analysis of variance* (ANOVA).

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas optimum enzim protease yang dihasilkan dari fermentasi *Staphylococcus aureus* adalah 2,49 cm pada hari ke -2 dan aktivitas optimum enzim protease yang dihasilkan dari fermentasi *Bacillus subtilis* adalah 1,96 cm pada hari ke -2, sedangkan aktivitas optimum enzim protease yang dihasilkan oleh isolat *Staphylococcus aureus* adalah 2,12 cm pada hari ke -3 dan aktivitas optimum enzim protease yang diperoleh dari isolat *Bacillus subtilis* adalah 1,39 cm pada hari ke -3. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim protease dengan aktivitas yang lebih tinggi dibanding *Bacillus subtilis*.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* , protease, *Skim Milk Agar*

ABSTRACT

DZAKIRAH, R.Q 2021, OPTIMIZATION FOR INCUBATION TIMES OF PROTEASE ENZYME ACTIVITY PRODUCED BY *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 AND *Bacillus subtilis* ATCC 6633, THESIS, BACHELOR OF PHARMACY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA. Supervised by Dr. Mardiyono, M.Si and Destik Wulandari, S.Pd., M.Si

Proteolytic bacteria are microorganisms with the ability to produce protease enzymes. Protease enzymes have been applied extensively in industry to health. This research is aim to know an optimization for incubation times of protease enzyme activity produced by the *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* bacteria that produce higher protease enzyme activity.

Many steps is taken in this research to identify bacteria, bacteria fermentation, and protease enzyme activities as well as to *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* measuring the diameter of the clear zone formed in the milk skim media to achieve during the day's incubation process. The data acquired is analysed in a descriptive *Analysis of Variance* (ANOVA).

Research indicates optimum enzyme protease activity produced from *Staphylococcus aureus* fermentation is 2.49 cm on the second day and optimum protease enzyme activities produced from *Bacillus subtilis* fermentation are 1.96 cm (6 in.) on the second day. Whereas the optimum enzyme protease activity produced by *Staphylococcus aureus* isolate is 2.12 cm (2.12 in.) on the third day and the optimum enzyme protease activity obtained from *Bacillus subtilis* isolate is 1.39 cm (1.39 cm) on the third day. *Staphylococcus aureus* produces a protease enzyme with higher activity than *Bacillus subtilis*

Keyword: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* , protease, skim milk agar

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan enzim sejak ribuan tahun lalu telah dilakukan hingga saat ini serta pemakaian enzim banyak dimanfaatkan pada bidang industri hingga kesehatan. Fungsi enzim sebagai agen katalisator pada kehidupan sehari-hari dimanfaatkan untuk mengolah makanan dan minuman seperti, keju, tempe, yogurt, anggur (*beer*), roti, yang diolah melalui kerja enzim dari berbagai mikroba. Istilah teknologi enzim secara kolektif dikenal seiring dengan perkembangan zaman. Penggunaan enzim sudah semakin berkembang dengan pesat dan banyak digunakan dibidang industri (Susanti & Fibriana, 2017). Pemakaian enzim bersifat lebih efisien dalam segi waktu dan biaya produksi, selektif, serta dinilai lebih ramah terhadap lingkungan karena tidak menghasilkan produk yang tidak diinginkan atau produk sampingan.

Beberapa masalah terkait kualitas lingkungan dan kesehatan yang semakin meninggi hingga saat ini membuat para ahli memiliki inisiatif untuk menjadikan peranan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif yang berkontribusi pada pemecahan beberapa masalah untuk peningkatan kualitas lingkungan dan kesehatan. Saat ini enzim telah banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, terutama pada industri bioteknologi secara konvensional ataupun mutakhir. Penggunaan bioteknologi secara tradisional, seperti industri makanan tingkat rumah tangga serta pengetahuan empiris tentang pengaplikasian praktis mikroorganisme yang biasa disebut ragi. Bioteknologi enzim telah dikenal memiliki banyak peranan pada skala industri, selain itu enzim juga telah digunakan secara luas didalam industri kertas dan tekstil. Enzim banyak diaplikasikan dalam pengolahan sampah organik serta air limbah untuk mengurangi pencemaran lingkungan pada bidang teknologi lingkungan. Enzim juga diketahui dapat dimanfaatkan untuk melakukan diagnosa sebagai marka pembantu reagen dibidang kesehatan (Susanti & Fibriana, 2017). Banyaknya manfaat yang dimiliki oleh enzim, membuat tingkat penggunaan dan kebutuhan

akan enzim semakin meningkat seiring dengan berjalannya waktu.

