Prosiding

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2014

"Inovasi Pembelajaran Kimia Abad 21 dan Perkembangan Riset Kimia"

ISBN 978-602-71446-0-6

JURUSAN KIMIA
FMIPA, UNIVERSITAS NEGERI MALANG
Jl. Semarang 5 Malang. 65145. website: kimia.um.ac.id

Perbedaan Hasil Belajar Siswa yang Dibelajarkan Menggunakan Model Pembelajaran *Think Pair Square* dan Model Pembelajaran *Think Pair Square*–Peta Konsep Pada Materi Sistem Koloid Kelas XI IPA MAN Malang 1, *Ayunda Naila Farihah, Dedek Sukarianingsih, & Habiddin* 127-133

Pengembangan Modul Berbasis Konsep Sukar dan Kesalahan Konsep pada Materi Tatanama Senyawa Biner dan Anion Poliatomik, *Angga Puspitaningrum, Fariati, & Oktavia Sulistina* 135-139

Pengembangan Buku Petunjuk Praktikum Kimia SMA/MA Kelas X Semester 2 Berbasis Learning Cycle 5E, *Eko Budi Prasetyo Nugroho , Endang Budiasih, & Dedek Sukarianingsih*..... 141-145

Perbedaan Hasil Belajar Siswa Yyang Dibelajarkan Menggunakan Model Pembelajaran LC 5E-STAD dan Model Pembelajaran LC 5E-TPS pada Materi Reaksi Redoks Kelas X MAN Malang II Batu, *Anisatul Khoiriyah, Endang Budiasih, & Dedek Sukarianingsih* 147-156

Pengembangan Media Pembelajaran Kimia Berbasis *Flash* pada Pokok Bahasan Struktur Atom untuk Siswa SMA Kelas X, *Aprilyati Susanti, Oktavia Sulistina, & Santosa* 157-162

Pengembangan Modul Stoikiometri Berdasarkan Konsep Sukar dan Kesalahan Konsep, *Rohmatul Maghfiroh, Fariati, & Oktavia Sulistina* 163-168

Pengembangan Bahan Ajar IPA-Kimia Berbasis *Learning Cycle 3-E* pada Bahan Kajian Materi dan Perubahannya untuk SMP Kelas VII Semester I Sesuai Kurikulum 2013, *Dyta Ferdiana, Parlan, & Dedek Sukarianingsih* 169-174

Analisis Kesulitan Mahasiswa pada Perkuliahan Dasar-Dasar Kimia Analitik di Universitas Negeri Malang, *Hayuni Retno Widarti, Anna Permanasari, Sri Mulyani* 175-182

Permainan *Love Chem* sebagai Alternatif Pembelajaran Kimia untuk Memperbaiki Pemahaman Siswa pada Materi Struktur Atom, *Ririn Eva Hidayati*..... 183-192

Pengembangan Bahan Ajar Ikatan Kimia Kurikulum 2013 Berbasis Inkuiri Terbimbing, *Nafisa Ema Muthaharoh, Muntholib, & Ida Bagus Suryadharma* 194-198

Pembelajaran Menggunakan Metode *Quantum Learning* dengan Strategi *Mind Mapping* pada Mata Kuliah Kimia Organik II Materi Asam Karboksilat, *Mitarlis*..... 199-205

Pengaruh Penggunaan Jurnal Metakognitif pada *Cooperative Learning Cycle 5E* (*CLC 5E*) terhadap Peningkatan Motivasi dan Hasil Belajar Siswa dalam Materi Laju Reaksi, *Istri Setyowati* 207-213

Pengembangan Media Pembelajaran Materi Pokok Hidrokarbon dengan Menggunakan Aplikasi Program *Macromedia Flash Professional 8*, *Rezky Miftahul Jannah Salam* 215-222

Perwujudan *Learning Community* dalam Pembelajaran Kooperatif Tipe STAd Pada Materi Pokok Hidrolisis untuk Melatih Tanggung Jawab Siswa, *Claudia Niken Shinta & Muchlis* 223-228

