

Original Research Paper

Protease Enzyme Activity of Fungal Isolates from Avocado and Coconut Fleshes on Different pH and Temperature

Prapti Sedijani^{1*}, Dinda Propita Lestari¹, Dewa Ayu Citra Rasmi¹, Kusmiyati¹

¹Biologi Education, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia;

Article History

Received : July 18th, 2023

Revised : August 21th, 2023

Accepted : September 01th, 2023

*Corresponding Author:

Prapti Sedijani, Biologi Education, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia;
Email:
praptisedijani@unram.ac.id

Abstract: Protease enzymes are widely applied in the industrial field. Protease enzymes have high economic prospects with unmet demand. This article describes protease activity of two fungi isolated from avocados and from coconuts fleshes that previously have shown a high lipolytic activity on pH 7 to pH 10. The protease test was performed on PDA medium supplemented with 1% of skim milk, and adjusted to pH 7, pH 8 and pH 9 and was incubated at room temperature and at 30°C. Protease activity was determined based on the clear zone around the colony observed on day two – day eight. The results showed that variations in pH and temperature had a significant effect on the protease activity. The highest protease activity of isolate from avocado and from coconut fleshes were observed at pH 7, room temperature and incubated for 24 hours, with a protease activity index of 0.36 and 0.31 respectively.

Keywords: Avocado, coconut, pH, protease activity, temperature.

Pendahuluan

Enzim protease merupakan kelompok enzim hidrolase yang memutuskan ikatan peptida pada protein dengan bantuan air (hidrolisis). Enzim protease ini banyak digunakan di berbagai bidang industri. Dalam bidang industri, enzim protease dapat digunakan untuk membantu proses industri pangan dan non pangan. Industri pangan menggunakan protease untuk memperbaiki tekstur, mempersingkat waktu penjamuran, dan meningkatkan volume adonan pada pembuatan roti, menjernihkan bir, mengempukkan daging, dan menggumpalkan susu. Protease dalam industri non pangan digunakan antara lain dalam bidang kesehatan, fotografi, industri deterjen, dan industri kulit (Sumarlin, 2008).

Kebutuhan enzim protease di Indonesia semakin meningkat namun masih tergantung pada produksi impor. Keadaan ini tentu sangat merugikan dari segi ekonomi. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap impor adalah dengan mengupayakan produksi enzim protease dengan mengoptimalkan pemanfaatan

sumber daya hayati yang dimiliki oleh Indonesia (Suhartono, 2000). Penggunaan terbesar enzim protease banyak dimanfaatkan dalam bidang industri deterjen (Li *et al.*, 2013). Adanya komponen enzim protease pada deterjen dapat membantu membersihkan kotoran yang berbahannya dasar protein. Protease menjadi alternatif yang menarik bagi upaya pengurangan penggunaan komponen fosfat untuk menghasilkan deterjen yang ramah lingkungan (Ningsih *et al.*, 2021).

Enzim yang dapat digunakan dalam deterjen harus tahan terhadap sifat-sifat komponen deterjen, terutama senyawa pemutih, misalnya enzim protease yang dimasukkan ke dalam formulasi deterjen enzim yang mempunyai aktivitas tinggi pada rentang pH basa ($>\text{pH } 8,0$), tidak terlalu dipengaruhi senyawa deterjen atau ion-ion logam yang banyak di dalam deterjen dan dapat bekerja pada suhu relatif luas, dingin maupun panas (Fuad *et al.*, 2004 & Agustien *et al.*, 2007). Sedangkan pada bidang industri makanan dibutuhkan enzim protease yang memiliki aktivitas tinggi di pH netral hingga basa dengan suhu 40-50°C (Kalisz,

1988 ; Outtrup & Boyce, 1990).

Protease mempunyai prospek ekonomi yang tinggi dengan permintaan yang belum terpenuhi, Koleksi isolat fungi dari alpukat dan kelapa di Laboratorium Biologi FKIP, Universitas Mataram,yang telah di uji aktivitas enzim lipase pada rentang pH 7, pH 8, pH 9, dan pH 10. Pada artikel ini mendekripsikan aktivitas enzim protease dari sumber yang sama yaitu isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan bertempat di Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram.

