

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PERTUMBUHAN *ACTINOMYCETES* ISOLAT ANL4 2b-3 UNTUK PRODUKSI ENZIM PROTEASE

Sartika Putri Fauziana*, Dian Herasari, dan Fifi Martasih

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung
Bandar Lampung, Indonesia, 35145
*email: tiekapu3_cute@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penentuan kondisi optimum pertumbuhan *Actinomycetes* meliputi komposisi media, pH, dan waktu inkubasi dengan menggunakan isolat biakkan dari *Actinomycetes* ANL4 2b-3. Variasi komposisi media yang digunakan adalah variasi sumber karbon, sumber nitrogen dan penambahan susu skim sebagai inducer enzim. Media limbah tahu digunakan sebagai media alternatif lain untuk produksi enzim protease. Komposisi media pertumbuhan optimum diperoleh berdasarkan uji aktivitas enzim protease yang dihasilkan dengan menggunakan metode *Kunitz* dan penentuan kadar protein dengan metode *Lowry*. Hasil penelitian menunjukkan media optimum produksi enzim protease dari *Actinomycetes* ANL4-2b-3 dengan komposisi *yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim 0,5%, NaCl 0,5M 1%, pada pH 6, aktivitas spesifik sebesar (1,368837 U/mg) dan waktu inkubasi 144 jam (6 hari) aktivitas spesifik (0,927826 U/mg). Limbah cair tahu juga dapat digunakan sebagai media produksi enzim protease dari *Actinomycetes* ANL4-2b-3 pada pH optimum 7,5, aktivitas sebesar (1,378973 U/mg) dan waktu inkubasi 144 jam (6 hari) aktivitas spesifik sebesar (0,493705 U/mg). Dari pengujian yang telah dilakukan media sintetik modifikasi optimum dan media limbah cair tahu dapat digunakan sebagai media biakkan *Actinomycetes* ANL4 2b-3 untuk produksi enzim protease.

Kata kunci: komposisi media, pH, waktu inkubasi, protease, metode *kunitz*.

1. PENDAHULUAN

Kemajuan industri saat ini sedang berkembang sangat pesat di Indonesia, baik industri pangan maupun non pangan. Dalam industri, enzim banyak digunakan karena terbukti dapat memberikan manfaat dan keuntungan bagi manusia. Protease merupakan enzim penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena aplikasinya yang sangat luas. Enzim dapat diperoleh dari tanaman, hewan dan mikroba. Namun yang paling menguntungkan adalah dari mikroba karena dapat diproduksi dalam waktu yang singkat dengan menghasilkan aktivitas yang tinggi, harganya relatif lebih murah dan mudah untuk di *handling*.

Salah satu mikroba yang dapat menghasilkan enzim protease yaitu *Actinomycetes* (Alina, 2003). *Actinomycetes* yang digunakan merupakan isolat koleksi Laboratorium Biomassa yang berasal dari lumpur tanah yang berada di Pantai Ringgung Teluk Lampung dan diambil dalam kedalaman 2 cm. Untuk mengamati fase pertumbuhan isolat

Actinomycetes digunakan metode densitas optik pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}), pengukuran nilai uji aktivitas enzim yang dihasilkan dengan menggunakan metode *Kunitz* dan pengukuran nilai uji kadar protein berdasarkan metode *Lowry*. Metode OD_{600} nm didasarkan atas nilai densitas optik suatu suspensi sel.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Pembuatan Media dan Larutan Perekasi

Media Pemeliharaan *Actinomycetes*: Media *International Streptomyces Project* (ISP-2). Media ISP-2 terdiri dari 4 g *yeast extract*, 10 g *malt extract*, 4 g dextrose dan 24 g agar dilarutkan dalam 1 L air laut steril lalu di sterilkan selama 15 menit, 121°C, 1 atm. Setelah media sedikit dingin media ditambahkan sikloheksamida 25 µg/mL selanjutnya media ini dituang ke dalam cawan petri.

