

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC
8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Ninda Putri Cahyaningrum
21154440A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC
8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Ninda Putri Cahyaningrum
21154440A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC
8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh:

**Ninda Putri Cahyaningrum
21154440A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 20 Juni 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Ana Indrayati, M.Si., Dr.

Pembimbing Pendamping,

D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si.

Penguji:

1. Nony Puspawati, Dra., M.Si.
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. Meta Kartika Untari, M.Sc., Apt.
4. Ana Indrayati, M.Si., Dr.

1.

3.

2.

4.

PERSEMBAHAN

“Dan janganlah kamu (merasa) lemah, jangan (pula) bersedih hati, sebab kamu paling tinggi (derajatnya), jika kamu orang yang beriman”

(Al-Qur'an surat Ali 'Imran ayat 139)

Special thanks for:

ALLAH SWT

Alhamdulillah, puji syukur atas segala rahmat dan petunjuk dari Allah SWT yang telah memberi hamba kesehatan, kekuatan, membekaliku dengan ilmu dan ridho-Nya. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan.

ORANGTUA TERCINTA

Sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih yang tiada terhingga kupersembahkan skripsi ini kepada orangtuaku yaitu Bapak Suhardi dan Ibu Siti Jumaidah yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, ridho, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas. Semoga ini langkah awal untuk membuat Bapak dan Ibu bahagia.

SAHABAT SEPERJUANGAN

Buat kawan-kawanku BUBUHAN KERONGO, BUBUHAN RAMUTU, dan teman kos seperjuangan yang selalu memberikan motivasi, nasihat, dukungan, dan hiburan

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

Surakarta, 20 Juni 2019



Ninda Putri Cahyaningrum

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya serta kasih dan sayangNya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai derajat sebagai Sarjana Farmasi (S. Farm) pada Program studi S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Penyusunan skripsi ini melibatkan banyak pihak yang sangat membantu penulis dalam berbagai hal, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis sampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
6. Lukito Minda Cahyo, SKG., M.PH selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat dan motivasinya.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian skripsi ini.

8. Bapak dan ibuku tercinta yang merupakan alasan untuk selalu semangat untuk menjadi cerdas sepertimu, do'a dan dukungan moril maupun materil yang diberikan hingga skripsi ini dapat selesai.
9. Keluarga ku dan saudara-saudara ku yang telah memberikan dukungan, doa, semangat, dan hiburannya.
10. Bubuhan Kerongo dan Bubuhan Ramutu rekan seperjuangan yang setia tiada henti memberi dukungan dan motivasi untukku.
11. Rekan seperjuangan penelitian Adistia yang sudah saling mengingatkan dan memberikan semangatnya.
12. Pemberi dukungan Dody Firmansah yang sudah memberikan motivasi dan nasihat.
13. Semua pihak yang banyak membantu dan pihak yang sempat memberi pengaruh selama perkuliahan hingga skripsi ini selesai yang penulis tidak bisa sebutkan semuanya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak terdapat kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang sifatnya membangun dari pembaca guna kesempurnaan dalam penulisan dalam penulisan skripsi ini. Harapan penulis, skripsi ini dapat berguna bagi pihak yang terkait.

Surakarta, 20 Juni 2019



Ninda Putri Cahyaningrum

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
INTISARI.....	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Bakteri	6
1. Bakteri <i>E. coli</i>	6
2. Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	6
3. Bakteri <i>S. thypi</i>	7
4. Bakteri <i>S. marcescens</i>	7
5. Bakteri <i>S. aureus</i>	7
B. Enzim Protease	8
C. Karakteristik Protease.....	8
D. Media.....	9
1. Berdasarkan bentuknya	9
1.1 Media padat.....	9
1.2 Media semi padat.	10
1.3 Media cair.	10
2. Berdasarkan Komposisi/Susunannya	10
2.1 Media alami/non sintetis.	10
2.2 Media semi sintesis.	10
2.3 Media sintesis.....	10
3. Berdasarkan fungsinya	10