Jenis penelitian

Jenis penenlitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif eksploratif.

Aktivitas enzim protease fungi secara kualitatif

Isolat yang digunakan adalah isolat fungi yang telah diisolasi sebelumnya dari daging alpukat dan endosperm kelapa yang menunjukkan aktivitas enzim lipase. Isolat tersebut diuji secara kualitatif ditumbuhkan di media PDA dengan tambahan 1% skim milk sebagai substratnya.

Jamur diinokulasi dengan menggunakan jarum ose dengan memindahkan misselium dan diinokulasi tepat ditengah media. Lalu isolat fungi diinkubasi selama 7 hari untuk melihat aktivitas enzim protease. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas enzim protease. Setelah itu akan diuji aktivitas enzim protease pada media pH di suhu ruang dan suhu 30°C.

Aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan kelapa rentang pH dan suhu

Aktivitas enzim protease diuji pada pH 7, pH 8, dan pH 9 di suhu ruang dan suhu 30°C selama 7 hari. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni di ukur diameternya. Data ini

digunakan untuk menentukan indeks aktivitas enzim protease dari isolat fungi.

Pengumpulan data

Aktivitas enzim protease isolat fungi diukur berdasarkan standar oleh Rosa *et al.*, (2020).

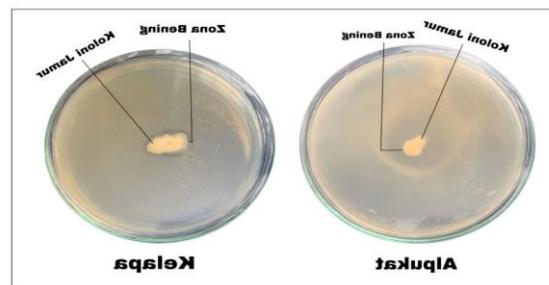
$$\text{Aktivitas enzim protease} = \frac{\varnothing \text{ Zona Bening} - \varnothing \text{ Koloni}}{\varnothing \text{ Koloni}} \quad (1)$$

Kemudian data yang diperoleh diuji menggunakan Two Way ANOVA. Untuk melihat perbedaan aktivitas antara kedua isolat fungi dan pengaruh suhu, pH, dan waktu inkubasi.

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim protease fungi secara kualitatif

Scrining awal isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa menunjukkan aktivitas proteolitik yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni fungi, yang disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas Enzim Protease

Aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan kelapa rentang pH dan suhu

Aktivitas enzim protease disajikan dalam bentuk indeks (lihat pada tabel 1 dan 2). Pada tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa menunjukkan adanya aktivitas enzim protease. Dari kedua isolat fungi tersebut memiliki indeks aktivitas enzim protease yang berbeda-beda. Data hasil pengukuran dianalisis dengan menggunakan uji Two Way ANOVA. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Tabel 1. Indeks Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat pada Rentang pH dan Suhu Ruang

Waktu Inkubasi	Suhu	pH			7			8			9		
		U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
2	Suhu Ruang	0.40	0.34	0.33	0.27	0.24	0.26	0.23	0.22	0.22			
	Suhu 30°C	0.30	0.33	0.31	0.21	0.29	0.18	0.23	0.23	0.20			
3	Suhu Ruang	0.35	0.28	0.25	0.30	0.25	0.21	0.23	0.23	0.20			
	Suhu 30°C	0.29	0.26	0.27	0.24	0.19	0.24	0.22	0.21	0.19			
4	Suhu Ruang	0.32	0.24	0.29	0.26	0.21	0.23	0.20	0.19	0.21			
	Suhu 30°C	0.28	0.25	0.23	0.26	0.18	0.17	0.23	0.17	0.19			
5	Suhu Ruang	0.34	0.28	0.26	0.25	0.23	0.20	0.20	0.19	0.21			
	Suhu 30°C	0.27	0.21	0.20	0.23	0.19	0.18	0.21	0.19	0.17			
6	Suhu Ruang	0.32	0.28	0.25	0.26	0.23	0.14	0.19	0.21	0.20			
	Suhu 30°C	0.22	0.21	0.19	0.21	0.18	0.18	0.21	0.19	0.16			
7	Suhu Ruang	0.25	0.21	0.23	0.22	0.20	0.20	0.20	0.20	0.19			
	Suhu 30°C	0.23	0.20	0.18	0.22	0.17	0.18	0.19	0.17	0.18			
8	Suhu Ruang	0.22	0.18	0.16	0.19	0.16	0.15	0.18	0.16	0.17			
	Suhu 30°C	0.20	0.17	0.19	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.14			

