

**ISOLASI BAKTERI PROTEOLITIK
DAN APLIKASINYA SEBAGAI PENGHASIL
KOMPONEN ADITIF BIODETERGEN**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia**



Oleh:

Ika Amalia

18106030008

**STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA

YOGYAKARTA

2023



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1437/Un.02/DST/PP.00.9/06/2023

Tugas Akhir dengan judul : Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil Komponen Aditif Biodetergen

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : IKA AMALIA
Nomor Induk Mahasiswa : 18106030008
Telah diujikan pada : Rabu, 31 Mei 2023
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si
SIGNED

Valid ID: 64828b510d9ed



Penguji I

Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD.
SIGNED

Valid ID: 6480404016d14



Penguji II

Ika Qurrotul Afifah, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 647f12fbab094



Yogyakarta, 31 Mei 2023
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 6482d78bd391b



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Ika Amalia
NIM : 18106030008
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil Komponen Aditif Biodetergen

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Kimia.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqasyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 15 Mei 2023

Pembimbing

Dr. rer. medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

NIP: 19760830 200312 2 001



NOTA DINAS KONSULTASI

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Ika Amalia
NIM : 18106030008
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil
Komponen Aditif Biodetergen

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terimakasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 07 Juni 2023

Konsultan

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA



Lela Susilawati, S.Pd., M.Si., PhD
NIP. 19790127 200901 2 004



NOTA DINAS KONSULTASI

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu 'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Ika Amalia
NIM : 18106030008
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil
Komponen Aditif Biodetergen

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terimakasih.

Wassalamu 'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 07 Juni 2023
Konsultan

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
Ika Qurrotul Afifah, M.Si.
NIP. 19911128 201903 2 022

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang Bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ika Amalia

NIM : 18106030008

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil Komponen Aditif Biodetergen”** merupakan hasil penelitian saya sendiri, 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 orang lain, kecuali secara didalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 16 Mei 2023



Ika Amalia
18106030008

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Puji Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Isolasi Bakteri Proteolitik dan Aplikasinya Sebagai Penghasil Komponen Aditif Biodetergen*” dengan baik sebagai salah satu syarat derajat Sarjana Kimia. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW.

Kesulitan dan hambatan banyak ditemui dalam penyelesaian skripsi ini, akan tetapi berkat pertolongan Allah SWT dan bantuan berbagai pihak penulis dapat melewati hambatan tersebut. Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam proses pembuatan skripsi ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., M.A. selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Dr. Imelda Fajriati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
4. Dr. Maya Rahmayanti, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa studi.

5. Dr.rer.medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah meluangkan banyak waktunya untuk membimbing, mengarahkan, mengoreksi, dan memberikan motivasi selama proses penyusunan skripsi.
6. Dr. Isma Kurniatanty, M.Si selaku Ketua Laboratorium Biologi yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biologi.
7. Ibu Ethik Susiawati Purnomo, S.Si. selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Pendamping selama melakukan penelitian di Laboratorium Biologi.
8. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
9. Seluruh staff dan karyawan Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi khususnya Bapak Dony yang telah membantu selama berlangsungnya proses penelitian.
10. Kedua orang tua Bapak Nur Widodo dan Ibu Sri Mujiyati, adik-adik tercinta, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan baik secara material maupun non-material.
11. Azkiatul Masrurroh, Retno Farida Rahajeng, dan seluruh teman seperjuangan dalam satu grup bimbingan yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi.
12. Azura Mawaddah, Martina Nurul Kartika, Shofa, Adinda Intan Melina, dan Farida Amalia Shofiaty yang telah memberikan dukungan dan semangat selama perkuliahan.

13. Amalia Ginanti S.Si, Citra Nandya Inala S.Si, Dita Ayu Juniananta S.Si, dan Lia Amalia S.Si yang telah memberikan dukungan, bantuan dan semangat selama proses penelitian.
14. Teman-teman Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta angkatan 2018.
15. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu atas segala dukungan dan bantuan selama proses penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak kesalahan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi alamamater tercinta Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya ilmu kimia.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 14 Maret 2023



Ika Amalia

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini saya persembahkan untuk kedua orang tua tercinta serta almamater saya
Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta



HALAMAN MOTTO

“Setiap kesulitan pasti ada kemudahan, dan setiap masalah pasti ada solusi”