Bidang Kimia

Penentuan pH dan Konsentrasi Ninhidrin Optimum dalam Pembuatan Test Kit untuk Analisa Sianida dalam Ketela Pohon (*Manihot Utilissima*) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Hidrindantin, *Hermin Sulistyarti, Nury Kusumawardhani, Novy Lailatuz Zulfah, Yulia Dwi Cahyani, Hilda Emilia Fahriyani, & Balqis Milda*..... 229-233

Pengaruh Konsentrasi Tiosianat dan Besi(III) terhadap Kompleks Fe(III)-SCN pada Penentuan Merkuri(II) Secara Spektrofotometri, *Hermin Sulistyarti, Qonitah Fardiyah, Erwin Sulistyo, Eka Ratri, Hikmanita Lisan N, & Zuri Rismiarti* 235-238

Pengaruh Konsentrasi Iodida dan Iodat Terhadap Kompleks Iodium-Amilum pada Penentuan Merkuri(II) Secara Spektrofotometri, *Atikah, Hermin Sulistyarti, Bambang Siswoyo, Zuri Rismiarti, & Arum Candra Pinangsih*..... 239-243

Penggunaan Kitosan sebagai Anti Jamur pada Pembuatan Tepung Kentang, *Zackiyah, Asep Suryatna, & Tony Pratama* 245-251

Uji Awal untuk Skrining Fitokimia pada Tumbuhan Famili Asteraceae Indonesia, *Tukiran, Suyatno, & Nurul Hidayati* 253-259

Studi Pendahuluan Sintesis MnO_2 dengan Metode Elektrolisis, *Mahmudi, Heru Setyawan, & Samsudin Affandi* 261-264

Karakterisasi Asap Cair Hasil Pirolisis Biji Kopi Arabica, *Abdul Gani Haji, Rusman, Habibati, & Mawaddah* 265-273

Uji Potensi dan Optimasi Konsentrasi Lignoselulosa Beberapa Limbah Pertanian sebagai Sumber Karbon dalam Produksi Enzim Lignin Peroksidase oleh *Phanerochaete chrysosporium*, *Titis Ayu Windrastuti Subagyo, Evi Susanti, & Suharti* 275-281

Pengaruh pH terhadap Karakteristik Keramik $MgAl_2O_4$ sebagai Matriks Bahan Bakar Matriks Inert (IMF) yang Dibuat dengan Metode Sol Gel, *Anggun Winata, Nazriati, & Dani Gustaman Syarif* 283-289

Sintesis Nanopartikel Magnetit secara Kopresipitasi dan Konversinya menjadi Maghemit , *Meyga Evi Ferama Sari, Fauziatul Fajaroh, & Sutrisno* 291-295

Aplikasi Metode Struktur Elektronik untuk Penentuan Tetapan Kesetimbangan Disosiasi N_2O_4, *Yahmin* 297-302

Analisis Genotipe Gen *pncA* Isolat R9 *MDR Mycobacterium tuberculosis, Eli Hendrik Sanjaya* ... 303-310

Pengembangan Sensor Kimia Antioksidan Berbasis Reaagen Natrium Meta Periodat dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon untuk Kontrol Kualitas Berasan Kopi, *Agus Abdul Gani, Moch. Amrun Hidayat, Bambang Kuswandi* 311-315

Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Zink Klorida dengan 1,3-Bis(difenilfosfino)propana, *Ivonda Honora , Effendy, dan Fariati* 317-320

Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Perak Nitrit dengan Ligan Etilenatiourea, *Lutfia Ayu Darojah, Fariati, Effendy* 321-324

Sintesis Metil Ester (Biodiesel) dari CPP Offgrade Pada Skala Ganda Dengan Gelombang Ultrasonik Dengan Katalis Heterogen, Aman Santoso 325-333

Prakonsepsi Mahasiswa Baru Tentang Larutan, Ida Bagus Suryadharma, Habiddin, Oktavia Sulistina 334-337

Pengaruh Jenis Kation Divalen Dan Surfaktan Terhadap Stabilitas Protease Alkali Dari Bacillus Sp. Shinta Ludfiana Sari, Eli Hendrik Sanjaya, Suharti..... 338-344

Optimasi Produksi Protease Alkali Dari Bacillus Sp Hasil Isolasi Limbah Penyamakan Kulit' Dita Dwi Andriyani, Evi Susanti, Suharti 345-351

PENGARUH JENIS KATION DIVALEN DAN SURFAKTAN TERHADAP STABILITAS PROTEASE ALKALI DARI *Bacillus* Sp.