Keterangan : suhu ruang (24°C-28°)

Tabel 2. Indeks Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Kelapa pada Rentang pH dan Suhu 30°C

Waktu Inkubasi	Suhu	pH			7			8			9		
		U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
2	Suhu Ruang	0.30	0.31	0.31	0.29	0.29	0.29	0.27	0.27	0.28			
	Suhu 30°C	0.29	0.26	0.29	0.28	0.25	0.27	0.26	0.24	0.25			
3	Suhu Ruang	0.29	0.29	0.29	0.28	0.28	0.26	0.28	0.25	0.26			
	Suhu 30°C	0.29	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.25	0.26	0.26			
4	Suhu Ruang	0.28	0.27	0.27	0.26	0.25	0.25	0.25	0.24	0.24			
	Suhu 30°C	0.27	0.26	0.25	0.25	0.24	0.25	0.24	0.23	0.23			
5	Suhu Ruang	0.29	0.27	0.26	0.27	0.28	0.24	0.27	0.26	0.26			
	Suhu 30°C	0.23	0.27	0.25	0.25	0.23	0.20	0.24	0.21	0.21			
6	Suhu Ruang	0.26	0.24	0.29	0.26	0.27	0.22	0.22	0.23	0.23			
	Suhu 30°C	0.23	0.26	0.24	0.23	0.21	0.23	0.25	0.22	0.18			
7	Suhu Ruang	0.25	0.26	0.25	0.28	0.24	0.20	0.24	0.22	0.22			
	Suhu 30°C	0.25	0.21	0.24	0.25	0.21	0.21	0.24	0.21	0.17			
8	Suhu Ruang	0.24	0.21	0.21	0.22	0.20	0.18	0.19	0.17	0.16			
	Suhu 30°C	0.21	0.20	0.20	0.18	0.18	0.18	0.18	0.16	0.17			

Keterangan : Suhu ruang (24°C-28°)

Hasil uji Two Way ANOVA, faktor pH, suhu dan waktu inkubasi menunjukkan adanya beda nyata terhadap aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan kelapa, dimana nilai signifikannya $0.000 < 0.05$, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji DMRT. Hasil uji DMRT ditunjukkan pada tabel 5 dan 6 yaitu

indeks aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa pada pH 7 di suhu ruang dengan waktu inkubasi selama 1x24 jam (hari kedua) masing-masing sebesar 0.36 dan 0.31 berbeda nyata dengan semua perlakuan dari hari kedua sampai dengan hari kedelapan (lihat notasi 1 dan q). Dan lihat Gambar 2 dan Gambar 3.

Tabel 3. Hasil Uji ANOVA Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat

Dependent Variable: Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	.236 ^a	41	.006	7.331	.000	
Intercept	6.148	1	6.148	7829.359	.000	
Suhu	.019	1	.019	24.438	.000	
pH	.085	2	.042	53.804	.000	
Waktu_inkubasi	.103	6	.017	21.828	.000	

Suhu * pH	.005	2	.002	2.886	.061
Suhu * Waktu_inkubasi	.002	6	.000	.498	.808
pH * Waktu_inkubasi	.017	12	.001	1.838	.055
Suhu * pH *	.005	12	.000	.563	.865
Waktu_inkubasi					

