

**SKRINING BAKTERI PROTEOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN  
KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT  
SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia**



**Oleh :**

**BENING FITRI RINI**

**08031381823052**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
INDRALAYA**

**2022**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**SKRINING BAKTERI PROTEOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN  
KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT  
SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT**

**SKRIPSI**

Diajukan sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia

Oleh :

**BENING FITRI RINI**

**08031381823052**

Indralaya, 02 November 2022

Mengetahui,

**Pembimbing I**



**Dr. Heni Yohandini, M.Si.**

NIP. 197011152000122004

**Pembimbing II**



**Dr. Ferlinahayati, M.Si.**

NIP. 197402052000032001



**Dekan FMIPA**

**Prof. Hermansyah, Ph.D.**

NIP. 197111191997021001

## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul “Skrining Bakteri Proteolitik, Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Protease dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 25 Oktober 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 02 November 2022

Ketua :

1. **Dr. Muhammad Said, M.T.**

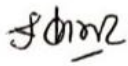
NIP. 197407212001121001

(  )

Pembimbing :

1. **Dr. Heni Yohandini, M.Si**

NIP. 197011152000122004

(  )

2. **Dr. Ferlinahayati, M.Si.**

NIP. 197402052000032001

(  )

Penguji :

1. **Dra. Julinar, M.Si.**

NIP. 196507251993032002


(  )


2. **Dr. Desnelli, M.Si.**

NIP. 196912251997022001

(  )

Mengetahui,

  
**Dekan FMIPA**  
**Prof. Hermansyah, Ph.D.**  
NIP. 197111191997021001

  
**Ketua Jurusan Kimia**  
**Dr. Muharni, M.Si.**  
NIP. 196903041994122001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama Mahasiwa : Bening Fitri Rini

NIM : 08031381823052

Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 02 November 2022

Yang menyatakan,



Bening Fitri Rini

NIM. 08031381823052

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Bening Fitri Rini  
NIM : 08031381823052  
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia  
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Skrining Bakteri Proteolitik, Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Protease dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat” dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit/ memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 02 November 2022

Yang menyatakan,



Bening Fitri Rini

NIM. 08031381823052

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Ya Allah,

Berikanlah aku kedamaian untuk menerima apa yang tidak dapat aku ubah,  
Keberanian untuk mengubah apa yang dapat aku ubah serta  
Kebijaksanaan untuk membedakan keduanya.

---

Keberanian itu saat takut tapi tetap melangkah,  
Keyakinan itu saat putus asa tapi memilih maju dan  
Kekuatan itu adalah saat kita lemah tapi tetap berusaha.

(Bening Fitri Rini)

**Skripsi ini hadir karena kebaikan dari Allah SWT Maha Kuasa atas segala  
sesuatu & Rasulullah SAW Sang Suri Tauladan.**

**Skripsi ini dipersembahkan untuk Mama dan (Alm) Ayah, serta seluruh  
keluarga yang senantiasa mendoakan segala hal terbaik untukku dan juga  
dipersembahkan kepada Almamater kebanggan Universitas Sriwijaya.**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan kasih sayang-Nya serta shalawat seiring salam kepada Rasulullah SAW yang menjadi suri tauladan bagi umat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining Bakteri Proteolitik, Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Protease dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari rintangan, mulai dari mencari literatur, penelitian, pengumpulan dan pengolahan data hingga pada tahap penulisan. Namun, dengan kesabaran, doa dan ketekunan yang dilandasi rasa tanggung jawab selaku mahasiswa serta bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulisan skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Dr. Heni Yohandini, M.Si.** dan Ibu **Dr. Ferlinahayati, M.Si.** yang telah memberikan bimbingan, bantuan baik berupa secara moril dan material, motivasi, saran, serta petunjuk kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Hermansyah, Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya
2. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya
3. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya
4. Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasihat serta bimbingan dari awal masa perkuliahan hingga Tugas Akhir
5. Ibu Dra. Julinar, M.Si. dan Ibu Dr. Desnelli, M.Si. selaku Dosen Pembahas dan Penguji Sidang Sarjana yang telah memberikan masukan, kritik maupun

saran sehingga penulis dapat memperbaiki kesalahan-kesalahan yang terdapat dalam skripsi

6. Seluruh Dosen FMIPA Kimia Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu, mengajar serta mendidik selama masa perkuliahan
7. Kedua orang tua yang aku sayangi, Mama dan (alm) Ayah, terimakasih atas lantunan doa, seluruh perjuangan dan pengorbanan yang telah dilakukan, terimakasih sudah menjadi orang tua dan sahabat terbaik dalam hidup Bening. Mohon maaf atas kesalahan dan kekurangan yang Bening lakukan. Semoga Allah selalu melindungi mama dan ayah. Soon kita berkumpul lagi.
8. Keluarga besar mama dan ayah, pade bude, sepupu, yang telah mensupport selama masa perkuliahan.
9. Mba Novi dan Ka Chosiin selaku Admin Jurusan Kimia yang ramah dan banyak membantu dalam proses perkuliahan hingga tugas akhir
10. Ibu Siti Nuraini, S.T., Ibu Yuniar, S.T., M.Sc. dan Ibu Hanida Yanti, A.Md. selaku analis di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
11. Teruntuk partner penelitian terribet, terrempong, terheboh dan termumet Fira dan Reza selama penelitian sampai akhirnya S.Si. Terimakasih dan mohon maaf atas segala kekurangan yaa
12. Tim PKM-RE 2021 Ka Enal, Alep, Dinda dan Feby, atas segala pengalaman berharga selama pkm dan kelucuan tingkah kalian, terimakasih banyak ya guys, aku sangat bersyukur bisa mengenal kalian semasa kuliah ini
13. Grup Zoo, Ka Agus, Alep, Sasti, Dinda dan Feby, terimakasih banyak ya teman-teman grup zoo yang sudah menemani, menghibur, berbagi cerita, tertawa, marah sampai menangis pun pernah kita lewati. Terimakasih banyak sudah mau saling menerima bagaimanapun sifat orang-orangnya. Semoga persahabatan ini sampai surga nanti yaa. Aamiin.
14. Ayunda Sherly sahabat dari SMA dan Nadia Saputri sahabat dari SMP, yang sudah mau dan bersedia mendengarkan semua celotehan dan menerima sifatku, saling menasihati, dan memahami satu sama lain. Ada banyak yang ingin aku ucapkan tapi keburu nangis, biar Allah yang tau seberapa besar rasa sayangku ke kalian ya.