Shinta Ludfiana Sari, Eli Hendrik Sanjaya, Suharti.
Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang no 5, Malang 65125
E-mail : suharti.fmipa@um.ac.id

ABSTRAK

Protease alkali merupakan bioaktif penting dalam industri deterjen. *Bacillus* Sp hasil isolasi dari limbah penyamakan kulit di Sukun Malang diketahui dapat menghasilkan enzim protease alkali ekstraseluler dengan aktivitas yang cukup tinggi. Hal ini membuka peluang untuk menggunakan bakteri tersebut sebagai sumber protease alkali. Pemanfaatan protease alkali dalam industri deterjen terlebih dahulu harus melalui uji stabilitas terhadap beberapa jenis surfaktan. Disamping itu suhu dan pH optimum dari enzim tersbut juga perlu diketahui. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui: (1) pengaruh beberapa ion logam divalen (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, dan Co^{2+}) terhadap aktivitas protease alkali dan (2) pengaruh jenis surfaktan terhadap stabilitas protease alkali. Kadar tirosin hasil hidrolisis protease alkali diukur menggunakan metode Anson. Hasil bahwa logam Ca^{2+} merupakan logam penginduksi paling baik untuk protease alkali yang dihasilkan bakteri *Bacillus* Sp. Aktivitas ekstrak kasar setelah diinduksi oleh logam Ca^{2+} dengan konsentrasi 1 mM meningkat menjadi 202,36%. Aktivitas protease alkali semakin menurun dengan adanya surfaktan, tetapi surfaktan ionik berpengaruh lebih besar dibanding surfaktan nonionik. Penyimpanan selama 24 dengan surfaktan ionik sudah meniadakan seluruh aktivitas protease alkali, tetapi beberapa surfaktan nonionik pada waktu penyimpanan yang sama aktivitasnya hanya berkurang 10-50%. Protease alkali dari *Bacillus* Sp ini paling stabil di lingkungan surfaktan nonionik Tween 80.

Kata kunci : protease alkali, ion divalen, detergen, *Bacillus* Sp,

PENDAHULUAN

Protease adalah enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Berdasarkan fungsi tersebut protease banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang industri dan merupakan salah satu golongan enzim yang paling penting dalam bidang industri karena bernilai sekitar 60% dari total penjualan enzim di dunia (Rao *dkk*., 1998). Penggunaan protease dalam berbagai proses industri seperti detergen, makanan, kulit, dan sutera sangat meningkat sejalan dengan perkembangan masyarakat serta jumlah penduduk.

Suharti *dkk.* (2013) dalam penelitiannya telah berhasil mengisolasi bakteri penghasil protease ekstraseluler dari limbah pabrik kulit. Analisis fenotip menunjukkan bahwa isolat bakteri indigen tersebut merupakan *Bacillus* akan tetapi spesies dari *Bacillus* tersebut belum berhasil ditentukan sehingga untuk sementara diberi nama *Bacillus* Sp. Bakteri tersebut menghasilkan protease alkali ekstraseluler yang aktif pada pH 9. Kemampuan protease ekstraseluler tersebut dalam mendegradasi protein pada pH alkali memungkinkan enzim tersebut untuk diaplikasikan sebagai bioaktif detergen atau aplikasi lain yang memerlukan lingkungan alkali. Protease alkali yang digunakan sebagai bioaktif detergent harus tahan di lingkungan detergen. Detergen mempunya sisi hidrofilik dan hidrofobik yang dapat berinteraksi dengan protein. Interaksi tersebut dapat memperbaiki sifat protein atau sebaliknya, mendenaturasi protein. Stabilitas enzim terhadap surfaktan menjadi ukuran kelayakan enzim sebagai zat aditif pada detergen komersial. Kestabilan enzim dapat dilihat dari aktivitas katalitik ketika berada dalam lingkungan surfaktan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa protease alkali yang dihasilkan dari bakteri *Bacillus* Sp. *B001, Bacillus cereus strain CA15,* dan *Bacillus licheniformis UV-9,* lebih stabil terhadap surfaktan nonionik daripada surfaktan ionik (Deng *dkk*., 2010;Uyar *dkk.*, 2011; dan Nadeem *dkk*.,2013). Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, protease alkali dari bakteri *Bacillus* Sp diharapkan juga stabil terhadap surfaktan nonionik daripada surfaktan ionik dan dapat diaplikasikan dalam industri deterjen . Selain dilihat dari jenis surfaktan, stabilitas enzim terhadap surfaktan juga dapat dilihat dari lama waktu inkubasi enzim dengan masing-masing surfaktan. Ion logam divalen umumnya mampu mengaktivasi protease alkali, sehingga perlu diketahui jenis logam divalen dan konsentrasinya yang mampu meningkatkan aktivitas protease alkali.