Pembuatan Pereaksi untuk Pengukuran Aktivitas Protease Metode Kunitz

- 1) Buffer Fosfat pH 7
Stok A: 0,2 M NaH_2PO_4 (15,601 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam labu ukur 1L dengan akuades).
Stok B: 0,2 M Na_2HPO_4 (17,799 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam labu ukur 1 L dengan akuades). Buffer Fosfat pH 7 dibuat dengan mencampurkan 38,9 mL stok A dan 61,1 mL stok B.
- 2) Larutan Kasein
Sebanyak 1 g kasein dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan buffer fosfat pH 7 pada penangas air (80-90 °C).
- 3) Larutan Asam Trikloro Asetat (TCA)
Sebanyak 5 g TCA dilarutkan dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan akuades hingga garis batas.
- 4) Larutan Standar Tirosin
Larutan standar tirosin dengan kadar 20 - 120 ppm.

Pembuatan Pereaksi untuk Pengukuran Kadar Protein dengan Metode Lowry

- 1) Larutan Na-K Tartarat 1%
Sebanyak 1 g Na-K Tartarat dilarutkan dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan akuades hingga akhir batas.
- 2) Larutan NaOH 0,1 N
Sebanyak 0,4 g NaOH dilarutkan dalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan akuades hingga akhir batas.
- 3) Pereaksi A
Sebanyak 2 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan NaOH 0,1N
- 4) Pereaksi B
Sebanyak 2 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 5 mL larutan NaK-tartarat 1%
- 5) Pereaksi C
Sebanyak 2 mL pereaksi B ditambahkan 100 mL pereaksi A
- 6) Pereaksi D
Reagen Folin-Ciocalteu
- 7) Larutan Standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) diencerkan dengan akuades hingga mengandung 100 – 1000 ppm.

2.2 Penentuan Kondisi Optimum Pertumbuhan *Actinomyces*: Parameter untuk mengetahui kondisi optimum pertumbuhan *Actinomyces* adalah komposisi media pertumbuhan, variasi pH, dan waktu inkubasi.

Penentuan Media Pertumbuhan Optimum Produksi Protease dari *Actinomyces*: Untuk menentukan komposisi media

pertumbuhan optimum dari *Actinomyces* dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat *Actinomyces* dalam media sintetik modifikasi yang mengandung sumber nitrogen dan karbon serta dengan penambahan susu skim/tanpa susu skim dan menumbuhkan isolat pada media limbah cair tahu. Sebelum media digunakan, seluruh media dilarutkan dengan 100 mL akuades dan disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm.

Adapun komposisi media sintetik modifikasi yang digunakan, yaitu :

1. Pepton 0,5%, laktosa 0,1%, susu skim 0,5%, 1% NaCl 0,5 M
2. Pepton 0,5%, laktosa 0,1%, 1% NaCl 0,5 M
3. Pepton 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim 0,5 %, 1% NaCl 0,5 M
4. Pepton 0,5%, glukosa 0,1%, 1% NaCl 0,5 M
5. *Yeast extract* 0,5%, laktosa 0,1%, susu skim 0,5%, 1% NaCl 0,5 M
6. *Yeast extract* 0,5%, laktosa 0,1%, 1% NaCl 0,5 M
7. *Yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim 0,5%, 1% NaCl 0,5 M
8. *Yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, 1% NaCl 0,5 M
9. Media Limbah tahu : 100 mL limbah tahu cair yang diperoleh dari pabrik tahu di sterilisasi dengan cara di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm, pH 7.

Selanjutnya dilakukan pengukuran pertumbuhan sel yang dapat diamati dengan mengukur nilai *optical density* sel pada panjang gelombang 600 nm untuk menentukan jumlah sel yang tumbuh dan aktivitasnya diuji dengan menggunakan metode Kunitz.