15. Teman-teman KKN 94 Lubuk Tampui Dinda, Kare, Munir, Jali, Kevin dan Jaka, dan orang-orang baik di Lubuk Tampui, terimakasih atas kenangan indahnyanya selama ini, senang sekali bertemu dengan kalian dan masih bisa berteman sampai saat ini. Apakah akan ada KKN episode 2?
16. Adik-adikku Fitri, Dea, Ayu, Adelvin, Muti, dan dinda terimakasih atas kebaikan kalian selama ini ya, semangat kuliah dan penelitiannya, selesaikan apa yang sudah dimulai secara perlahan dan penuh rasa syukur. Mohon maaf atas segala kurang dari kakak ya, semoga Allah mempermudah langkah kalian semua
17. Ka Apres, Ka Oik, Mba Dilla, Ka Aknes yang berperan penting dalam setiap proses aku bertumbuh menjadi manusia yang lebih baik lagi
18. Teman-teman angkatan 2018 yang dengan beragam karakter telah memberikan warna pada kehidupan penulis selama kuliah.
19. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu per satu, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan baik.

Semoga bimbingan, ilmu, bantuan dan masukan yang diberikan kepada penulis menjadi amal jariah dan bernilai pahala disisi Allah Swt., penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahannya, sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua orang serta pengembangan ilmu kimia dasar yang akan datang.

Indralaya, 02 November 2022

Penulis

## SUMMARY

### SCREENING PROTEOLYTIC BACTERIA, PARTIAL PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF PROTEASE ENZYME ACTIVITY FROM THE ISOLATES FROM TANJUNG SAKTI LAHAT HOT SPRINGS

Bening Fitri Rini: Supervised by Dr. Heni Yohandini, M.Si.  
dan Dr. Ferlinahayati, M.Si.

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya  
University

xvii + 66 pages, 2 tables, 10 pictures, 10 attachments

The protease enzyme is one of the most widely used enzymes in the industrial field. The majority of industrial processes require enzymes that are able to withstand high temperatures. Thermostable protease enzymes can be obtained from microorganisms that have the ability to live at high temperatures, one of which is thermophilic bacteria. The production of protease enzymes requires substrates other than skim milk which is easy to obtain and abundant, only from chicken feather waste because it contains 90% protein. In this study, proteolytic bacterial screening, partial purification and characterization of protease enzyme activity from hot spring isolates of Tanjung Sakti Lahat have been carried out.

Screening of proteolytic activity using selective media in the form of skim milk against 15 isolates of thermophilic bacteria. The selected bacterial isolates were then determined the optimum time of incubation by calculating the number of cells on the growth curve using a hemasitometer and tested for their enzyme activity by the Bergmeyer method on skimmed milk media and chicken feather meal. Crude extract of enzymes is fractionated using ammonium sulfate and dialysis. The fraction with the highest enzyme-specific activity is used for the characterization of enzymes against the influence of temperature, pH and substrate concentration.

The results showed that the highest proteolytic activity was produced by isolates of the bacterium *Bacillus licheniformis* TS-17 with a proteolytic index of 7.1 mm. The optimum incubation time for protease enzyme production was produced at 32 hours on chicken feather meal media with an enzyme activity value of 0.7711 U/mL and a cell count of  $4.89 \times 10^8$  cells/mL. Crude extract of enzymes produced in chicken feather flour media has a specific activity of 1,5247 U/mg. The enzyme fraction with the highest activity was obtained at fraction 4 at a saturation level of 60-80% with a protein content of 0,2684 mg/mL the specific activity value of the enzyme was 2,0718 U/mg and with an increase in purity of 1.35 times compared to its crude extract. The highest protease enzyme activity was produced at a temperature of 60°C, pH 8 and a substrate concentration of 1.25% with an optimum activity value of 0.7691 U/mL.

Key words : Protease enzyme, *Bacillus licheniformis*, Chicken feather meal,  
Bergmeyer's method, Enzyme activity

Citation : 86 (1994-2022)

## RINGKASAN

### **SKRINING BAKTERI PROTEOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT**

Bening Fitri Rini: Dibimbing oleh Dr. Heni Yohandini, M.Si.  
dan Dr. Ferlinahayati, M.Si.