Tabel 4. Hasil Uji Anova Aktivitas Enzim protease Isolat Fungi dari Kelapa

Dependent Variable: Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Kelapa

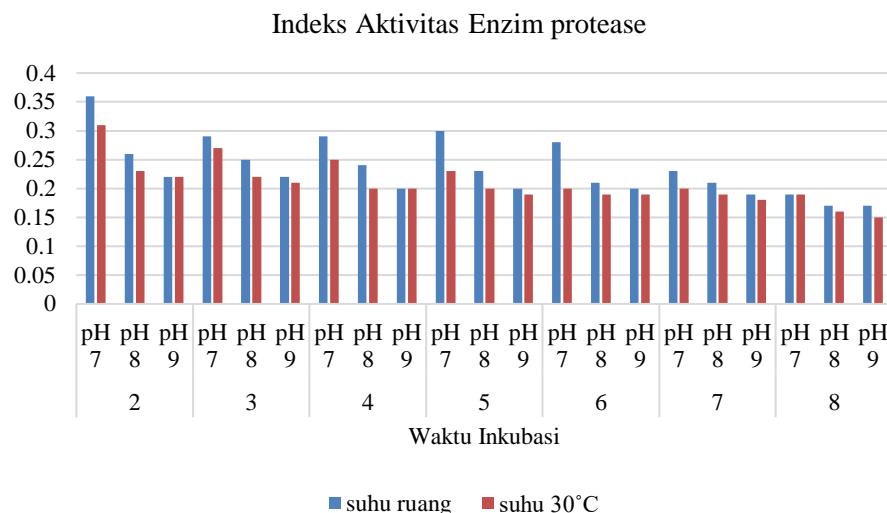
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.123 ^a	41	.003	10.925	.000
Intercept	7.488	1	7.488	27292.647	.000
Suhu	.010	1	.010	35.961	.000
pH	.018	2	.009	32.985	.000
Waktu_inkubasi	.090	6	.015	54.952	.000
Suhu * pH	.000	2	5.144E-5	.187	.829
Suhu * Waktu_inkubasi	.002	6	.000	1.495	.190
pH * Waktu_inkubasi	.001	12	8.735E-5	.318	.984
Suhu * pH *	.001	12	7.139E-5	.260	.994
Waktu_inkubasi					

Tabel 5. Hasil Uji DMRT Indeks Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat

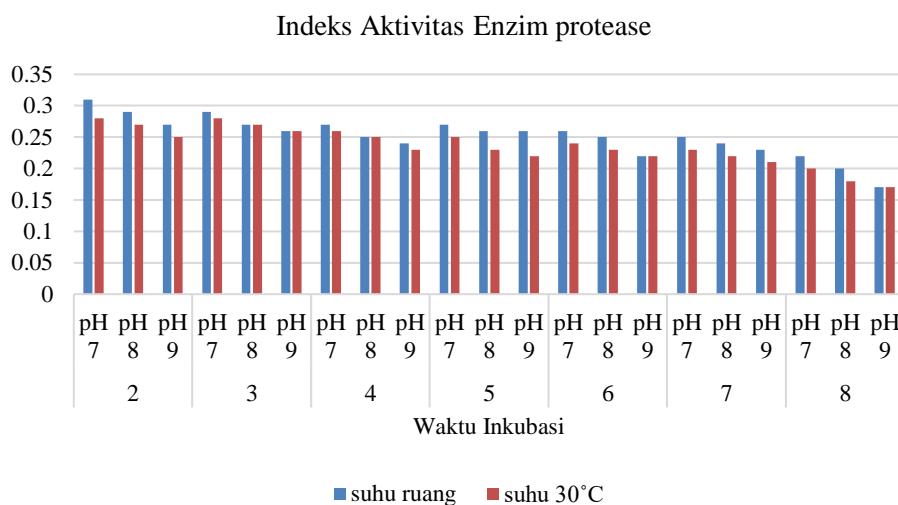
Waktu inkubasi	pH Suhu			
		7	8	9
2	Suhu Ruang	0.36 ^l	0.26 ^{ghij}	0.22 ^{cdefgh}
	Suhu 30°C	0.31 ^k	0.23 ^{cdefgh}	0.22 ^{cdefgh}
3	Suhu Ruang	0.29 ^{jk}	0.25 ^{fghij}	0.22 ^{cdefgh}
	Suhu 30°C	0.27 ^{hijk}	0.22 ^{cdefgh}	0.21 ^{bvddefg}
4	Suhu Ruang	0.29 ^{ijk}	0.24 ^{efghi}	0.20 ^{abcdef}
	Suhu 30°C	0.25 ^{fghij}	0.20 ^{abcdef}	0.20 ^{abcdef}
5	Suhu Ruang	0.30 ^{jk}	0.23 ^{defgh}	0.20 ^{abcdef}
	Suhu 30°C	0.23 ^{efgh}	0.20 ^{abcdef}	0.19 ^{abcde}
6	Suhu Ruang	0.28 ^{ijk}	0.21 ^{bcddefg}	0.20 ^{abcdef}
	Suhu 30°C	0.20 ^{abcdef}	0.19 ^{abcde}	0.19 ^{abcde}
7	Suhu Ruang	0.23 ^{efgh}	0.21 ^{bcddefg}	0.19 ^{abede}
	Suhu 30°C	0.20 ^{abcddefg}	0.19 ^{abcde}	0.18 ^{abede}
8	Suhu Ruang	0.19 ^{abcde}	0.17 ^{abcd}	0.17 ^{abc}
	Suhu 30°C	0.19 ^{abcde}	0.16 ^{ab}	0.15 ^a