3.1	Media basal.....	10
3.2	Media Diferensial.....	11
3.3	Media selektif.....	11
3.4	Media diperkaya (<i>enrichment</i>).....	11
3.5	Media pengkayaan.	11
3.6	Media uji (identifikasi).	12
3.7	Medium umum.....	12
3.8	Medium khusus (spesifik).....	12
3.9	Medium penguji (<i>Assay medium</i>).	12
3.10	Medium perhitungan jumlah mikroba.	12
E.	Isolasi Bakteri.....	12
1.	Cara penuangan.....	12
2.	Cara penggoresan.....	13
3.	Cara penyebaran.....	13
F.	Fermentasi.....	13
G.	Aktivitas Enzim.....	14
1.	Suhu.....	15
2.	pH (keasaman).....	15
3.	Konsentrasi enzim.....	15
4.	Konsentrasi substrat.....	15
5.	Aktivator dan inhibitor.....	15
H.	Metode Sterilisasi.....	16
1.	Metode sterilisasi.....	16
1.1	Sterilisasi dengan cara rebus.....	16
1.2	Sterilisasi dengan cara panas basah.	16
1.3	Sterilisasi dengan cara panas kering.	16
1.4	Sterilisasi dengan cara menggunakan bahan kimia.	17
1.5	Sterilisasi dengan radiasi.....	17
1.6	Sterilisasi dengan penyaringan.	17
1.7	Sterilisasi gas.	17
2.	Macam-macam sterilisasi.....	17
2.1	Sterilisasi cara mekanik (filtrasi).	17
2.2	Sterilisasi secara termal.....	17
2.3	Sterilisasi secara kimiawi.....	18
I.	Landasan Teori.....	18
J.	Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
1.	Populasi.....	21
2.	Sampel.....	21
B.	Variabel Penelitian.....	21
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	21
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	21
3.	Definisi Operasional Variabel Utama.....	22
C.	Alat dan Bahan.....	22

1. Alat	22
2. Bahan.....	23
2.1 Bahan Utama.....	23
2.2 Media.	23
2.3 Pewarnaan.	23
D. Jalan Penelitian.....	23
1. Identifikasi Gen Protease.....	23
2. Peremajaan Bakteri.....	23
3. Identifikasi Bakteri	24
3.1 Identifikasi berdasarkan Koloni	24
3.2 Identifikasi Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram.	24
3.3 Identifikasi Bakteri Gram Negatif dengan Uji Biokimi	24
3.4 Identifikasi Bakteri Gram Positif	25
4. Pembuatan Media <i>Skim Milk Agar</i>	26
5. Fermentasi Bakteri	26
6. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease.....	26
7. Penentuan Suhu Optimum Enzim	26
8. Penentuan pH Optimum Enzim.....	27
E. Analisis Hasil.....	27
F. Skema Penelitian	27
1. Identifikasi Gen Protease.....	27
2. Peremajaan Bakteri.....	28
3. Identifikasi Bakteri	28
4. Pembuatan Media <i>Skim Milk Agar</i>	28
5. Fermentasi Bakteri	29
6. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease.....	30
7. Penentuan Suhu Optimum Enzim	30
8. Penentuan pH Optimum Enzim.....	30
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 31
1. Identifikasi Gen Protease.....	31
2. Peremajaan Bakteri.....	31
3. Identifikasi Bakteri	32
3.1 Identifikasi berdasarkan Koloni.	32
3.2 Identifikasi secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram.	33
3.3 Identifikasi Bakteri Gram Negatif dengan Uji Biokimia	34
3.4 Identifikasi Bakteri Gram Positif	36
4. Fermentasi Bakteri	37
5. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease.....	39
6. Penentuan Suhu Optimum Enzim	44
7. Penentuan pH Optimum Enzim.....	45
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	 48
A. Kesimpulan.....	48

B. Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema identifikasi gen protease	27
Gambar 2. Skema peremajaan bakteri	28
Gambar 3. Skema identifikasi bakteri	28
Gambar 4. Skema pembuatan media produksi	28
Gambar 5. Produksi enzim protease	29
Gambar 6. Uji aktivitas ekstrak kasar enzim protease	30
Gambar 7. Penentuan suhu optimum enzim	30
Gambar 8. Penentuan pH optimum enzim	30
Gambar 9. Hasil uji katalase positif	36
Gambar 10. Hasil uji koagulase positif	37
Gambar 11. Diagram aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>S. typhi</i> ATCC 13311, <i>S. marcescens</i> ATCC 8100, dan <i>S. aureus</i> ATCC 25923	43
Gambar 12. Penentuan suhu optimum enzim protease	45
Gambar 13. Penentuan pH optimum enzim protease	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri secara makroskopis.....	32
Tabel 2. Hasil identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram	33
Tabel 3. Hasil Identifikasi Bakteri Gram Negatif dengan Uji Biokimia.....	34
Tabel 4. Nilai Diameter Zona Bening	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Software <i>National Center for Biotechnology Information</i> (NCBI)	55
Lampiran 2. Hasil Peremajaan Bakteri	55
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Bakteri Secara Makroskopis	56
Lampiran 4. Hasil Identifikasi Secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram .	57
Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri Gram Negatif	58
Lampiran 6. Hasil Fermentasi Bakteri	60
Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease	61
Lampiran 8. Hasil Penentuan Suhu Optimum Enzim	63
Lampiran 9. Hasil Penentuan pH Optimum Enzim	64
Lampiran 10. Bahan-bahan Penelitian	65
Lampiran 11. Hasil Uji Statistik Fermentasi Bakteri <i>E. coli</i>	66
Lampiran 12. Hasil Uji Statistik Fermentasi Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	68
Lampiran 13. Hasil Uji Statistik Fermentasi Bakteri <i>S. typhi</i>	70
Lampiran 14. Hasil Uji Statistik Fermentasi Bakteri <i>S. marcescens</i>	72
Lampiran 15. Hasil Uji Statistik Fermentasi Bakteri <i>S. aureus</i>	74
Lampiran 16. Hasil Uji Statistik Bakteri <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. marcescens</i> , dan <i>S. aureus</i> Sebagai Penghasil Enzim Protease.....	76

INTISARI

CAHYANINGRUM, N.P., 2019, ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM PROTEASE DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Enzim protease merupakan biokatalisator untuk reaksi pemecahan protein menjadi oligopeptida atau asam amino. Protease berperan penting dalam banyak industri. Enzim protease dapat diperoleh dari bakteri baik secara alami atau melalui rekayasa genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan karakterisasi enzim protease dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu identifikasi bakteri yang meliputi pengamatan morfologi, pewarnaan Gram, dan pengujian biokimia. Fermentasi bakteri dan uji aktivitas ekstrak kasar enzim protease menggunakan metode difusi dalam media *Skim Milk Agar*. Penentuan aktivitas enzim diuji berdasarkan pengaruh suhu dan pH.

Hasil penelitian menunjukkan kelima bakteri yang digunakan pada penelitian ini mampu menghasilkan enzim protease. Aktivitas protease terbesar berasal dari *P. aeruginosa* ATCC 27853 dengan diameter zona bening sebesar 15,62 mm. Karakteristik protease dari *P. aeruginosa* ATCC 27853 memiliki suhu dan pH optimum sebesar 30°C dan pH 8.

Kata Kunci: Karakteristik, bakteri proteolitik, enzim protease,

ABSTRACT

CAHYANINGRUM, N.P., 2019, ISOLATION, ACTIVITY TEST, AND CHARACTERISTICS OF ENZYME PROTEASE FROM BACTERIA OF *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, AND *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Protease enzyme is a biocatalyst for the reaction of protein breakdown into oligopeptides or amino acids. Protease plays an important role in many industries. Protease enzymes can be obtained from bacteria either naturally or through genetic engineering. This study aimed to determine the activity and characterization of protease enzymes from *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The research was conducted in several stages, namely identification of bacteria which included observations of morphology, Gram staining, and biochemical testing. Bacterial fermentation and test activities for the crude extract of protease enzymes used the diffusion method in the *Skim Milk Agar* media. Determination of enzyme activity was tested based on the influence of temperature and pH.

The results showed that the five bacteria used in this study were able to produce protease enzymes. The largest protease activity originated from *P. aeruginosa* ATCC 27853 with a clear zone diameter of 15.62 mm. Protease characteristics of *P. aeruginosa* ATCC 27853 have an optimum temperature and pH of 30°C and pH of 8.