METODE

Pembuatan Media

Pembuatan media meliputi pembuatan media padat, media *preculture*, dan media produksi. Pembuatan media padat digunakan sebagai media untuk meregenerasi kultur murni bakteri *Bacillus* Sp. Media produksi digunakan sebagai media untuk memproduksi bakteri. Sedangkan *preculture* dibiakkan menggunakan media produksi dengan tujuan mengadaptasikan bakteri dengan media produksi . Media yang digunakan untuk meregenerasi kultur murni bakteri *Bacillus* Sp adalah LB (*Luria Bertani*) padat dengan komposisi; susu skim 9 g; *yeast extract* 0,75 g; NaCl 1,5 g dan agarose 2,21 g dalam 150 mL akuades. Media produksi yang digunakan adalah media kedelai dengan komposisi 1 g sukrosa, 0,1 g KH_2PO_4, 0,01 g CH_3COONa, 1 g ekstrak kedelai, 0,1 mL $CaCl_2$ 0,5 M, 0,08 mL $MgSO_4$ 0,5 M, dan 100 mL akuades.

Produksi Ekstrak Kasar *Alkaline Protease* dari *Bacillus* Sp

Regenerasi kultur murni *Bacillus* Sp dilakukan secara aseptis pada media *Luria Bertani* (LB) padat dan diinkubasi pada suhu ruang (sekitar 26°C) selama dua sampai tiga hari hingga terbentuk koloni dengan zona bening disekitarnya.

Pembuatan starter dilakukan dengan cara mengambil satu ose penuh kultur murni *Bacillus* Sp yang telah diregenerasi kemudian dipindahkan dalam 10 mL media kultur awal. Media tersebut kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* pada suhu 37°C dengan aerasi pada kecepatan 100 rpm selama $\pm$ 20. Sebanyak 1% kultur awal diinokulasikan ke dalam 100 mL media produksi dan diinkubasi pada *shaker incubator* pada suhu dan kecepatan aerasi yang sama dengan hingga 5 hari. Larutan enzim ektraseluler dipisahkan dari partikel-partikel nonenzim (sel, debris sel, komponen ekstrakseluler lain dan sisa medium) dengan cara sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan selanjutnya disebut sebagai ekstrak kasar enzim yang akan digunakan untuk analisis berikutnya.

Uji Aktivitas Protease Alkali dari *Bacillus* Sp

Sebanyak masing-masing 5 mL kasein 1% yang telah dilarutkan dalam 50 mM buffer dimasukkan dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 5 menit. Kemudian sebanyak 1 mL enzim ditambahkan pada tabung berisi kasein, divortex, dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 10 menit. Reaksi enzimatis dihentikan dengan menambahkan 5 mL asam trikloroasetat (TCA) 0,11M sebanyak 5 mL. Selanjutnya ditambah dengan buffer tris-HCl sebanyak 1 mL (untuk menyamakan volume total larutan dengan larutan blanko), divortex, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40°C. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm untuk memisahkan kelebihan substrat yang tidak mengalami reaksi enzimatis. Sebanyak 2 mL supernatan hasil sentrifugasi ditambah dengan 5 mL Na_2CO_3 0,5 M dan 1 mL reagen Folin Ciocalteu kemudian dikocok hingga homogen. Larutan dibiarkan selama 30 menit pada suhu 40°C. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 660 nm. Pengujian aktivitas ini merujuk pada prosedur pengujian Sigma-Aldrich (2009).