Tabel 6. Hasil Uji DMRT Indeks Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Kelapa

Waktu Inkubasi	pH Suhu			
		7	8	9
2	Suhu Ruang	0.31 ^q	0.29 ^{pq}	0.27 ^{klmnpop}
	Suhu 30°C	0.28 ^{mnopqp}	0.27 ^{klmnpop}	0.25 ^{klmnpop}
3	Suhu Ruang	0.29 ^{opq}	0.28 ^{lmnopq}	0.26 ^{ijklmnp}
	Suhu 30°C	0.28 ^{nopq}	0.27 ^{klmnpop}	0.26 ^{ijklmn}
4	Suhu Ruang	0.27 ^{klmnpop}	0.25 ^{hijklmn}	0.24 ^{efghijk}
	Suhu 30°C	0.26 ^{iklmno}	0.25 ^{efghijklm}	0.23 ^{defghi}
5	Suhu Ruang	0.27 ^{klmnpop}	0.26 ^{iklmnop}	0.26 ^{ijklmnpop}
	Suhu 30°C	0.25 ^{fgijklmn}	0.23 ^{cdefghi}	0.22 ^{cdefg}
6	Suhu Ruang	0.26 ^{iklmnpop}	0.25 ^{ghijklmn}	0.22 ^{cde}
	Suhu 30°C	0.24 ^{efghijkl}	0.23 ^{cdefghi}	0.22 ^{cde}
7	Suhu Ruang	0.25 ^{hijklmn}	0.24 ^{efghijk}	0.23 ^{defghi}
	Suhu 30°C	0.23 ^{defghi}	0.22 ^{cdefgh}	0.21 ^{cde}
8	Suhu Ruang	0.22 ^{cde}	0.20 ^{ab}	0.17 ^a
	Suhu 30°C	0.20 ^{bcd}	0.18 ^{ab}	0.17 ^a



Gambar 2. Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat Suhu Ruang dan Suhu 30°C



Gambar 3. Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Kelapa Suhu Ruang dan Suhu 30°C

Pembahasan

Aktivitas Enzim Protease Fungi Secara Kualitatif

Sebagaimana telah disinggung di depan bahwa 2 isolat fungi yang digunakan dalam penelitian ini telah menunjukkan aktivitas lipolitik tinggi pada pH 7, pH 8, pH 9, dan pH 10 suhu ruang, dan menurun pada suhu 30°C (Sedijani *et al.*, 2021). Pada penelitian ini menguji tingkat aktivitas enzim protease dari kedua isolat fungi tersebut, dengan harapan isolat fungi tersebut dapat dijadikan organisme sumber dalam menghasilkan lipase maupun protease. Kedua isolat fungi tersebut ditumbuhkan pada

medium selektif untuk melihat adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni. Aktivitas enzim protease menunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni fungi setelah di inkubasi selama 7 hari (lihat gambar 1).