Penentuan pH Optimum Produksi Protease dari *Actinomyces*: Penentuan pH optimum produksi enzim dilakukan dengan cara media modifikasi sintetik dengan pertumbuhan sel dan aktivitas terbaik dan media limbah cair tahu. Masing-masing media disterilisasi kemudian divariasikan pHnya dengan variasi pH 5 sampai pH 8 untuk media sintetik, untuk media limbah cair tahu variasi pH dilakukan dengan variasi pH awal limbah cair tahu sampai dengan pH 8 dengan interval pH 0,5 menggunakan buffer fosfat. Ke dalam masing - masing media dimasukkan 1 mL isolat *Actinomyces*, kemudian diinkubasi pada suhu ruang. Isolat yang telah diinkubasi kemudian diukur aktivitas enzimnya dengan metode Kunitz.

Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Produksi Protease dari *Actinomyces* dan Pembuatan Kurva Pertumbuhan: Waktu inkubasi optimum dari masing-masing media, dilakukan pengukuran dengan menggunakan metode Kunitz dengan variasi waktu inkubasi 1 – 12 hari. Begitu juga dengan pertumbuhan *Actinomyces* dengan menggunakan pengukuran OD₆₀₀ nm. Untuk pembuatan kurva pertumbuhan *Actinomyces* sebanyak 100 mL media modifikasi masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL di sterilisasi pada suhu 121°C selama 30 menit. Sebanyak satu ose *Actinomyces* dari media padat dimasukkan ke dalam masing-masing media modifikasi dan ditutup rapat. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 20 jam dengan di-shaker 120-130 rpm. Setelah 20 jam, starter ini ditransfer ke dalam 900 mL media modifikasi dan diinkubasi pada suhu 30°C dan di-shaker kembali pada 120-130 rpm. Selama inkubasi, aktivitas protease di uji setiap 24 jam, hingga hari ke-12, begitu juga dengan pertumbuhan *Actinomyces*.

2.3 Penyiapan Inokulum: Isolat *Actinomyces* yang telah ditumbuhkan pada ISP-2 selama 24 jam diinokulasi ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media yang dimodifikasikan. Biakan ini disebut dengan inokulum atau starter yang selanjutnya biakkan diinokulasi pada media fermentasi.

2.4 Isolasi Enzim: Isolasi protein enzim dilakukan dengan menumbuhkan 100 mL inokulum *Actinomyces* pada 100 mL media yang dimodifikasi pada suhu dan pH pertumbuhan optimum selama waktu inkubasi optimum. Untuk memisahkan larutan enzim dan konstituen seluler lainnya dilakukan sentrifugasi pada 3500 rpm selama 30 menit. Filtrat yang diperoleh disebut ekstrak kasar enzim. Kemudian terhadap ekstrak kasar enzim tersebut dilakukan pengukuran volume, dan diuji aktivitasnya dengan menggunakan metode Kunitz dan kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.

2.5 Uji Aktivitas Protease dengan Menggunakan Metode Kunitz Modifikasi: Aktivitas protease ditentukan dengan menggunakan metode Kunitz modifikasi. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan sebanyak 1 mL larutan kasein dan 1 mL larutan enzim. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit kemudian ditambahkan 3 mL TCA 5% secara tepat, diaduk dan diamkan lebih kurang 30 menit pada suhu ruang agar pengendapan sempurna. Endapan yang terbentuk di sentrifugasi. Filtrat hasil

sentrifugasi dilakukan pengujian Lowry. Absorbansi filtrat diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 750 nm. Kontrol dibuat dengan memasukkan 1 mL larutan enzim kemudian diinkubasi pada suhu 55 °C kemudian ditambahkan 3 mL larutan TCA 5%, dan 1 mL larutan kasein, dikocok, dan diamkan selama kurang lebih 30 menit. Filtrat hasil sentrifugasi kemudian dilakukan pengujian metode Lowry. Sebanyak 0,1 mL filtrat hasil sentrifugasi ditambahkan dengan akuades 0,9 mL, dimana dilakukan perlakuan yang sama antara sampel dan kontrol. Setelah tercampur, ditambahkan dengan 5 mL pereaksi C, didiamkan 10 menit hingga homogen. Setelah homogen ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-ciocelteau. Absorbansi filtrat diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 750 nm. Aktivitas enzim dihitung berdasarkan kurva standar tirosin.