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xvii +66 halaman, 2 tabel, 10 gambar, 10 lampiran

Enzim protease merupakan salah satu enzim yang paling banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Mayoritas proses industri membutuhkan enzim yang mampu bertahan pada suhu tinggi. Enzim protease termostabil dapat diperoleh dari mikroorganisme yang memiliki kemampuan hidup pada suhu tinggi salah satunya bakteri termofilik. Produksi Enzim protease membutuhkan substrat selain susu skim yang mudah didapatkan dan berlimpah satunya dari limbah bulu ayam karena mengandung protein sebesar 90%. Pada Penelitian ini telah dilakukan skrining bakteri proteolitik, pemurnian parsial dan karakterisasi aktivitas enzim protease dari isolat sumber air panas tanjung sakti lahat.

Skrining aktivitas proteolitik menggunakan media selektif berupa susu skim terhadap 15 isolat bakteri termofilik. Isolat bakteri terpilih kemudian ditentukan waktu optimum inkubasi dengan perhitungan jumlah sel pada kurva pertumbuhan dengan menggunakan hemasitometer dan di uji aktivitas enzimnya dengan metode Bergmeyer pada media susu skim dan tepung bulu ayam. Ekstrak kasar enzim difraksinasi menggunakan ammonium sulfat dan didialisis. Fraksi dengan aktivitas spesifik enzim tertinggi digunakan untuk karakterisasi enzim terhadap pengaruh suhu, pH dan konsentrasi substrat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik tertinggi dihasilkan oleh isolat bakteri *Bacillus licheniformis* TS-17 dengan indeks proteolitik sebesar 7,1 mm. Waktu inkubasi optimum produksi enzim protease dihasilkan di jam ke 32 pada media tepung bulu ayam dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,7711 U/mL dan jumlah sel sebanyak  $4,89 \times 10^8$  sel/mL. Ekstrak kasar enzim yang diproduksi pada media tepung bulu ayam memiliki aktivitas spesifik sebesar 1,5247 U/mg. Fraksi enzim dengan aktivitas tertinggi diperoleh pada fraksi 4 pada tingkat kejenuhan 60-80% dengan kadar protein sebesar 0,2684 mg/mL nilai aktivitas spesifik enzim sebesar 2,0718 U/mg dan dengan peningkatan kemurnian sebesar 1,35 kali dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Aktivitas enzim protease tertinggi dihasilkan pada suhu 60°C, pH 8 dan konsentrasi substrat 1,25% dengan nilai aktivitas optimum sebesar 0,7691 U/mL.

Kata Kunci : Enzim protease, *Bacillus licheniformis*, Tepung bulu ayam, Metode Bergmeyer, Aktivitas enzim.

Sitasi: 86 (1994-2022)

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>x</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Bakteri Termofilik.....	4
2.2 Pertumbuhan Bakteri.....	5
2.3 Enzim Termostabil.....	6
2.4 Susu Skim.....	6
2.5 Enzim Protease.....	7
2.6 Limbah Bulu Ayam.....	8
2.7 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim.....	9
2.8 Pengujian Aktivitas Protease.....	10
2.9 Fraksinasi Menggunakan Amonium Sulfat dan Dialisis.....	11

2.10	Hemasitometer.....	
	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>13</b>
3.1	Waktu dan Tempat.....	13
3.2	Alat dan Bahan.....	13
3.2.1	Alat.....	13
3.2.2	Bahan.....	13
3.3	Prosedur Penelitian.....	14
3.3.1	Sterilisasi Alat yang Digunakan.....	14
3.3.2	Pembuatan Media.....	15
3.3.3	Kultivasi Bakteri Termofilik.....	15
3.3.4	Skrining Bakteri Penghasil Enzim Protease.....	15
3.3.5	Kurva Pertumbuhan Bakteri Termofilik.....	16
3.3.6	Produksi Enzim Protease.....	16
3.3.7	Penentuan Absorbansi Larutan Standar Tirosin.....	16
3.3.8	Uji Aktivitas Enzim Protease.....	17
3.3.9	Fraksinasi Dengan Konsentrasi Amonium Sulfat.....	17
3.3.10	Proses Dialisis Hasil Presipitasi Amonium Sulfat....	18
3.3.11	Penentuan Absorbansi Larutan Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA).....	18
3.3.12	Penentuan Kadar Protein dengan Metode Bradford...	19
3.3.13	Karakterisasi Aktivitas Enzim Protease.....	19
3.4	Analisis Data.....	20
3.4.1	Perhitungan Diameter Zona Bening dan Nilai Indeks Proteolitik (IP).....	20
3.4.2	Perhitungan Kurva Pertumbuhan Bakteri Termofil...	21
3.4.3	Penentuan Kadar protein dan Konsentrasi Tirosin.....	21
3.4.4	Aktivitas Enzim Protease.....	22
3.4.5	Aktivitas Spesifik Enzim.....	22
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN KESIMPULAN.....</b>	<b>23</b>
4.1	Hasil Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.....	23