Zona bening tersebut menunjukkan adanya aktivitas enzim protease di sekitar koloni fungi, yakni menandakan pecahnya molekul protein yang terkandung di dalam skim milk pada medium selektif yang digunakan. Skim milk mengandung kasein yang berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik enzim protease (Susanti, 2002). Kasein ini terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino

yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Zainuddin (2017), bahwa hilangnya partikel kasein dalam medium skim milk ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni.

Aktivitas Enzim Protease Isolat Fungi dari Alpukat dan Kelapa Rentang pH dan Suhu

Aktivitas enzim protease dinyatakan dalam bentuk indeks menurut Rosa *et al.*, (2020). Hasil uji ANOVA dua arah menunjukkan bahwa kedua isolat fungi tersebut menunjukkan aktivitas yang berbeda pada pH 7, pH 8, dan pH 9, pada suhu ruang dan pada suhu 30°C (lihat Tabel 3 dan 4). Untuk melihat indeks aktivitas terbaik dari masing-masing perlakuan maka dilakukan uji lanjut yaitu uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Berdasarkan hasil uji DMRT bahwa perlakuan terbaik ditunjukkan oleh isolat fungi yang ditumbuhkan pada pH 7 di suhu ruang dengan waktu inkubasi selama 1x24 jam (hari kedua) baik dari alpukat dan dari kelapa.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yusron *et al.*, (2021) aktivitas enzim protease isolat fungi dari kedelai paling tinggi pada kondisi pH 7 dan pada 96 jam fermentasi. Akan tetapi hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Yusriah dan Nengah (2013) *penicillium sp.* merupakan jenis kapang yang menghasilkan aktivitas protease yang tinggi di pH 8 dan suhu 40°C, atau penelitian Syafie (2014), yang melaporkan aktivitas enzim protease *Aspergillus sp.* memiliki aktivitas enzim protease paling tinggi pada pH 9 dengan suhu 40°C.

Perbedaan hasil tersebut kemungkinan disebabkan masing-masing enzim protease dari isolat fungi yang berbeda memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam beraktivitas. Dilihat dari isolat fungi yang digunakan oleh peneliti diisolasi dari bahan makanan dengan pH netral yang mudah ditemukan di lingkungan yaitu dari alpukat dan dari kelapa, kemungkinan faktor inilah yang menyebabkan aktivitas terbaik ditunjukkan oleh isolat fungi yang ditumbuhkan pada pH 7 suhu ruang.

Berdasarkan indeks aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa pada penelitian ini tergolong masih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya. Seperti yang dilakukan oleh Sumardi *et al.*, (2021) dari isolat Actinomycetes

(AF2) yang memiliki indeks aktivitas enzim protease sebesar 0,66. Hasil Penelitian oleh Poernomo *et al.*, (2015) uji kualitatif aktivitas proteolitik ekstrak crude enzim kedelai hitam dinyatakan dengan indeks aktivitas proteolitik adalah 3.00 ± 1.58 , dan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sabrini *et al.*, (2021) tiga belas kapang *Aspergillus section Nigri* DUCC yang memiliki indeks aktivitas enzim protease sebesar 1.06 - 1.51. Namun, indeks aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan kelapa lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Ratnayani *et al.*, (2015) indeks aktivitas enzim protease yang ditemukan pada getah umbi talas (0,01) dan getah buah labu siam (0,03).

Aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa yang tergolong masih rendah, aktivitas enzim ini masih memerlukan penelitian lanjutan guna meningkatkan aktivitas proteolitiknya, jika kedua isolat tersebut akan dimanfaatkan sebagai sumber penghasil enzim proteolitik, seperti bidang industri makanan dan industri deterjen. Fuad *et al.*, (2004) dan Agustien *et al.*, (2007) memaparkan bahwa enzim yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan deterjen merupakan enzim yang memiliki aktivitas tinggi pada rentang pH basa (>pH 8,0), tidak terlalu dipengaruhi senyawa deterjen atau ion-ion logam yang banyak di dalam deterjen dan dapat bekerja pada suhu relatif luas, dingin atau panas.

Menurut Kalisz (1988) ; Outrup dan Boyce (1990) enzim protease yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri makanan merupakan enzim yang aktif di pH netral dan alkaline di suhu yang tinggi kisaran 40-50°C. Oleh karena itu perlu dilakukan uji lebih lanjut aktivitas enzim protease fungi untuk meningkatkan aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa sehingga berpotensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan dalam dunia industri, terutama pada industri deterjen. Selain itu dilihat dari indeks aktivitas kedua isolat fungi, penelitian seperti pemilihan substrat dan konsentrasinya, jenis sumber nitrogen ataupun faktor-lainnya lainnya perlu dilakukan. Dengan demikian, maka kedua isolat fungi menunjukkan aktivitas proteolitik yang jauh lebih rendah dibanding dengan aktivitas lipolitiknya, sehingga menggunakan kedua isolat fungi tersebut sebagai

organisme sumber penghasil lipase dan protease belum menunjukkan kemungkinan tersebut.

Kesimpulan

Aktivitas enzim protease isolat fungi dari alpukat dan dari kelapa terpengaruh oleh pH, suhu dan waktu inkubasi. Aktivitas terbaik diperoleh pada pH 7 di suhu ruang waktu inkubasi selama 1x24 jam. Aktivitas protease tersebut menurun pada suhu 30°C dari indeks aktivitas pada suhu ruang masing-masing sebesar 0.36 dan 0.31, menjadi 0.15 dan 0,17 pada suhu 30°C.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Mataram melalui LPPM Unram yang telah menyediakan dana untuk bisa melaksanakan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Dinda Propita Lestari yang telah membantu dalam pengambilan data penelitian, serta kepada staf laboratorium Biologi, FKIP, Universitas Mataram, yang telah banyak memfasilitasi dalam proses pengumpulan data penelitian, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