Keywords: Characteristics, proteolytic bacteria, protease enzyme

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan mikroorganisme memberikan manfaat banyak bagi manusia terutama pemanfaatannya untuk memproduksi bahan-bahan yang bernilai ekonomis salah satunya adalah enzim (Dali *et al.* 2009). Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim merupakan salah satu produk alami dan telah digunakan sejak dahulu kala oleh masyarakat, seperti dalam penyamakan kulit, pelunakan daging dan pembuatan keju (Li *et al.* 2012).

Perkembangan enzim sudah semakin pesat dan menempati posisi penting dalam bidang teknologi dan industri. Beberapa tahun terakhir, telah banyak dilakukan pemanfaatan enzim baik industri pada bidang pangan dan non pangan (Rawat 2015). Hal ini telah terbukti dengan meningkatnya jumlah pemanfaatan enzim untuk berbagai industri. Nilai perdagangan enzim didunia mencapai 3-4 miliar per tahun, sedangkan di Indonesia, hampir seluruh kebutuhan enzim yang digunakan diimpor dari luar negeri, yakni mencapai 4-5 juta dolar (Baehaki *et al.* 2011).

Produksi dan perdagangan enzim saat ini didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease, katalase, dan lipase. Protease tidak hanya berperan dalam proses metabolisme seluler, namun juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri. Protease merupakan satu diantara tiga kelompok enzim komersial yang diperdagangkan dengan nilai mencapai 60% total penjualan enzim yang aplikasinya digunakan didalam berbagai industry (Baehaki *et al.* 2011).

Protease merupakan enzim yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino (Rezakhani *et al.* 2014). Protease adalah enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein (Rahayu 2014). Protease memiliki potensi untuk aplikasi dalam industri pangan, antara lain untuk meningkatkan nilai gizi, rasa,

pengolahan susu menjadi keju, penjernihan bir, dan industri farmasi membantu pencernaan pada pancreas dan mencegah atau mengobati penyakit seperti kanker, juga industri non pangan yaitu industri deterjen, penyamakan kulit, tekstil serta bermanfaat dalam pengelolaan limbah domestik dan industri (Singh *et al.* 2016).

Protease merupakan enzim yang berfungsi untuk menguraikan protein di dalam tubuh dan merupakan enzim proteolitik, yang berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel dari makhluk hidup. Penggunaan protease tidak hanya dimanfaatkan dalam tubuh makhluk hidup saja, tetapi juga dimanfaatkan untuk keperluan di berbagai bidang di luar kehidupan makhluk hidup. Dalam bidang farmasi, protease digunakan dalam proses deproteinasi yaitu proses menghilangkan protein. Proses deproteinasi ini misalnya digunakan dalam proses pembuatan chitosan. Chitosan adalah bahan alami yang direkomendasikan untuk digunakan sebagai pengawet makanan karena tidak beracun dan aman bagi kesehatan (non-formalin). Protease memiliki daya katalitik yang spesifik dan efisien terhadap ikatan peptida dari suatu molekul polipeptida atau protein. Enzim ini dapat diisolasi dari beberapa jenis makhluk hidup seperti tumbuhan (papain dan bromelin), hewan (tripsin, kimotripsin, pepsin, dan renin), mikroorganisme seperti bakteri, kapang, virus, dan cacing (Betha & Ofa 2009).

Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease terbatas oleh tersedianya lahan tanam dan kondisi pertumbuhan yang sesuai, serta memerlukan waktu produksi enzim yang lama. Produksi protease dari hewan juga dibatasi oleh ketersediaan ternak penghasil enzim. Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang paling potensial dibandingkan tanaman dan hewan (Said & Likadja 2012). Mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan karena lebih efisien, selektif, dapat diprediksi, reaksi tanpa produk samping, dan ramah lingkungan. Sifat-sifat tersebut menyebabkan penggunaan enzim semakin meningkat dari tahun ke tahun, peningkatan diperkirakan mencapai 10–15% per tahun. Biakan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan protozoa memiliki kemampuan dapat memproduksi protease (Arastu-Kapur *et al.* 2008). Secara ekonomi enzim protease dari mikroorganisme lebih menguntungkan dikarenakan mikroorganisme

pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetika, serta mampu menghasilkan enzim dengan kondisi ekstrim (Singh *et al.* 2016).