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR ISI

PENGESAHAN TUGAS AKHIR	i
SURAT PERSETUJUAN TUGAS AKHIR	ii
NOTA DINAS KONSULTASI PENGUJI 1	iii
NOTA DINAS KONSULTASI PENGUJI 2	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
HALAMAN MOTTO	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Batasan Masalah	3
C. Rumusan Masalah	4
D. Tujuan	4
E. Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	5
A. Tinjauan Pustaka	5

B. Landasan Teori.....	7
1. Limbah Cair Tempe	7
2. Isolasi Bakteri	8
3. Enzim Protease.....	8
4. Aktivitas Enzim Protease	9
5. Enzim Protease sebagai Biodetergen.....	10
C. Hipotesis Penelitian.....	11
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
C. Prosedur Kerja.....	15
1. Pengambilan sampel	15
2. Sterilisasi Alat.....	16
3. Preparasi Media	16
4. Isolasi Bakteri Proteolitik	18
5. Karakterisasi Isolat Bakteri Proteolitik.....	18
6. Uji Aktivitas Proteolitik Secara Kualitatif.....	21
7. Ekstraksi Enzim Protease.....	21
8. Uji Aktivitas Enzim Protease.....	22
9. Penentuan Suhu Optimum Aktivitas Protease	23
10. Penentuan pH Optimum Aktivitas Protease	23
11. Stabilitas Aktivitas Protease	24
12. <i>Washing Test</i>	24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Isolasi Bakteri Proteolitik.....	26
B. Karakteristik Bakteri Proteolitik	27
C. Uji Aktivitas Proteolitik Secara Kualitatif	34
D. Uji Aktivitas Enzim Protease	35
E. Uji Stabilitas Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease Terhadap Detergen....	40
F. <i>Washing Test</i>	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
A. Kesimpulan	44
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	51
CURRICULUM VITAE.....	53

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
 YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil uji morfologi isolat bakteri penghasil protease meliputi bentuk, koloni, elevasi koloni, margin koloni, bentuk sel, pewarnaan gram, dan pewarnaan endospora.....	28
Tabel 4.2 Hasil uji biokimia isolat bakteri penghasil protease meliputi hidrolisis pati, <i>Voges Proskauer</i> (VP), dan pertumbuhan pada media NaCl 6,5%.....	32
Tabel 4.3 Hasil uji aktivitas proteolitik secara kualitatif	34
Tabel 4.4 Hasil uji stabilitas aktivitas protease isolat Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d terhadap paparan detergen komersial	41
Tabel 4.5 Hasil uji potensi ekstrak kasar enzim protease Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d sebagai salah satu komponen aditif biodetergen, meliputi uji aktif pada rentang suhu 30-50°C, mampu bertahan pada pH basa, memiliki stabilitas aktivitas terhadap paparan detergen, serta mampu menghilangkan noda kecap pada kain. (+) bermakna memenuhi syarat dan (-) bermakna tidak memenuhi syarat.....	43

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1 Reaksi hidrolisis Ikatan peptida menjadi asam amino (Wahyudiati, 2017)8
- Gambar 4.1 Hasil Isolasi bakteri penghasil protease dari limbah cair tempe pada media SMA dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Tanda panah kuning menunjukkan koloni tunggal. (A) Isolat P2a, (B) Isolat P6a, (C) Isolat P3a (1), dan (D) Isolat P4d. Terdapat zona bening di sekitar bakteri.....27
- Gambar 4.2 Hasil pewarnaan gram isolat bakteri penghasil protease pada perbesaran 40 x 10 menggunakan mikroskop. (A) Isolat P2a, (B) Isolat P6a, (C) Isolat P3a (1), dan (D) Isolat P4d.30
- Gambar 4.3 Hasil pewarnaan endospora isolat bakteri penghasil protease pada perbesaran 40 x 10 menggunakan mikroskop. (A) Isolat P2a, (B) Isolat P6a, (C) Isolat P3a (1), dan (D) Isolat P4d.31
- Gambar 4.4 Hasil uji aktivitas proteolitik isolat bakteri penghasil protease dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. (A) Isolat P2a, (B) Isolat P6a, (C) Isolat P3a (1), dan (D) Isolat P4d. Nilai IP masing-masing secara berurutan adalah 3,40; 3,33; 2,84; dan 2,36.35
- Gambar 4.5 Protease akan mengkatalis penguraian kasein menjadi peptida dan asam amino (Sumarlin, 2008)36
- Gambar 4.6 Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim protease isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d pada suhu inkubasi 37°C dan pH 7 dalam inkubator shaker dengan kecepatan 120 rpm37