2.6 Penentuan Kadar Protein (Metode Lowry): Analisis ini dilakukan untuk memperoleh data tentang jumlah protein dalam tiap mL cairan enzim, yang akan dilakukan dengan metode Lowry (Chaykin, 1966). Sebanyak 0,5 mL larutan sampel yang akan diukur kandungan proteinnya ditambahkan dengan 0,9 mL akuades atau dimasukkan 5 mL pereaksi C dan dicampur hingga homogen, lalu dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 0,5 mL pereaksi D dan dicampurkan hingga homogen, lalu didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar, setelah itu absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 750 nm. Untuk menentukan konsentrasi protein enzim digunakan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai pembanding.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Penentuan Kondisi Optimum (media sintetik) Pertumbuhan *Actinomyces*: Penentuan kondisi optimum perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum lingkungan *Actinomyces* sehingga dapat diharapkan enzim yang akan diproduksi lebih maksimal. Kondisi optimum yang ditentukan pada penelitian ini meliputi komposisi media pertumbuhan, waktu inkubasi, pH. Media pertumbuhan *Actinomyces* digunakan beberapa variasi, diantaranya variasi sumber nitrogen, sumber karbon, dan faktor pertumbuhan. Pada penelitian ini sumber

nitrogen yang digunakan adalah pepton dan *yeast extract* sedangkan sumber karbon yang digunakan yaitu laktosa dan glukosa. Untuk mengetahui pertumbuhan optimum *Actinomyces* pada setiap media dapat dilihat (Tabel .1) berdasarkan data optimum perumbuhan *Actinomyces* dengan nilai aktivitas protease yang diperoleh. Sumber karbon yang digunakan pada penelitian ini yaitu glukosa dan laktosa 0,1%. Sumber nitrogen yang digunakan yaitu *yeast extract* dan pepton 0,5%. Penambahan susu skim berfungsi sebagai inducer antara enzim dengan substrat protein. Diperoleh media pertumbuhan optimum yang menunjukkan aktivitas protease terbaik yaitu pada media sintetik 7 dengan komposisi media *yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim, 1% NaCl 0,5 M.

Tabel 1. Data media optimum pertumbuhan isolat *Actinomyces* pada media inokulum modifikasi sintetik dan media limbah cair tahu berdasarkan AUP (Aktivitas Unit Protease) dan AS (Aktivitas Spesifik).

Media 1			Media 2		
Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)	Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)
H0	0,0405	0,1362	H0	0,1123	0,5031
H1	0,0390	0,1286	H1	0,078	0,2743
H2	0,1217	0,3511	H2	0,0343	0,1626
H3	0,0764	0,2198	H3	0,0499	0,198
H4	0,0265	0,0812	H4	0,0062	0,0286
H5	0,4307	1,2425	H5	0,1919	0,9816
H6	0,3277	0,4843	H6	0,1841	0,3927
H7	0,0686	0,0988	H7	0,0425	0,1033
H8	0,4432	0,5953	H8	0,1045	0,2183
H9	0,348	0,5391	H9	0,092	0,2163
H10	0,3199	0,4775	H10	0,0889	0,1627
H11	0,0842	0,1247	H11	0,0468	0,1058
H12	0,1404	0,2103	H12	0,2153	0,5087