4.2	Kurva Pertumbuhan Bakteri pada Media Susu Skim dan Tepung Bulu Ayam dalam Produksi Protease.....	25
4.3	Fraksi-fraksi Ammonium Sulfat.....	29
4.4	Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease..	29
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>33</b>
5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Saran.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>42</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Fase pertumbuhan bakteri.....	5
Gambar 2.	Struktur 3D (a) $\alpha$ -kasein, (b) $\beta$ -kasein, (c) $\kappa$ -kasein.....	7
Gambar 3.	Struktur Keratin .....	9
Gambar 6.	Hasil skrining bakteri termofilik penghasil enzim protease dari 15 isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.....	23
Gambar 7.	Kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim protease dari <i>Bacillus licheniformis</i> TS-17 (a) pada media susu skim dan (b) pada media bulu ayam.....	25
Gambar 8.	Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim protease dari <i>Bacillus licheniformis</i> TS-17.....	29
Gambar 9.	Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Protease dari <i>Bacillus licheniformis</i> TS-17.....	30
Gambar 10.	Pengaruh konsentrasi substrat terhadap Aktivitas Enzim Protease dari <i>Bacillus licheniformis</i> TS-17.....	31

## **DAFTAR TABEL**

Table 1.	Data pengukuran diameter zona bening dan indeks proteolitik bakteri termofilik penghasil enzim protease.....	24
Tabel 2.	Pengukuran nilai konsentrasi protein, aktivitas enzim, dan aktivitas spesifik enzim dari tiap fraksi.....	28



## LAMPIRAN

Lampiran 1.	Skema Kerja.....	43
Lampiran 2.	Pembuatan Larutan.....	44
Lampiran 3.	Skrining Bakteri Termofilik dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.....	46
Lampiran 4.	Perhitungan Jumlah Sel Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> Ts-17 pada Media Susu Skim dan Tepung Bulu ayam.....	48
Lampiran 5.	Pengukuran Kurva Standar Tirosin.....	50
Lampiran 6.	Pengukuran Absorbansi dan Perhitungan Aktivitas Enzim pada Media Susu Skim dan Tepung Bulu ayam.....	51
Lampiran 7.	Pengukuran nilai absorbansi larutan standar BSA.....	54
Lampiran 8.	Tabel Kejenuhan Amonium Sulfat.....	55
Lampiran 9.	Fraksinasi dan Pengukuran Absorbansi pada setiap Fraksi.....	56
Lampiran 10.	Karakterisasi Enzim Protease dari Isolat TS-17 Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.....	60

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Penelitian dan pengembangan enzim memiliki posisi yang sangat krusial dalam teknologi dan industri. Enzim adalah katalisator yang dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi. Hal ini dikarenakan reaksi enzim yang membutuhkan sedikit energi, bekerja secara spesifik dan minim bahaya. (Soeka dan Sulistiani, 2017). Enzim termasuk dalam kelompok protein yang banyak ditemukan pada sel makhluk hidup dan memiliki peran penting pada reaksi biokimiawi (Faizah, 2017). Protease adalah salah satu enzim yang banyak digunakan dalam industri. Enzim protease digunakan sebagai biokatalisator untuk reaksi pemecahan protein dan termasuk golongan enzim hidrolase yang berperan mengkatalis reaksi hidrolisis. Reaksi hidrolisis adalah reaksi yang menghasilkan air pada saat substrat berikatan. Protease memiliki karakteristik yang berbeda-beda pada sifat fisika kimia dan sifat katalitik. Protease dapat diproduksi secara ekstraseluler dan intraseluler dan berperan untuk metabolisme keteraturan proses dalam sel (Mahdiyah, 2015).

Menurut Uddin *et al.* (2014), beberapa industri yang membutuhkan enzim protease adalah industri pangan, dan industri kimia contohnya untuk mengolah limbah dan digunakan sebagai bahan pelunak pada industri kulit (Oktavia *et al.* 2018). Sebagian besar proses industri membutuhkan enzim yang dapat bertahan dalam kondisi ekstrem. Oleh karena itu sangat dibutuhkan enzim yang stabil dan toleran terhadap lingkungan seperti enzim yang di produksi dari bakteri termofilik (Rahayu, 2014). Bakteri termofilik adalah kelompok mikroorganisme yang tumbuh optimal pada suhu pertumbuhan antara 45°C sampai 80°C (Maria dan Surya, 2012). Protease yang bersifat termostabil, sangat menguntungkan dalam aplikasi industri karena pada suhu pengolahan yang lebih tinggi dapat menghasilkan laju reaksi yang lebih cepat, meningkatkan kelarutan reaktan dan mengurangi kemungkinan kontaminasi mikroba mesofilik (Muharram dan Aryantha, 2019). Proses industri memerlukan temperatur tinggi untuk meningkatkan kelarutan bahan dan

menurunkan kekentalan sehingga akan memudahkan transfer (Poernomo *et al.* 2017). Berdasarkan dari lingkungan daya kerjanya, protease dapat dikelompokkan menjadi protease netral, asam, dan alkali. Enzim protease yang diproduksi dari bakteri menghasilkan jumlah lebih besar daripada protease yang di produksi dari tumbuhan dan hewan (Pamaya *et al.* 2018).

Media produksi untuk menghasilkan enzim harus mengandung unsur utama yaitu nitrogen dan karbon. Nitrogen digunakan untuk pertumbuhan sel, sedangkan unsur karbon berperan untuk meningkatkan energi biosintesis (Sari, 2019). Aktivitas protease di pengaruhi oleh suhu, pH pertumbuhan, waktu, dan konsentrasi substrat (Saranraj *et al.* 2017). Aktivitas enzim yang tinggi dihasilkan pada waktu inkubasi optimum yang sesuai dalam memproduksi enzim. (Prasetyo dan Alami, 2016). Suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim dalam mendegradasi substrat (Bachaki dan Rinto, 2012). pH kultur memengaruhi proses enzimatik dan transportasi berbagai komponen melintasi membran sel untuk mendukung pertumbuhan sel dan produksi enzim (Sharma *et al.* 2017).