- Gambar 4.7 Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim protease Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d dengan variasi suhu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C pada pH 7 dalam inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm.....38
- Gambar 4.8 Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim protease Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d dengan variasi pH 6, 7, 8, 9, dan 10 pada suhu optimum masing-masing isolat dalam inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm40
- Gambar 4.9 Hasil uji *washing test* menggunakan noda kecap. (A) Isolat P2a, (B) Isolat P6a, (C) Isolat P3a (1), dan (D) Isolat P4d. Variasi perendaman yang dilakukan meliputi: (i) kain bernoda kecap dan akuades, (ii) kain bernoda kecap dan detergen, (iii) kain bernoda kecap dan ekstrak enzim kasar, (iv) kain bernoda kecap, detergen dan ekstrak enzim kasar pada suhu inkubasi 50°C selama 15 menit dalam inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm.....42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Biokimia	51
--------------------------------	----



ABSTRAK

ISOLASI BAKTERI PROTEOLITIK DARI LIMBAH CAIR TEMPE SERTA APLIKASINYA SEBAGAI SALAH SATU KOMPONEN ADITIF BIODETERGEN

Oleh:

Ika Amalia
18106030008

Dosen Pembimbing:
Dr.rer.medic. Esti Wahyu Widowati

Limbah cair tempe berasal dari sisa pembuatan tempe yang mengandung bahan organik seperti karbohidrat, lemak, dan protein cukup tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil protease yang berasal dari limbah cair tempe untuk mengetahui potensi protease yang dihasilkan sebagai salah satu komponen aditif biodetergen.

Isolasi bakteri proteolitik dari limbah cair tempe dilakukan menggunakan media *skim milk agar* (SMA) dengan kasein sebagai substrat. Ekstrak kasar protease diuji aktivitasnya menggunakan variasi suhu (30, 35, 40, 45, dan 50°C) dan pH (6, 7, 8, 9, dan 10). Potensi protease dari bakteri hasil isolasi sebagai salah satu komponen aditif biodetergen diuji stabilitasnya terhadap paparan detergen komersial dan dilakukan pengujian *washing test* dengan menambahkan noda protein pada kain.

Berdasarkan hasil penelitian dari isolasi protease diperoleh empat isolat bakteri dengan kode isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d. Isolat P2a, P6a, dan P3a (1) memiliki aktivitas protease berturut-turut 152,75 U/ml, 92,98 U/ml, 74,75 U/ml, dan 49,59 U/ml. Isolat P2a, P6a, dan P3a (1) memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 50°C sedangkan isolat P4d memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 45°C. Keempat isolat bakteri mampu bertahan pada pH basa. Potensi protease sebagai salah satu bahan aditif biodetergen dengan uji stabilitas aktivitas enzim diperoleh nilai persen relatif di atas 70% serta mampu menghilangkan noda protein pada kain.

Kata Kunci: bakteri proteolitik, biodetergen, protease, limbah cair tempe

ABSTRACT

ISOLATION OF PROTEOLYTIC BACTERIA FROM TEMPE LIQUID WASTE AND ITS POTENTIAL AS ONE OF THE ADDITIVE COMPONENTS BIODETERGENT

By:

Ika Amalia
18106030008

Advisor:

Dr.rer.medic. Esti Wahyu Widowati

Tempe liquid waste comes from the rest of the manufacture of tempe which high contains of organic materials such as carbohydrates, fats, and proteins. This study aims to isolate protease producing bacteria from tempe liquid waste to determine the potential of the resulting protease as a component of biodetergent additives.

Isolation of proteolytic bacteria from tempe liquid waste was carried out using skim milk agar (SMA) medium with casein as a substrate. The protease crude extract was tested for activity using variations in temperature (30, 35, 40, 45, dan 50°C) and pH (6, 7, 8, 9, dan 10). The protease potential of the isolated bacteria as a component of biodetergent additives was tested for stability against exposure to commercial detergents and a washing test was carried out by adding protein stains to the fabric.