Media 3			Media 4		
Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)	Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)
H0	0,0838	0,2585	H0	0,1435	0,5847
H1	0,0931	0,2747	H1	0,1623	0,6435
H2	0,0491	0,1518	H2	0,0889	0,3776
H3	0,1186	0,3051	H3	0,0639	0,2419
H4	0,0286	0,0815	H4	0,0218	0,1018
H5	0,2997	0,0815	H5	0,4213	2,1426
H6	0,2169	0,9053	H6	0,4182	0,8365
H7	-0,0006	-0,0091	H7	0,0343	0,0496
H8	0,2179	0,3252	H8	0,2497	0,437
H9	0,2097	0,3515	H9	0,3402	0,7104
H10	0,1739	0,2353	H10	0,3058	0,5735
H11	0,0429	0,0612	H11	0,1357	0,2611
H12	0,1381	0,188	H12	0,2060	0,3846

Media 5			Media 6		
Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)	Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)
H0	0,1201	0,3593	H0	0,1342	0,4991
H1	0,1513	0,4153	H1	0,0795	0,2876
H2	0,0156	0,0378	H2	0,181	0,558
H3	0,0733	0,1891	H3	0,0733	0,2308
H4	0,0218	0,0592	H4	0,0468	0,1473
H5	0,1356	0,3806	H5	0,3074	0,7187
H6	0,3074	0,4795	H6	0,3932	0,9052

H7	0,3854	0,6659	H7	0,1217	0,3060
H8	0,3339	0,4513	H8	0,3339	0,8687
H9	0,1623	0,274	H9	0,3792	0,9587
H10	0,1779	0,24	H10	0,3573	0,8509
H11	0,1045	0,153	H11	-0,0015	-0,004
H12	0,2294	0,3123	H12	0,1826	0,4791

Media 7			Media 8		
Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)	Hari	AUP (U/mL)	AS (U/m)
H0	0,0686	0,1812	H0	0,014	0,0507
H1	0,1638	0,3478	H1	0,0499	0,1769
H2	0,0998	0,2954	H2	0,1045	0,3095
H3	0,0202	0,0517	H3	0,0686	0,2423
H4	0,0515	0,1197	H4	0,0109	0,0325
H5	0,3995	0,7586	H5	0,4206	0,9515
H6	0,4494	0,9278	H6	0,3495	0,7780
H7	0,0717	0,1416	H7	-0,0249	-0,0523
H8	0,2902	0,5918	H8	0,3636	0,7682
H9	0,2809	0,4682	H9	0,3667	0,8969
H10	0,284	0,5072	H10	0,3417	0,6382
H11	-0,001	-0,0028	H11	0,039	0,0809
H12	0,1576	0,0307	H12	0,2419	0,4816

Media 9

Hari	AUP (U/mL)	AS (U/mg)
H0	0,0327	0,0735
H1	0,0468	0,1015
H2	0,053	0,0938
H3	0,2153	0,0471
H4	0,0296	0,0538
H5	0,1217	0,168
H6	0,3324	0,4937
H7	0,1872	0,238
H8	0,2184	0,3091
H9	0,0218	0,029
H10	0,1545	0,1836
H11	0,095	0,1094
H12	0,2731	0,3107

3.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Produksi Protease dari *Actinomyces* dan Pembuatan Kurva Pertumbuhan:

Waktu yang diperlukan oleh enzim untuk bereaksi secara optimum dengan produk tidaklah seragam, ada beberapa yang membutuhkan waktu yang lebih lama untuk bereaksi (Orten dan Neuhaus, 1970). Dilakukan pengukuran waktu inkubasi dengan cara menumbuhkan isolat *Actinomyces* pada media biakan. Dilakukan pengujian aktivitas protease yang dilakukan setiap 24 jam selama fermentasi dengan suhu tetap 30°C. Aktivitas enzim protease dari isolat *Actinomyces* diuji pada media sintetik modifikasi dan media limbah cair tahu. Hasil pengukuran aktivitas enzim pada masing-masing media dapat dilihat pada (Tabel .1) menunjukkan bahwa media sintetik pertumbuhan *Actinomyces* optimum dihasilkan pada media sintetik 7 dengan aktivitas enzim 0,44948 U/mL sehingga pengukuran waktu inkubasi dilihat pada waktu inkubasi optimum yang dihasilkan pada media 7. Diperoleh waktu inkubasi 144 jam (6 hari). Data aktivitas enzim dengan variasi waktu pada media sintetik dan limbah cair tahu