Produksi enzim protease membutuhkan protein substrat yang bertindak sebagai inducer bagi enzim protease (Yuniati *et al.* 2015). Apabila substrat cocok dengan enzim, maka kerja enzim akan optimal (Irawati, 2016). Pada penelitian ini dilakukan optimasi waktu inkubasi untuk memproduksi enzim protease dari bakteri termofilik yang bersumber dari air panas Tanjung Sakti Lahat, Sumatera Selatan menggunakan limbah bulu ayam dan susu skim sebagai substrat. Susu skim memiliki kandungan protein yang tinggi sebesar 76-86% (Renaud *et al.* 2003) dan limbah bulu ayam mengandung 90% protein sehingga dapat dijadikan substrat untuk memproduksi protease. Pemanfaatan limbah bulu ayam sebagai media diharapkan dapat meminimalisir dampak pencemaran lingkungan (Jayalakshmi *et al.* 2011). Berdasarkan hal tersebut penelitian kemudian dilanjutkan dengan pemurnian dengan fraksinasi ammonium sulfat, dan karakterisasi aktivitas enzim terhadap pengaruh suhu, pH, serta konsentarsi substrat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana potensi isolat bakteri termofilik Sumber Air Panas Tanjung

Sakti, Lahat sebagai penghasil enzim protease?

2. Berapa lama waktu optimum inkubasi bakteri pada media susu skim dan tepung bulu ayam dalam memproduksi enzim protease?
3. Apakah enzim protease yang dihasilkan dapat dimurnikan parsial menggunakan fraksinasi ammonium sulfat?
4. Bagaimana pengaruh, suhu, pH, dan konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim protease?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mendapatkan bakteri proteolitik yang potensial menghasilkan enzim protease
2. Membandingkan waktu optimum inkubasi bakteri pada media tepung bulu ayam dan susu skim dalam memproduksi enzim protease.
3. Mendapatkan enzim protease yang murni melalui pemurnian parsial fraksinasi ammonium sulfat.
4. Menentukan pengaruh suhu, pH, dan konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim protease yang dari hasil isolat bakteri termofilik Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi tentang tentang aktivitas protease dan cara memproduksi protease dari isolat bakteri termofilik Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.
2. Mengetahui bakteri mana yang menghasilkan enzim protease dari isolasi Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif penghasil enzim protease termofilik untuk industri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Almey, A. A. A., Khan, A. J., Zahir, C., Suleiman, M., Aisyah, M.R. & Rahim, K. (2010) Total Phenolic Content and Primary Antioxidant Activity of Methanolic and Ethanolic Extract of Aromatic Plants Leaves. *International Food Research Journal*. (17): 1077-1084.
- Asril, M & Leksikowati, S. S. L. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Asal Limbah Cair Tahu Sebagai Dasar Penentuan Agen Pembuatan Biofertilizer. *Journal of Islamic Science and Technology*. 5(2): 86-99.
- Bachaki, A., & Rinto. (2012). Karakterisasi Protease Dari Isolat Bakteri Asal Tumbuhan Rawa Dari Indralaya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(1): 59-65.
- Badriyah, B.I. & T. Ardyati. (2013). Deteksi Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Asal Ampas Tahu Pada Substrat Bekatul. *Jurnal Biotropika*. 1(3): 109-113.
- Bungsu, A. (2018). *Isolasi dan Identifikasi bakteri Keratinolitik dari Beberapa Sumber Keratin dan Karakterisasi Enzimnya*. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Dessy, Y. (2008). Isolation & Identification of Thermophilic Microorganism from Wayang Crater. *Journal of Mikrobiology*. 1(1): 38.
- Dina Wahyun, Anthoni Agustien & Periadnadi. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 1(2): 3-98.
- Dwidjoseputro. (1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan
- Elawati, N., Pujiyanto, S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik Dan Sifat Kinetika Enzim Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 5(1):1-7.
- Faizah, M. (2017). *Pengaruh Suhu Dan Ph Terhadap Aktivitas Enzim Protease Bacillus subtilis Dari Daun Kenikir (Cosmos sulphureus) Yang Ditumbuhkan Dalam Media Campuran Limbah Cair Tahu Dan Dedak*. Skripsi. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Fitria, F., Pujiyanto, S., Raharjo, B., Rahmani, N., & Yopi, Y. (2017). Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Xilnase dari Bakteri Laut *Bacillus safencis* strain LBF P20 Asal Pulau Pari Jakarta. *Jurnal Agritech*. 37(1): 30-37.
- Fitriana, N & Asr, M. T. (2021). Aktivitas Proteolitik pada Enzim Protease dari Bakteri Rhizosphere Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) di Trenggalek. *Lentera Bio*. 11(1): 144-152.