Based on the research results from protease isolation, four bacterial isolates were obtained with isolate codes P2a, P6a, P3a (1), dan P4d. Isolate P2a, P6a, and P3a (1) had protease activity of 152,75 U/ml, 92,98 U/ml, 74,75 U/ml, and 49,59 U/ml. Isolate P2a, P6a, and P3a (1) had the highest activity at 50°C while isolate P4d had the highest activity at 45°C. The four bacterial isolates were able to survive at alkaline pH. The potential of protease as a biodetergent additive with the stability test of enzyme activity obtained a relative percent value above 70% and was able to remove protein stains on fabrics.

Keywords: *proteolytic bacteria, biodetergent, protease, tempe liquid waste*

BAB I **PENDAHULUAN**

A. Latar Belakang Masalah

Aktivitas manusia dapat menyebabkan terjadinya pencemaran air seperti limbah yang berasal dari aktivitas industri pembuatan tempe. Pembuatan tempe dapat menghasilkan limbah yang berasal dari proses perebusan maupun perendaman kedelai (Sayow *et al.*, 2020). Kandungan organik yang terdapat pada limbah apabila langsung dibuang ke selokan tanpa dilakukan proses pengolahan dapat mengganggu ekosistem perairan. Akibatnya, sungai yang menjadi tempat bermuaranya selokan berpotensi mengalami pencemaran yang ditandai dengan warnanya menjadi coklat dan mengeluarkan bau busuk (Alfrida *et al.*, 2016).

Limbah cair tempe berasal dari proses pembuatan tempe, yang meliputi pencucian, perendaman, dan perebusan. Limbah cair tempe memiliki kandungan bahan organik seperti protein 40%-60%, karbohidrat 25%-50%, dan lemak 10% (Sayow *et al.*, 2020). Limbah cair tempe yang tinggi protein berpotensi menjadi habitat bakteri penghasil protease (Fatoni *et al.*, 2008). Inayatul *et al.* (2018) berhasil melakukan isolasi bakteri penghasil enzim protease genus *Pseudomonas stutzeri* dari tempe gembus. Selain itu, Winahyu *et al.* (2019) berhasil melakukan penelitian mengenai isolasi bakteri penghasil protease dari limbah cair industri tempe dan diperoleh tiga isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease.

Enzim protease merupakan salah satu enzim penting yang memiliki nilai ekonomis tinggi karena aplikasinya sangat luas karena dapat digunakan pada berbagai

bidang, seperti bidang obat-obatan, produk kulit, produk makanan, industri pengolahan limbah, dan industri detergen. Penggunaan enzim protease paling besar adalah pada bidang industri detergen, di mana protease berfungsi untuk menghidrolisis noda protein pada pakaian sehingga kotoran yang mengandung protein dapat mudah tercuci (Najafi *et al.*, 2005). Pemanfaatan enzim sebagai salah satu bahan aktif dalam pembuatan detergen (biodetergen) bersifat *biodegradable* dan tidak meninggalkan residu berbahaya bagi lingkungan. Biodetergen diharapkan dapat mengurangi penggunaan bahan kimia yang dapat menimbulkan pencemaran lingkungan (Hasan *et al.*, 2006). Kriteria enzim protease sebagai salah satu komponen dalam biodetergen yaitu aktif dan stabil pada nilai pH basa, mampu bertahan pada suhu tinggi dan memiliki stabilitas aktivitas ketika dipaparkan dengan detergen (Hmidet *et al.*, 2009).

Pengujian protease sebagai salah satu komponen biodetergen dapat dilakukan dengan menggunakan metode *washing test* untuk mengetahui kemampuan protease dalam menghidrolisis noda protein pada pakaian. Hmidet *et al.* (2009) berhasil mengisolasi bakteri dari limbah perikanan dan diperoleh bakteri genus *Bacillus licheniformis* NH1. Ekstrak kasar enzim bakteri genus *Bacillus licheniformis* NH1 dapat efektif menghilangkan berbagai noda seperti darah, coklat dan saus pada kain. Phanse *et al.* (2010) juga telah menggunakan enzim protease bakteri *Bacillus agaradhaerens* sebagai salah satu komponen biodetergen menggunakan metode *washing test*. Hasil yang diperoleh menunjukkan enzim dapat menghilangkan noda protein pada kain. Selain itu, Lam *et al.* (2018) juga melakukan penelitian menggunakan enzim protease hasil isolasi dari ikan asin dan diperoleh bakteri