Referensi

- Agustien, D. P., Patidar, T., Banerjee. & Patil. (2004). Production of Alkaline Protease by *Penicillium sp.* Under SSF conditions and Its Application to Soy Protein Hydrolysis. *Process Biochemistry*, 39(8) : 977-981. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00212-7).
- Fuad, A.M., Rahmawati. & Mubarik. N.R. (2004). Produksi dan Karakterisasi Parsial Protease Alkali *Termostabil bacillus thermoglucosidasius AF-01*. *Journal Mikrobiology Indonesia*, 9(1) : 29-35. ISSN : 0852-358X.
- Kalisz, H.M. (1998). *Microbial Proteinases. Biochem*. English : Biotechnol.
- Li,J.Y., Ya.H.C. & Shann.T.J. (2013). Purificationand and Characterization of Acidic Protease from *Aspergillus oryzae* BCRC 20118. *Journal Marine science and technology*, 21(1) : 105-110. DOI : 10.6119/JMST-012-0529-1.
- Ningsih, H., Evan, P.R., Dwiyati, N.S., Miranda, F.s., Resti, F., Widya, L., Abdus, S.J., Ria, P. & Erika, J. (2021). *Pengantar Biotehnologi*. Medan : Yayasan Kita Menulis.
- Outtrup, H. dan Boyce, C.O.L. (1990). *Microbial Proteinases and Biotechhnology*. In : Fogarty C.T, Kelly K. (eds). *Microbial Enzymes and Biotechnology*. London ; Elssevier.
- Poernomo, A.T., Isnael. & Purwanto. (2015). Aktivitas Invitro Enzim Fibrinolitik Ekstrak Tempe hasil Fermentasi Rhizopus Oligosporus ATCC 6010 pada Substrat Kedelai Hitam. Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, 4(2) : 18-24. ISSN : 2302-8270. URL: <https://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-bikf2b8862565b2full.pdf>.
- Ratnayani, K., M.Nasib., J. Sibrani. & A.A.L.AM. Laksniwati. (2018). Aktivitas Protease pada Getah Bagian Batang dari Tiga Jenis Spesies Tanaman Kamboja (Plumeria L). *Jurnal Kimia*, 12(2) : 147-151. DOI : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2018.v12.i02.p09>.
- Rosa, E., Ekowati, C.N., Handayani, T., Ihsanuddin, A., Apriliani, F. & Arifyanto, A. (2020). Characterization of Entomopathogenic Fungi as a Natural Biological Control of American Cockroaches . *Periplaneta Americana*. 21(11). 44-52.DOI : <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211131>.
- Sabrini, Z., Isworo, R. & Rejeki, S.F. (2021). Aktivitas Enzimatis Biakan Kapang Aspergillus Section Nigri (Diponegoro University Culture Collection) dan Identifikasi Molekuler Isolat Potensial, *Bioma*. 23(1) : 1-5. DOI : <https://doi.org/10.14710/bioma.23.1>.
- Sedijani, P., Dewa, A.C.R., Kusmiyati., dan Riska, A.A. (2021). Aktivitas Lipopolitik Kuat Jamur Isolasi Daging Kelapa dan Alpukat pada pH dan Suhu Berbeda. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 7 : 365-369. DOI : [10.29303/jppipa.v7iSpecialIssue.1261](https://doi.org/10.29303/jppipa.v7iSpecialIssue.1261).
- Suhartono,M.C.L. (2000). *Exploration Of Indonesian Thermophiles Producing*

- Thermostable Chitinolytic Enzymes*. Bogor : Bogor Agriculture University.
- Sumardi., Vanya. Q., Christina, N.E., Salman, F. & Acmad, F. (2021). Aktivitas Enzim Hidrolase pada Penapisan Isolat Actinomycetes Kandidat Probiotik Udang. *Jurnal biologi dan Pembelajaran Biologi*, 6(1) : 24-36. DOI : 10.32528/bioma.v6i1.3548.
- Sumarlin,L.O. (2008). Aktivitas Protease dari *Bacillus circulans* pada Media Pertumbuhan dengan pH Tidak Terkontrol, *Jurnal Kimia Valensi*, 1(2) : 58-62. DOI : 10.15408.jkv.v1i2.215.
- Susanti, Elfi. (2002). Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus Subtilis* 1012M15. *Biodiversitas*. 4(1). DOI : 10.13057/biodi/d040103.
- Syafie, Yusron. (2014). Efektivitas Enzim Protease *Aspergillus sp.* pada Proses Unhairing terhadap Histologi Kulit Samak. *Jurnal Bioedukasi*, 391) : 313-317. DOI : <https://doi.org/10.33387/bioedu.v2i1.67>.
- Yusriah & Nengah.D.K. (2013). Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Protease *Penicillium sp.* *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1) : 48-50. DOI : 10.12962/j23373520.v2i1.2744
- Yusron,A., Nadila P. & Hamid A. (2021). Uji Aktivitas Enzim Protease pada Kedelai Grade C yang diperlakukan dengan Inokulum Tempe Kediri. Simposium Nasional Rapi, 10(10) : 235-242. ISSN : 2686-4274. URL: <https://proceedings.ums.ac.id/index.php/ra/pi/article/view/166/166>
- Zainuddin, M. (2017). Isolasi, Seleksi dan Identifikasi Genotipik 16 S-rRNA Bakteri Proteolitik Indogeneus dari Ekosistem Mangrove Karimunjawa Sebagai Kandidat Konsursium Probiotik untuk Bioremediasi Limbah Organik Tambak. *Akuatik Jurnal Sumberdaya Perairan*. 11(1) : 71-77. ISSN : 1978-1652. URL: <https://journal.ubb.ac.id/index.php/akuatik/article/view/218>.