Beberapa genus bakteri yang diketahui mampu menghasilkan protease diantaranya *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptomyces*, dan *Pseudomonas*. *Clostridium*, *Proteus*, dan *Serratia* merupakan penghasil enzim protease yang cukup potensial (Said & Likadja 2012). Selain bakteri yang telah disebutkan tersebut masih banyak lagi bakteri yang berpotensi menghasilkan enzim protease. Berdasarkan penelusuran pustaka melalui *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) beberapa bakteri diketahui memiliki gen protease yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. marcescens*, dan *S. aureus*.

Enzim protease yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. pada media yang diberi FeCl_3 hasil paparan medan magnet 0,2 mT dilaporkan memiliki pH optimum 9 dan suhu optimum 55°C (Pasaribu 2017), sedangkan menurut Agustina (2017) protease dari *Bacillus* sp. pada media yang diberi NaCl hasil paparan medan magnet 0,2 mT memiliki pH optimum 6 dan suhu optimum 45°C. Enzim protease yang diproduksi oleh *P. aeruginosa* memiliki pH optimum 8 dan suhu optimum 30°C (Baehaki *et al.* 2008). Vazquez *et al.* (2008) melaporkan protease *Pseudoalteromonas* sp strain P96-47 yang berasal dari laut Antartik memiliki pH optimum 7-9 dan suhu optimum 45°C.

Enzim protease dari isolat LnA4 yaitu bakteri hasil isolasi dari whey tahu memiliki aktivitas protease optimum pada pH 7.5 serta memiliki aktivitas protease dari isolat LnA4 ini mencapai nilai optimum pada suhu 37°C (Wardani & Nindita 2012). Aktivitas enzim protease dari daun kelor memiliki pH optimum 6 dan suhu optimum 60°C (Fathimah & Wardani 2014). Enzim protease dari isolat A6S3 dan A15S3 yaitu bakteri hasil isolasi dari sumber air rawa indralaya memiliki aktivitas protease optimum pada pH 8 dan suhu optimum 50°C (Baehaki *et al.* 2012).

Enzim protease berguna untuk kebutuhan industri seperti untuk deterjen, pasta gigi, industri penyamakan kulit, medis dan lain-lainnya. Salah satu sumber enzim protease adalah dari bakteri. Bakteri memiliki peran penting sebagai

penghasil protease karena memiliki beberapa keunggulan antara lain, bakteri memiliki siklus hidup yang singkat, efisiensi waktu dan tempat produktivitas tinggi.

Enzim protease memiliki peranan penting dikalangan industri, maka pada penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, uji aktivitas dan karakterisasi enzim protease dari bakteri penghasil protease yang berasal dari lima macam bakteri yaitu *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhi* ATCC 13311, *S. marcescens* ATCC 8100, dan *S. aureus* ATCC 25923 berdasarkan ketahannya dengan variasi pH 4, pH 5, pH 6, pH 7, pH 8 dan suhu yang bervariasi mulai dari suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah bakteri *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhi* ATCC 13311, *S. marcescens* ATCC 8100, dan *S. aureus* ATCC 25923 mampu menghasilkan enzim protease ?

Kedua, manakah dari bakteri *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhi* ATCC 13311, *S. marcescens* ATCC 8100, dan *S. aureus* ATCC 25923 yang memiliki aktivitas enzim protease tertinggi ?

Ketiga, bagaimana karakteristik protease dari bakteri yang menghasilkan enzim protease dengan aktivitas tertinggi berdasarkan variasi suhu dan pH ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui kemampuan *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhi* ATCC 13311, *S. marcescens* ATCC 8100, dan *S. aureus* ATCC 25923 dalam menghasilkan enzim protease.

Kedua, mengetahui aktivitas enzim protease tertinggi dari *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhi* ATCC 13311, *S. marcescens* ATCC 8100, dan *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui karakteristik protease dari bakteri yang menghasilkan enzim protease dengan aktivitas tertinggi berdasarkan variasi suhu dan pH

D. Manfaat Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas yang bermanfaat bagi bidang ilmu farmasi, bidang ilmu biologi dan bidang ilmu kesehatan lainnya mengenai enzim protease. Menambah informasi tentang potensi bakteri penghasil enzim protease. Memberikan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