Virgibacillus sp. untuk menghidrolisis noda mengandung protein pada kain. Hasil yang diperoleh enzim protease dapat menghilangkan noda pada kain katun yang diberi pengotor berupa darah, kuning telur, dan kecap. Selain itu, enzim protease mampu bertahan pada rentang suhu 30-60°C dan pada pH basa, serta memiliki stabilitas aktivitas di atas 70%.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi bakteri penghasil protease dari limbah cair industri pembuatan tempe. Enzim yang diperoleh akan diuji potensinya sebagai komponen aditif biodetergen dengan uji stabilitas aktivitas enzim dan *washing test*.

B. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan diambil dari limbah cair tempe di Ngestiharjo, Kasihan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta.
2. Karakterisasi isolat bakteri penghasil protease yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi dan uji biokimia.
3. Uji aktivitas proteolitik secara kualitatif melalui pengukuran Indeks Proteolitik (IP).
4. Uji aktivitas protease dari isolat bakteri diukur menggunakan spektrofotometer *UV-VIS*.
5. Penentuan suhu dan pH optimum dilakukan pada produksi enzim protease menggunakan isolat bakteri penghasil protease terpilih.
6. Uji potensi enzim protease sebagai biodetergen dilakukan dengan uji stabilitas aktivitas enzim dan *washing test*.

C. Rumusan Masalah

1. Bagaimana isolasi bakteri penghasil protease yang dihasilkan dari limbah cair tempe?
2. Bagaimana aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari limbah cair tempe pada variasi pH dan suhu inkubasi?
3. Bagaimana potensi enzim protease dari bakteri yang diisolasi dari limbah cair tempe sebagai salah satu komponen aditif biodetergen?

D. Tujuan

1. Mengisolasi bakteri penghasil protease yang berasal dari limbah cair tempe.
2. Mengetahui aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari limbah cair tempe pada variasi pH dan suhu inkubasi.
3. Mengkaji potensi enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari limbah cair tempe sebagai salah satu komponen aditif biodetergen.

E. Manfaat

1. Memberikan informasi mengenai proses isolasi bakteri penghasil protease dari limbah cair tempe.
2. Memberikan informasi terkait potensi enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari limbah cair tempe sebagai salah satu komponen aditif biodetergen.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil isolasi bakteri penghasil protease diperoleh 4 isolat bakteri, yaitu Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d yang memiliki zona bening di sekitar koloni bakteri ketika ditumbuhkan pada media *skim milk agar* (SMA). Keempat isolat tersebut berbentuk bacil, merupakan bakteri gram positif dan memiliki kemampuan endospora.
2. Protease dari keempat isolat menghasilkan aktivitas protease pada rentang suhu 30-50°C dan rentang pH 6-10. Isolat P2a, isolat P6a, dan isolat P3a (1) memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 50°C dengan aktivitas protease berturut-turut sebesar 337,08 U/ml, 388,98 U/ml, dan 332,88 U/ml. Sedangkan isolat P4d memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 45°C dengan aktivitas protease sebesar 409,38 U/ml. Pada variasi pH Isolat P2a, isolat P6a, isolat P4d memiliki pH optimum 9 dengan aktivitas protease berturut-turut 397,5999 U/ml, 414,9333 U/ml, dan 329,9334 U/ml. Sedangkan isolat P3a (1) memiliki pH optimum 7 dengan aktivitas protease sebesar 345,2667 U/ml.
3. Protease dari bakteri hasil isolasi berpotensi sebagai salah satu komponen aditif biodetergen, yaitu Isolat P2a, P6a, P3a (1), dan P4d.