dapat dilihat pada Tabel 1. Bersamaan dengan penentuan waktu inkubasi dilakukan pengukuran OD untuk menentukan kurva pertumbuhan dari isolat *Actinomyces* pada media sintetik modifikasi dan media limbah cair tahu. Penentuan kurva pertumbuhan ini dilakukan untuk mengetahui waktu optimum pertumbuhan sel dan waktu optimum sel dalam memproduksi enzim protease.

Tabel 2. Data serapan densitas optik (OD) pertumbuhan sel
Isolat *Actinomyces* media modifikasi pada serapan 600 nm.

Hari	Media1	Media2	Media3	Media4
H0	0,110	0,002	0,12	0,001
H1	0,135	0,004	0,157	0,002
H2	0,187	0,02	0,116	0,063
H3	0,179	0,047	0,168	0,075
H4	0,143	0,157	0,135	0,070
H5	0,186	0,233	0,198	0,136
H6	0,134	0,148	0,087	0,080
H7	0,061	0,179	0,058	0,074
H8	0,157	0,114	0,146	0,106
H9	0,146	0,084	0,077	0,095
H10	0,139	0,101	0,2	0,09
H11	0,168	0,101	0,201	0,078
H12	0,136	0,1	0,140	0,060

Hari	Media5	Media6	Media7	Media8
H0	0,090	0,002	0,300	0,035
H1	0,130	0,008	0,376	0,075
H2	0,151	0,107	0,381	0,125
H3	0,152	0,129	0,360	0,117
H4	0,225	0,079	0,276	0,085
H5	0,300	0,058	0,145	0,064
H6	0,364	0,135	0,166	0,095
H7	0,269	0,113	0,202	0,101
H8	0,331	0,064	0,166	0,094
H9	0,363	0,053	0,161	0,162
H10	0,374	0,055	0,153	0,174
H11	0,499	0,053	0,163	0,155
H12	0,369	0,054	0,060	0,150

Hari	Media9
H0	0,100
H1	0,109
H2	0,141

H3	0,150
H4	0,152
H5	0,329
H6	0,313
H7	0,485
H8	0,542
H9	0,734
H10	0,720
H11	0,820
H12	0,845

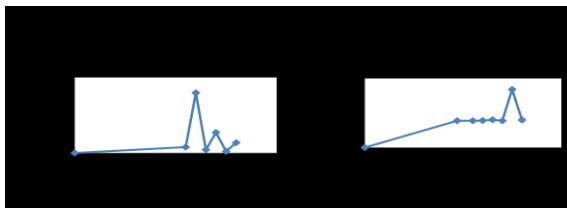
Berdasarkan tabel di atas, terlihat bahwa metode pengukuran densitas optik (OD) dapat digunakan untuk mengukur pertumbuhan sel baik isolat pada media modifikasi maupun media limbah cair tahu. Data kurva pertumbuhan isolat *Actinomyces* dapat dilihat pada (Tabel . 2). Hal ini dikarenakan pada isolat media sintetik modifikasi dan media limbah cair tahu mikroba yang dibiakkan mengalami pemekatan kekeruhan pada media fermentasi, semakin hari media semakin menunjukkan tingkat kekeruhannya. Hal ini ditunjukkan dengan naiknya kurva pertumbuhan isolat media sintetik modifikasi maupun media limbah cair tahu berdasarkan pengukuran OD pada panjang gelombang 600 nm. Sehingga pada hasil pengukuran OD serapan 600 nm dapat mengikuti pola kurva pertumbuhan pada umumnya.