Untuk setiap kali pengukuran, disiapkan larutan blanko. Sebanyak 5 mL kasein 1% yang telah dilarutkan dalam 50 mM buffer tris-HCl dimasukkan dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 5 menit. Buffer tris-HCl sebanyak 1 mL ditambahkan pada tabung berisi kasein, divortex, dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 10 menit. Kemudian 5 mL TCA dan 1 mL enzim ditambahkan ke tabung, divortex, dan diinkubasi selama 30 menit. Penambahan enzim dilakukan sebagai faktor koreksi terhadap sumbangan absorbansi oleh tirosin yang berasal dari enzim. Supernatan hasil sentrifugasi sebanyak 2 mL ditambah dengan 5 mL Na_2CO_3 0,5M dan 1 mL reagen Folin Ciocalteu kemudian dikocok hingga homogen. Larutan dibiarkan selama 30 menit pada suhu 40°C. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 660 nm.

Pengaruh Ion logam terhadap Aktivitas Protease Alkali

Prosedur pegaruh ion logam terhadap aktivitas protease alkali sama dengan prosedur pengujian aktivitas enzim. Perbedannya terletak pada penambahan masing-masing ion logam (Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}, Co^{2+}) pada ekstrak kasar enzim hingga konsentrasinya 0,5mM dan 1 mM sebelum ditambahkan ke dalam kasein. Pengujian ini dilakukan pada suhu dan pH optimum yaitu pH 9 dan temperatur 40°C. yang sudah ditentukan di pengujian sebelumnya. Selanjutnya aktivitas enzim masing-masing penambahan logam dibandingkan dengan aktivitas tanpa penambahan logam dan dicari logam yang mampu sebagai penginduksi aktivitas tertinggi untuk digunakan dalam percobaan selanjutnya.

Uji Stabilitas Protease Alkali terhadap Surfaktan

Penentuan ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas protease alkali terhadap pengaruh surfaktan. Jenis surfaktan yang digunakan adalah surfakatan ionik menggunakan sodium dodesil sulfat (SDS), dan surfaktan nonionik menggunakan Tween 80, Tween 20, dan Triton X-100. Pada penentuan stabilitas diawali dengan pengujian pengaruh surfaktan pada aktifitas enzim pada dua konsentrasi surfaktan yaitu 0,5% dan 1%, kemudian stabilitasnya terhadap surfaktan ionik dan nonionik diuji dengan variasi waktu 24 jam dan 48 jam sedangkan dan suhu 4 ^{o}C dan suhu optimum aktifitas enzim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

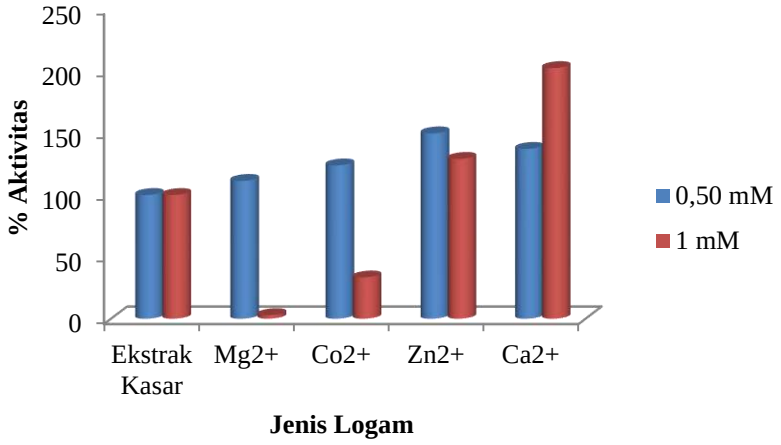
Produksi Ekstrak Kasar Protease Alkali

Hasil peremajaan bakteri menujukkan adanya zona bening setelah 2 hari sebagai indikasi adanya aktifitas protease ektraseluler (Gambar 1). Produksi enzim dengan media produksi dengan aktifitas optimum memerlukan waktu selama 5 hari, kecepatan aerasi 100 rpm, dan suhu 37°C sesuai dengan waktu yang telah dilaporkan Suharti dkk (2013). Enzim dipisahkan dari sel dan debris sel dengan cara sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit pad 4°C. Ekstrak kasar selanjutnya digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Gambar 1 Hasil Peremajaan Bakteri *Bacillus* Sp