B. Saran

Adapun saran untuk penelitian selanjutnya:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakterisasi bakteri agar diketahui genus dari bakteri yang berhasil diisolasi.
2. Perlu dilakukan pemurnian enzim agar diperoleh aktivitas protease yang lebih spesifik.
3. Perlu dilakukan variasi detergen komersial yang digunakan pada uji stabilitas aktivitas enzim dan *washing test* agar dapat mengetahui aktivitas protease yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, A. G., Antoni, G. L., & Anon, M. C. (1993). Proteolytic Activity of *Lactobacillus Bulgaricus* Grown in Milk. *Journal of Dairy Science*, La Plata, Argentina.
- Alfrida, E., South, & Ernawita, N. (2016). Karakteristik Air Limbah Rumah Tangga (grey water) pada Salah Satu Perumahan Menengah Atas yang Berada di Tangerang Selatan. *Jurnal Ecolab* , 10(2), 47-102.
- Amalia, Dwiyantri, R. D., & Haitami. (2016). Daya Hambat NaCl Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Medical Laboratory Technology Journal*, 2(2), 42-25.
- Amara, A., Salem, S., & Shabeb, M. (2009). The Possibility to Use Bacterial Protease and Lipase as Biodetergent. *Journal of Biotechnology and Biochemistry* , 4(2), 104-114.
- Andinaryana, K., Ellaiah, P., & Prasad, D. S. (2003). Purification and Partial Characterization of Thermostable Serine Alkaline Protease From a Newly Isolated *Bacillus subtilis* PE-11. *Journal Pharmaceutical Sciences Technology*, 4(4), 1-9. <https://doi.org/10.1208/pt040456>.
- Anuar, W., A. D., & C. J. (2014). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Perairan Dumai. *Jurnal of MIPA*, 1(2), 3-6.
- Arief, M., Sulmartiwi, L., Prayoga, Saputri, & Herlina, M. (2014). Isolasi Bakteri Indigen Sebagai Pendegradasi Bahan Organik Pada Media Pembenuhan Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*) Sistem Resirkulasi Tertutup. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, Vol.2(2):117-122.
- Asril, M., & Leksikowati, S. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Asal Limbah Cair Tahu Sebagai Dasar Penentuan Agen Pembuatan Biofertilizer. *Jurnal of Islamic Science and Technology*, 5(2), 86-99.
- Badriyah, B., & Ardyati, T. (2013). Deteksi Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Asal Ampas Tahu Pada Substrat Bekatul . *Jurnal Biotropika* , 1(3), 109-113.
- Baehaki , A., Suhartono, M. T., Palupi, N. S., & Nurhayati, T. (2008). Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa* . *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XIX(1), 80-86.
- Bergey, D. H., & Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th Edition ed.). USA: Williams and Wilkins Baltimore .

- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology : A Laboratory Manual (10th ed.)*. Pearson Education, Inc.
- Fatoni, A., Zusfahair, & Lestari, P. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2), 83-88.
- Hafsan. (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Makassar : Alauddin University Press.
- Harley , J. P., & Prescott, L. M. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology (5th Edition)*. McGraw-Hill.
- Hasan , F., Shah , A. A., & Hameed, A. (2006). Industrial Applications of Microbial Lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 235-251.
- Hmidet, N., Ali, N. E.-H., Haddar, A., Kanoun, S., Alya, S. K., & Nasri, M. (2009). Alkaline Proteases and Thermostable α -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and Potential Application as Detergent Additive. *Biological Engineering Journal*, 47, 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.07.005>.
- Inayatul, W., Muchlissin, S., Mukaromah, A., Darmawati, S., & Ethica, S. (2018). Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease *Pseudomonas Stutzeri* ISTD4 dari Tempe Gembus Pasca Fermentasi 1 Hari . *Seminar Nasional Edusaintek FMIPA UNIMUS*, 102-109.
- Lam , M. Q., Mut , N. N., Thewarajoo, S., Chen, S. J., & Selvaratnam, C. (2018). Characterization of Detergent Compatible Protease From Halophilic *Virgibacillus* sp. CD6. *Journal Biotech*, 8(2), 1-9. doi:10.1007/s13205-018-1133-2
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Lehninger, A. (1998). *Biochemistry*. New York: Academic Press.
- Marnolia , A., Haryani , Y., & Puspita, F. (2016). Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat *Bacillus* sp. Endofit Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis quinensis*). *Jurnal Photon*, 6(2), 1-5.
- Muchtadi , D., & Betty , S. (1983). *Petunjuk Praktek Mikrobiologi Hasil Perikanan 2*. Jakarta:Departemen Pendidikan dan Kebudayaan .
- Nailona, E., & Widhyastuti, N. (2002). Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi*, 6(3), 467-473.