Setelah melihat aktivitas enzim protease pada variasi waktu yang sama dan pengukuran OD (optical density), maka dapat dilihat secara keseluruhan bahwa produksi enzim protease isolat *Actinomyces* lebih banyak dihasilkan pada saat awal pertumbuhan mikroba dimana fase penurunan awal terendah dari kurva pertumbuhan adalah pertumbuhan optimum dari isolat *Actinomyces*. Waktu optimum produksi enzim protease dari *Actinomyces* pada media modifikasi 1,2,3 dan media 4 berada tepat dengan waktu pertumbuhannya yaitu pada hari ke 5, pada media modifikasi 5 waktu optimum produksi enzim berada pada hari ke 7, media modifikasi 6 pada hari ke 5, media modifikasi 8 pada hari ke 5, media ke 9 (LCT) pada hari ke 6 sebelum waktu pertumbuhannya.

3.3 Penentuan pH Optimum Produksi Protease dari *Actinomyces*: Keasaman (pH) dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Pengukuran aktivitas enzim protease digunakan untuk menentukan pH optimum produksi enzim dengan menggunakan suhu

tetap 30°C. Penentuan pH optimum dilakukan dengan variasi pH 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8. Untuk media limbah cair tahu dilakukan dengan variasi pH awal limbah cair tahu yaitu pH 4,7; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8.

Berdasarkan data yang diperoleh bahwa aktivitas enzim protease optimum pada media modifikasi 7 dengan pH 6 sebesar 0,238786 U/mL, untuk media 9 (LCT) aktivitas enzim protease optimum pada pH 7,5 sebesar 0,33555 U/mL. Dari hasil yang didapat diketahui bahwa media sintetik modifikasi 7 dan media limbah cair tahu (LCT) dapat digunakan sebagai media alternatif untuk produksi enzim protease.



Gambar 2. Kurva aktivitas enzim isolat *Actinomyces* pada variasi pH A. Media *Yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim, 1% NaCl 0,5M. B. Media limbah cair tahu

4. SIMPULAN DAN SARAN

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Media optimum untuk produksi enzim protease dari *Actinomyces* ANL4-2b-3 adalah media dengan komposisi *yeast extract* 0,5%, glukosa 0,1%, susu skim 0,5%, 1% NaCl 0,5 M.
2. Produksi enzim protease dari *Actinomyces* dengan aktivitas tertinggi pada waktu inkubasi 144 jam (6 hari).
3. pH optimum produksi enzim protease isolat *Actinomyces* pada pH 6 suhu 30°C.
4. Limbah cair tahu mengandung nutrisi yang cukup baik dan dapat digunakan untuk produksi enzim protease *Actinomyces* ANL4-2b-3.

4.2 SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka penulis menyarankan untuk melakukan variasi suhu optimum, variasi media sintetik lainnya yang dapat digunakan untuk produksi enzim protease dari *Actinomyces* isolat

lokal. Penentuan limbah tahu sebaiknya digunakan metode lain seperti metode berat kering sel agar didapat kurva pertumbuhan yang sesuai dengan pola kurva pertumbuhan pada media pertumbuhan standar.

PUSTAKA

- Anggraini, Lucya. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease Dari Isolat Bakteri Air Hutan Bakau (Skripsi). Unila. Bandar Lampung. Hlm 52.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., Wootton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah : Hadi Purnomo. UI-Press. Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1987. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Lehninger, A. L. 1988. *Dasar-Dasar Biokimia*. Alih Bahasa oleh Maggy Thenawijaya. Erlangga. Jakarta.
- Page, David, S. 1989. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. UI Press. Jakarta. Hlm 141.
- Riki, Eriyanti. A. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari *Actinomyces* Isolat Lumpur Hutan Bakau. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sizer, I. W. 1964. *Enzyme Applications. Advanced in Applied Microbiology*. Nomor : 6 : 214-225.
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia Protein Enzim dan Asam Nukleat*. ITB. Bandung.