- Gusnadi, B., Putri, I. A., Mulia, & Irdawati. (2021). *Potensi Enzim Protease yang Dihasilkan oleh Bacillus subtilis sebagai Produk Biodeterge*. Prosiding Semnas Bio 2021 Universitas Negeri Padang. Padang.
- Hengkengbala, S. I., Lintang, R. A. J., Sumilat, D. A., Mangindaan, R.E.P, Ginting, E. L. & Tumembouw, S. (2021). Karakteristik Morfologi Dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Symbion Nudibranch. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 9(3): 83-94.
- Herlinda, S., Utama, M. D., Pujiastuti, Y., & Suwandi. (2006). Kerapatan Dan Viabilitas Spora *Beauveria Bassiana* (Bals.) Akibat Subkultur Dan Pengayaan Media, Serta Virulensinya Terhadap Larva *Plutella Xylostella* (Linn.). *Jurnal HPT. Tropika*. 6(2): 1411-7525.
- Herasari, D., et al. (2022). Karakterisasi Enzim protease dari Bakteri *Klebsiella* sp. Indigen Tanah Tercemar Minyak di Bandar Lampung. *Jurnal Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 7(1): 35-53.
- Huang, L. (2013). Optimization Of a New Mathematical Model for Bacterial Growth. *Food Control*. 32(1): 283-288.
- Hidayatulloh, A., Gumilar, J & Harlia, E. (2019). Potensi Senyawa Metabolit yang dihasilkan *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 sebagai Bahan Biopreservasi dan Anti Bakteri Pada Bahan Pangan Asal Hewan. *JITP*. 7(2): 1-6.
- Horak, I., Engelbrecht, G., Rensburg, P. J. V & Claassens, S. (2019). Microbial Metabolomics: Essential Definitions And The Importance Of Cultivation Conditions For Utilizing *Bacillus* Species as Bionematicides. *Journal of Applied Microbiology*. 127(2): 326-343.
- Irawati, A. F. C., Mutaqin, K H., Suhartono, M. T., Sastro, Y, Sulustri, & Widodo. (2017). Eksplorasi Dan Pengaruh Cendawan Endofit Yang Berasal Dari Akar Tanaman Cabai Terhadap Pertumbuhan Benih Eabai Merah. *Jurnal Hortikultura*. 27(1): 105-112.
- Irianti, T., Fakhruddin, N., Efendi, Hartomo, S., Astuti, S.P.Y., Kusumaningtyas, R. A, & Meiftasari, A. (20116). Comparison Of Several Plants Extract And Vitamin C Inhibition Activity To Tyrosine Photodegradation Induced By Ketoprofen And Its Total Phenolic Compounds. *Traditional Medicine Journal*. 21(3): 124-131.
- Ilmi, I.M. & Kuswytasari, N.D. (2013). Aktifitas enzim lignin peroksidase. *Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 2337 - 3520.
- Irawati, R. (2016). *Karakterisasi pH, Suhu, dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh Bacillus circulans*. Skripsi, universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang: Malang.

- Jayalakshmi, T., P. Krishnamoorthy, G.R. Kumar & P. Sivamani. (2011). Purification and Characterization of Keratinase Enzyme from *Streptomyces* species JRS 19. *New York Science Journal*. 4:59-67.
- Kamelia R., M Sindumarta & Natalia, D. (2005). Isolasi Dan Karakterisasi Protease Intraselular Termotabil Dari Bakteri *Bacillus stearothermophilus* RP1. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*, Universitas Indonesia: Depok.
- Karso, Wuryanti, & Sriatun. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Kitinase Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik KC3 dari Kecoa (*Orthoptera*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 17(2): 51 – 57.
- Khopkar, S. M. (2003). *Konsep dasar Kimia Analitik*. Jakarta : Penerbit University Indonesia
- Lestari, D.A, Muchlissin, S.A., Mukaromah, A.H., Darmawati, S. dan Ethica, S.N. (2018). *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Bacillus megaterium Irod3 Dari Oncom Merah Pasca Fermentasi 72 jam*. Seminar Nasional Edusainstek FMIPA UNIMUS, 31-39.
- Lestari. (2000). *Eksplorasi Enzim Termotabil dari Mikroorganisme Termofil*. Purwokerto: Fakultas Biologi, Univ. Jendral Sudirman.
- Lestari, W., Agustien, A & Rilda, Y. (2013). Pengaruh Konsentrasi Inokulum Dan Induser Terhadap Produksi Protease Alkali *Bacillus* Sp. Isolat Mi<sub>2,3</sub> Termofilik. *Jurnal Biologika*. 2(1): 34-39.
- Lingga, R., Afriyansyah, B., Septiani, R., & Miranti, I. (2021). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asal Sumber Air Panas Non-Vulkanik. *Bioedusains: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*. 4(2):175-184.
- Liorens, J. M. N., Tormo, A & Garc'ia, E. M. (2010). *Stationary Phase In Gram-Negative Bacteria*. Departamento de Biotecnolog'ia Microbiana, Centro Nacional de Biotecnolog'ia, Madrid, Spain.
- Listyawati, A. F. (2016). Pola Pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan Menggunakan Variasi Konsentrasi D-glukosa dalam Media Pertumbuhan terhadap Waktu Inkubasi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*. 5(2): 29-32.
- Mahdiyah, D. (2015). Isolasi Bakteri Dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *Jurnal Pharmascience*. 2(2): 71-79.
- Mahestri1, L., Harpeni, E., & Setyawan, A. (2021). Isolasi dan Penapisan Bakteri Termofilik Pemecah Amilum dan Protein dari Sumber Air Panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 26(3): 161-168.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri

- Termofilik Dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*. 4(1): 33-42.
- Maria, Y. E., & Surya R. P. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-2.
- Mayasari. (2016). *Pemurnian Enzim Amilase Kasar Dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat*. Skripsi, Universitas Malik Ibrahim Malang, Malang.
- Muharram, L. H & I. Nyoman.P.Aryantha, I. N. P. (2019). Karakterisasi Protease Termofilik Asal *Hydrothermal Vent* Laut Dalam Kepulauan Kawio Sulawesi Utara *Journal Of Science Technology And Entrepreneurship (JSTE)*. 1(1): 1-9.
- Oktavia Y., Lestari, S.D., Lestari, S., Herpandi, & Jannah. M. (2018). Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease Dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri *Stolephorus sp.* *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 10(3): 719-725.
- Olajuyigbe, F. M & Ajele, J. O. (2008). Some Properties of Extracellular Protease from *Bacillus licheniformis* Lbbl-11 Isolated from “iru”, A Traditionally Fermented African Locust Bean Condiment. *Journal of Biotechnology & Biochemistry*. 3(1): 42-46.
- Onifade A. A. A., Sane N. A., Al-Mussallan A. A., & Al-zarban S. (1998). Potentials for Biotechnological Applications of Keratin Degrading Microorganisms and Their Enzymes for Nutritional Improvements of Feathers and Other Keratins as Livestock Feed Resources. *J. Bioresource Technol.* 66: 1-11.
- Pamaya, D., Muchlissin, S. I., Maharani, E. T. W., Darmawati, S., & Ethica, S. N. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Amyloliquefaciens* Irod2 pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 48 Jam. *Seminar Nasional Edusainstek FMIPA*, Universitas Muhammadiyah Semarang: Semarang.
- Poernomo, A. T., Isnaeni, Sugianto, Purwanto, D. A., Dewi, A.C., & Suryagama, D. (2017). Pengaruh Nutrisi pada Produksi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Termofilik Isolat LS-1 Lumpur Sidoarjo. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 4(2): 52-59.
- Prasetyo, N. D & Alami, N. H. (2016). *Optimasi Produksi Enzim Protease dari Candida G3.2*. Paper. Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Surabaya.
- Prescott. (2008). *Microbiology* 7th edition. USA: McGraw-Hill Book Company.



- Rahayu, M. P & Inanda, L. V. (2015). Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Dichloromethan-Etil Asetat Kulit Batang Mundu (*Garcinia dulcis*. Kurz). *Biomedika*. (8)2: 37-44.
- Rahayu, S. (2014). *Isolasi Dan Karakterisasi Protease Dari Bakteri Sumber Air Panas Tamalantik Mamasa Sulawesi Barat*. Skripsi. Makassar: Universitas Hassanudin.
- Rahayu, S. (2004). *Karakteristik Biokimiawi Enzim Termotabil Penghidrolisis Kitin*. Prosiding Pengantar Falsafah Sains di Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, S., Rahmawati, & Kurniatuhadi, R. (2018). Deteksi Bakteri Selulolitik pada Kotoran Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) dari Kebun Binatang Bandung *Jurnal Protobiont*. 7(2): 19 – 28.
- Ratnayani, O., Yulianthi, P. E., & Wirajana, I. N. (2021). Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik Dengan Amonium Sulfat Dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. 9(1): 1-9.
- Renaud, S.M., Dupont, D. & Dulieu, P. (2003). Quantification Of  $\kappa$ -casein in Milk by an Optical Immunosensor. *Food and Agricultural Immunology*. 15(3): 265-277.
- Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rukmini, I., Supriyadi, A., Arina T, Lunggani & Rahardjo, B. (2018). Eksplorasi Mikroorganisme Termofil Indigenus Dari Sumber Air Panas Gedongsongo Sebagai Penghasil Enzim Termotabil. *Berkala Bioteknologi*. 1(1): 1-8.
- Sari, L. P. (2019). *Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri Dengan Menggunakan Umbi Ubi Jalar Cilembu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) untuk Bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Salmonella typhii* dan *Escherichia coli**. Skripsi. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Said, M.I & J.C. Likadja. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *JITP*. 2(2):1-5.
- Saranraj, P., Jayaprakash, A & Bhavani, L. (2017). Commercial Production And Application of Bacterial Alkaline Protease: A Review. *Indo-Asian Journal of Multidisciplinary Research (IAJMR)*. 3(5): 1228-1250.
- Saurina, J. S., & Cassou, H. (1994). Determination Of Amino Acids by Ion-Pair Liquid Chromatography with Post-Column Derivatization using 1,2-Naphthoquinone-4-Sulfonate. *Journal of Chromatography A*, 676: 311-319.
- Sawitri, M. E & Prasetyawan, S. (2019). Studi Interaksi Kompleks Inulin Dan Fraksi Kasein Melalui Analisis In-Silico Dan Molecular Docking Sebagai