- Najafi , M. F., Deobagkar, D., & Deobagkar , D. (2005). Potential Application of Protease Isolated From *Pseudomonas aeruginosa* PD100. *Journal of Biotechnology*, 8(2).
- Nascimento, W. M. (2004). Production and Properties Of An Extraceluler Protease from Thermophilic *Bacillus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35, 92-96.
- Novianti , T., Ardiningsih, P., & Rahmalia, W. (2012). Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena Cauliflora* Diels) . *Jurnal Kimia Khatulistiwa* , 1(1), 45-48.
- Pelczar, M. J., & E.C.S. Chan. (2009). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Edisi 2 ed.). Jakarta: UI Press.
- Phanse, N., Desai, P., & Patel, B. (2010). Applicability of Alkaline Protease and Alkaline Amylase of *Bacillus agradhaerens* MTTC 9416. *Bioschi. Biotech. Res. Comm*, 3(1), 107-108.
- Prasetyo, N. D. (2016). *Optimasi Produksi Enzim Protease dari Candida G3.2*. Surabaya: Skripsi : Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Purwaningsih , D., & Wulandari , D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeuregenos*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 21(2), 750-759.
- Puspitasari, F., Shovitri, M., & Kuswytasari, N. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik . *Jurnal Sains dan Seni ITS* , 1(1), 1-4.
- Rafiah, M., Baharuddin, M., & Sappewali. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Jurnal Al-Kimia*, 4(1), 31-42.
- Rahayu, S., & Gumilar, M. (2017). Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margarahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 50-56.
- Rahmawati, L., Adlina, S., & Yuliana, A. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Protease Ekstraseluler dari Limbah Cair Tahu Putih . *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 21(2), 187-193.
- Rao, M., Tanksale, A., Ghatge, M., & Deshpande, V. (1998). Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597-635. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.597-635.1998>.

- Sabbathini, G., Pujiyanto, S., Wijanarka, & Lisdiyanti, P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus Sphingomonas dari Daun Padi (*Oryza Sativa*) di Daerah Persawahan Cibinong. *Jurnal Biologi*, 6(1), 59-64.
- Sayow, F., Poli, B., Tilaar, W., & Augustine, K. (2020). Analisis Kandungan Limbah Industri Tahu dan Tempe Rahayu Di Kelurahan Uner Kecamatan Kawangkoan Kabupaten Minahasa. *Jurnal Agrisocioekonomi*, 16(2), 245-252.
- Soeka, Y., & Sulistiani. (2014). Karakterisasi Protease Bacillus Subtilis A1 Inacc B398 yang Diisolasi dari Terasi Samarinda. *Berita Biologi*, 13(2), 203-212.
- Sukmawati. (2017). Identify of Floc-Forming Bacteria in SHRIMP Pond in Pangkep District . *Jurnal BioScience*, 1(2), 13-19.
- 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.
- Sumarlin , L. O. (2008). Aktivitas Protease dari Bacillus circulans Pada Media Pertumbuhan dengan pH Tidak Terkontrol. *Jurnal Kimia Valensi*, 1(2), 58-62.
- Susanti, E. (2003). Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bacillus subtilis 1012M15. *Jurnal Biodiversitas*, 4(1), 12-17.
- Virgianti, D., & Luciana, C. (2017). Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup pada Pewarnaan Gram . *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(1), 66-72.
- Wahyudiati, D. (2017). *Biokimia*. Mataram: LEPPIM Mataram .
- Wahyuni, S., Lianto, & Khaeruni, A. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Manolitikasal Banggol Pohon Sagu. *Jurnal Agroteknos*, 4(3), 174-197.
- Waluyo, L. (2008). *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi* . Malang : Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Winahyu, P., Sulistyaningtyas, A., & Darmawati, S. (2019). Isolasi Bakteri Indegenous Penghasil Enzim Protease dari Limbah Cair Industri Tempe . *Prosiding Seminar Nasional Unimus* , 2, 140-146.
- Yulvizar. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada Rastrelliger sp. . *Jurnal Biospecies* , 6(2) : 1-7.
- Yuniati , R., Nugroho, T. T., & Puspita , F. (2015). Uji Aktivitas Enzim Protease dari Isolat Baccillus sp. Galur Lokal Riau . *JOM FMIPA* , 1(2). 116-122.

Yusriah, & Kuswytasari , N. D. (2013). Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Protease *Panicillum* sp. *Jurnal Sains dan Seni*, 2(1), 48-50.