Meningkatnya kebutuhan akan enzim menyebabkan enzim telah banyak diproduksi untuk memenuhi kebutuhan komersial. Enzim dapat diperoleh dengan memanfaatkan sumber yang terdapat di alam, yaitu bersumber dari hewan, tumbuhan, maupun mikroorganisme. Enzim protease yang banyak digunakan terutama didalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme karena biaya produksi yang murah, dapat diproduksi dengan skala yang besar, tidak terpengaruh oleh adanya perubahan musim, dan waktu produksi relatif singkat. Kelemahan tanaman dan hewan sebagai sumber protease yaitu keterbatasan tersedianya tanah untuk area penanaman serta sulitnya menyesuaikan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan tanaman, sulitnya melakukan ekstraksi enzim karena membutuhkan peralatan mahal, memerlukan waktu yang banyak untuk menghancurkan jaringan pada tanaman yang besar dan keras, serta harus membunuh banyak hewan untuk mengekstraksi enzim protease tersebut (Susanti, 2002). Banyaknya kelemahan yang terjadi apabila melakukan produksi enzim dengan menggunakan hewan ataupun tumbuhan, melatar belakangi penggunaan mikroorganisme yaitu bakteri untuk melakukan produksi menggunakan enzim karena memiliki lebih banyak keuntungan dibandingkan dengan menggunakan hewan ataupun tumbuhan.

Perdagangan enzim dan produksi saat ini didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti katalase, amilase, lipase, dan protease (Poernomo, 2003). Protease merupakan salah satu jenis enzim yang aplikasinya sangat luas dalam aplikasi di berbagai bidang industri dan memiliki persentase sebesar 65% dari total penjualan enzim di dunia (Chutmanop *et al*, 2008). Penjualan enzim protease memiliki tingkat persentase yang lebih tinggi dibanding dengan penjualan enzim lainnya, hal tersebut menunjukkan tingginya tingkat kebutuhan enzim protease pada skala dunia. Enzim protease banyak dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi untuk memproduksi asam amino dan peptida dari substrat bermolekul tinggi atau dalam tekstil, industri kulit, penggunaan dalam pengolahan air limbah, peternakan unggas, obat-obatan, industri pengolahan kulit dan kosmetik (Uddin *et al*, 2014). Banyaknya manfaat serta tingginya kebutuhan akan enzim protease

menjadi alasan utama dilakukannya penelitian ini untuk mencari sumber baru enzim protease yang berasal dari bakteri. Bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease disebut dengan bakteri proteolitik.

Sebagian besar bakteri dari genus *Bacillus sp* merupakan mikroba sebagai produsen utama yang mampu menghasilkan enzim protease secara ekstraseluler (Nascimento dan Martins, 2006). Bakteri dari genus *Bacillus sp* diketahui mampu tumbuh dalam substrat yang murah dan dapat hidup dalam lingkungan dengan suhu yang tinggi, tidak mengandung racun, sering digunakan dalam industri pangan maupun non pangan (Soeka & Sulistiani, 2014) , dan memiliki potensi sebagai bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease (Fatichah, 2011). Beberapa produk enzim protease yang telah berhasil melalui proses pemurnian kemudian dikomersialkan, yaitu, Esperase dari *Bacillus lentus*, Subtilisin dari *Bacillus alcalophilus*, Biofeed pro dari *Bacillus licheniformis*, serta Alcalase dari *Bacillus licheniformis* (Gupta *et al.* 2002). Potensi yang dimiliki oleh *Bacillus sp* dalam menghasilkan enzim protease, mendorong penelitian ini memanfaatkan *Bacillus subtilis* untuk menghasilkan enzim protease serta mengukur aktivitasnya selama waktu inkubasi.

Fatoni (2012) meneliti bahwa selain *Bacillus sp*, salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim protease ekstraseluler adalah *Staphylococcus sp*. Berdasarkan hasil penelitian diatas, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas dari enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan memperhatikan sifat patogennya, selain itu minimnya penelitian mengenai potensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri proteolitik serta karakterisasi enzim protease yang dihasilkan bakteri tersebut menjadikan penelitian ini perlu dilakukan.

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui optimasi waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim protease dari bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan untuk mengetahui di antara kedua genus tersebut yang menunjukkan potensi tertinggi sebagai agen proteolitik dengan mengukur aktivitas protease secara kualitatif pada media *skim milk agar*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah nilai diameter zona bening aktivitas enzim protease yang dihasilkan dari fermentasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pada waktu yang optimum?
2. Berapakah nilai diameter zona bening aktivitas enzim protease yang dihasilkan dari isolat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pada waktu yang optimum?
3. Manakah diantara bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 yang memiliki aktivitas yang paling tinggi?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui nilai diameter zona bening aktivitas enzim protease yang dihasilkan dari fermentasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pada waktu yang optimum.
2. Mengetahui nilai diameter zona bening aktivitas enzim protease yang dihasilkan dari isolat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pada waktu yang optimum.
3. Mengetahui diantara bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 yang memiliki aktivitas yang paling tinggi.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* sebagai mikroba penghasil enzim protease dalam pemanfaatan agen biologis di bidang farmasi dan industri.