Pengaruh Penambahan Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim

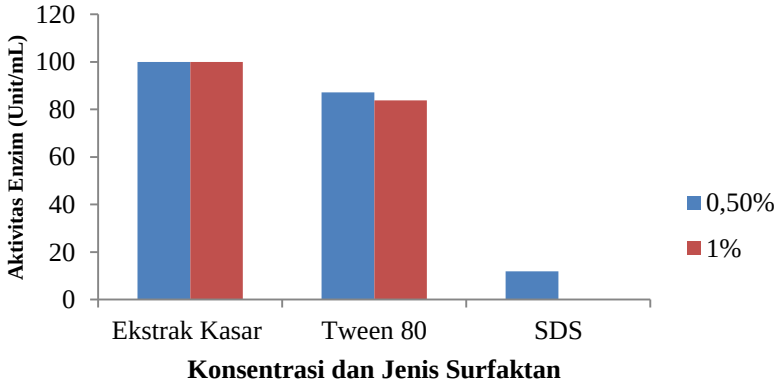
Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 2, menunjukkan bahwa ion logam yang bertindak sebagai kofaktor adalah ion logam Ca^{2+}. Terlihat pada konsentrasi 0,5 mM ion Ca^{2+} sudah mampu meningkatkan aktivitas protease alkali dari menjadi 137,24 %. Selanjutnya pada konsentrasi yang lebih besar yaitu 5 mM, ion Ca^{2+} mampu meningkatkan aktivitas protease alkali menjadi 202,36% (2 kali lipat). Ion Ca^{2+} telah diketahui mampu menginduksi dan menstabilkan folding alkaline protease dari *Pseudomonas Aeruginoas*, (Zhang, 2012) dan meningkatkan aktivitas dari alkaline protease dari *Bacillus liceniformis* (Bezawada, 2011), Bacillus altitudinis GVC11 (Vijai Kumar, 2011) and Bacillus pumilus (Wan, 2009). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Soda (2013), dimana aktivitas enzim pada penambahan ion logam konsentrasi 1 mM lebih besar daripada penambahan 0,5 mM. Ikatan kofaktor dengan enzim dapat mengubah kemampuan enzim dalam mengikat substrat dan mengubah kemampuan katalisasi enzim.