- Dasar Pengembangan Prebiotic Fermented Milk. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. 14(1): 11-19.
- Scopes, R.K. (1994). *Protein Purification Principle and Practice*. Third Edition. New York: Springer Science+Business Media.
- Septiani, A. Wijanarka Rukmi, M. G. I. (2017). Produksi Enzim Selulase Dari Bakteri *Serratia marcescens* KE-B6 Dengan Penambahan Sumber Karbon, Nitrogen dan Kalsium Pada Medium Produksi. *Bioma*. 19(2): 159-163.
- Setya, A. W. (2012). *Teknologi Pengolahan Susu*. Skripsi. Universitas Slamet Riyadi: Surakarta.
- Sharma, K. M., Kumar, R., Panwar, S., & Kumar, A. (2017). Microbial Alkaline Proteases: Optimization Of Production Parameters And Their Properties. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15(1), 115-126.
- Soeka, Y.S & Sulistiani. (2017). Karakterisasi Enzim Protease Dari Bakteri *Stenotrophomonas sp.* Asal Gunung Bromo, Jawa Timur. *Berita Biologi*. 16(2): 203-211.
- Soeka, Y. S., Rahayu, S. H., Setianingrum, N., & Naiol, E. (2011). Kemampuan *Bacillus Licheniformis* Dalam Memproduksi Enzim Protease Yang Bersifat Alkalin Dan Termofilik. *Media Litbang Kesehatan*. 21(2): 89-95.
- Suganthi, C., Margeswari, A., Karthikeyan, S., Anbalagan, A., Sivakumar, A., & Gothandam, K. M. (2013). Screening And Optimization of Protease Production from A Halotolerant *Bacillus Licheniformis* Isolated from Saltern Sediments. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 11(1)47-52.
- Sumardi, Agustrin, R., Irwan, B., & Pratiwi A. (2018). The Effect of Magnetic Field Exposure on Medium to Protease Production by *Bacillus sp.* *Biological Research Journal*. 4(2): 2477-1392.
- 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): 193-199.
- Susantri, A., Sunarti, T. C & Meryandini, A. (2021). Produksi dan Pemurnian Xilooligosakarida dari Xilan Tongkol Jagung menggunakan Xilanase *Streptomyces* P26B4 dan Khamir IP4. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 26(2): 309–317.
- Tiway, E., & Gupta, R. (2012). Rapid Conversion of Chicken Feather to Feather Meal Using Dimeric Keratinase from *Bacillus licheniformis* ER-15. *Journal*

*of Bioprocessing and Biotechniques* 2:1-5.

- Tuntun, M & Huda, M. (2014). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 3(1): 297-303.
- Uddin, E., Maitra, P., Faruquee1., & Alam, F. (2014). Isolation And Characterization Of Proteases Enzyme From Locally Isolated *Bacillus sp.* *American Journal of Life Sciences*. 2(6): 338-344.
- Wahidah, N., Ratman & Ningsih, P. (2017). Analisis Senyawa Metabolit Primer Pada Jamur Merang (*Volvariella volvaceae*) di Daerah Perkebunan Kelapa Sawit Lalundu. *Jurnal Akad Kimia*. 6(1): 43-47.
- Wahyuna D., Agustien, A & Periadnadi. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 1(2): 93-98.
- Waluyo, L. (2005). Mikrobiologi Umum. UMM Press: Malang
- Wicaksono, L. A & Winarti, S. (2021). Karakteristik Penyedap Rasa Alami Dari Biji Bunga Matahari Dan Kupang Putih Dengan Hidrolisis Enzimatis. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 10(1): 64-73.
- Yandri, A. S & Suhartati, T. (2018). *Peningkatan Kestabilan Enzim*. AURA: Lampung.
- Yandri A.S. & Ibadurrahman. (2011). Pengaruh Penambahan Sorbitol Terhadap Stabilitas Enzim Protease dari *Bacillus licheniformis*. *Jurnal Sains MIPA*. 17(2): 59 – 66.
- Yohandini, H., Muharni, & Nainggolan, E. L. (2015). *Growth Optimization of Thermophilic Bacteria Bacillus thermoamylovorans and Brevibacillus sp. in Producing Keratinolytic Enzyme*. Proceeding of 5th International Seminar on New Paradigm and Innovation on Natural Sciences and Its Application (5th ISNPINSA) di Universitas Diponegoro.
- Yuniati, R., Nugroho, T.T., & Puspita, F. (2015). Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat *Bacillus sp.* Galur Lokal Riau. *Jurnal Online Mahasiswa FMIPA*. 1(2): 116-122.
- Yunianta, Sulistyio, T., Apriliastuti, Estiasih, T & Wulan, S.N. (2010). Hidrolisis Secara Sinergis Pati Garut (*Marantha Arundinaceae* L.) Oleh Enzim  $\alpha$ -Amilase, Glukoamilase, Dan Pullulanase Untuk Produksi Sirup Glukosa. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7(2): 78 – 86.
- Yusmarini, Indrati, R., Utami, T., & Marsono, Y. (2009). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Proteolitik dari Susu Kedelai yang Terfermentasi Spontan. *Jurnal Natur Indonesia*. 12(1): 28-33.

- Yusnawan, E & Susilo, J. S. (2017). Mikroanalisis Kandungan Senyawa Fenolik Total Ekstrak Biji Kedelai dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. (1)1: 73-81.
- Yusriah & Kustyawati, N.D. (2013). Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Protease *penicillium* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 2337-3520.
- Zaman, A. U., Mamun, A. A., Khan, S. N., Hoq, M & Mazid, A. (2016). Partial Purification of Alkaline Protease as Thrombolytic Agent From Mutant Strain *Bacillus Licheniformis* EMS250-O-1. *Journal Pharmacy Science*. 15(2): 135-141.
- Zilda, D. S. (2008). Ekstremofil Sebagai Penghasil Enzim Yang Potensial Untuk Aplikasi Industri Pangan Dan Non Pangan. *Squalen*. 3(2): 51-57.
- Wahyuningsih, W & Zulaika, E. (2018). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Pada Media *Nutrient Broth* dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*. 7(2): 2337-3520.
- Zuraidah, Wahyuni, D., & Astuty, E. (2020). Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik dari Kawasan Wisata Ie Seuum (Air Panas). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 11 (2): 40-47.