Gambar 4. Grafik Pengaruh Jenis Ion Logamterhadap Aktivitas

Pengaruh Surfaktan terhadap Stabilitas Enzim

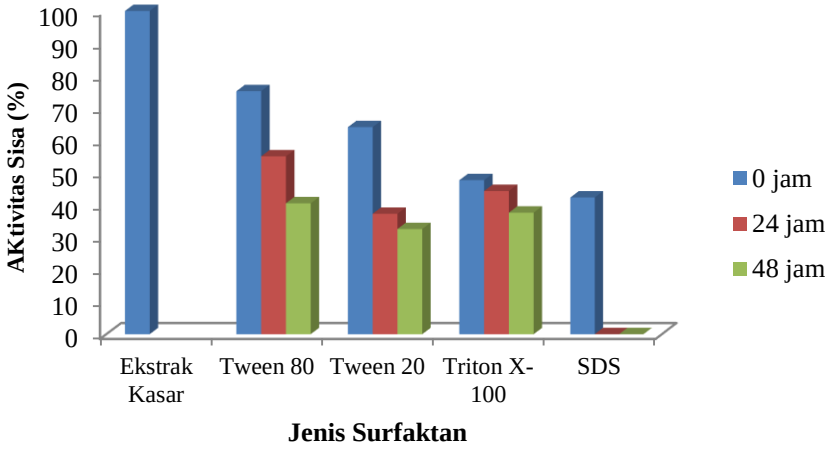
Aktivitas enzim pada temperatur kamar setelah penambahan surfaktan 0,5% SDS hanya tersisa sebesar ±11,86 % sedangkan penambahan Tween 80 pada konsentrasi yang sama menyisakan aktivitas sebesar ±87,17% (Gambar 3). Aktivitas diukur setalah 15 menit waktu inkubasi. Sedangkan penambahan 1% Tween 80 menyisakan aktivitas sebesar 83,74% dan penambahan 1% SDS mendeaktifkan semua enzim. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan surfaktan dengan konsentrasi 0,5% menyisakan aktivitas lebih tinggi daripada penambahan surfaktan dengan konsentrasi 1%. Dapat disimpulkan bahwa dengan semakin besarnya konsentrasi surfaktan yang ditambahkan pada enzim, maka aktivitas enzim akan semakin menurun. Perbedaan jenis surfaktan ternyata menyebabkan penurunan aktifitas yang berbeda, dimana surfaktan ionik menurunkan aktivitas enzim jauh lebih besar dibandingkan dengan surfaktan nonionik pada konsentrasi yang sama.



Gambar 3. Grafik Pengaruh Konsentrasi dan Jenis Surfaktan terhadap Aktivitas Enzim

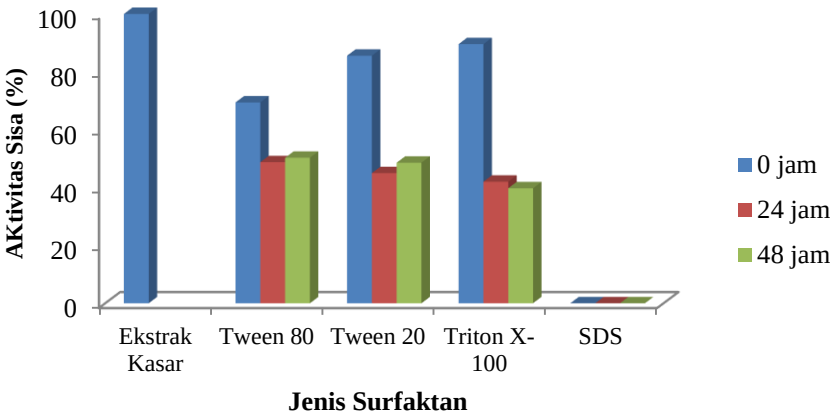
Gambar 4 menggambarkan stabilitas enzim terhadap penambahan masing-masing surfaktan pada suhu 4ºC. Pada penambahan 0,5 % Tween 80 aktivitas yang tersisa 75,19%. Aktivitas diukur setalah 15 menit waktu inkubasi. Aktivitas enzim semakin turun pada penyimpanan yang lebih lama pada 4ºC, dimana aktivitas yang tersisa berturut-turut menjadi 55,01 dan 40,50% pada waktu penyimpanan 24 dan 48 jam. Sedangkan setelah penambahan Tween 20 aktivitas yang tersisa 64,05% selang waktu 15 menit setalah penambahan dan aktivitas yang tersisa berturut-turut menjadi 37,25 dan 32,52 % setelah penyimpanan selama 24 dan 48 jam. Untuk penambahan Triton X-100 terhadap ekstrak kasar, aktivitas yang tersisa 47,65% setelah inukbasi selama 15 menit pada 4ºC, setelah 24 dan 48 jam aktivitas

aktivitas yang tersisa berturut-turut menjadi 44,29 dan 37,67%. SDS memberikan efek yang paling buruk, aktivitas enzim yang tersisa 15 menit setelah penambahan SDS adalah 42,29%, penyimpanan setelah waktu 24 dan 48 jam semua aktivitasnya hilang. Pada suhu 4°, penambahan Tween 80 lebih baik dari padi surfaktan lain yang diuji pada percobaan ini, akan tetapi penggunaan yang lebih lama 24-48 jam, Triton X-100 lebih baik digunakan karena memberikan kestabilan yang lebih baik terhadap enzim.



Gambar 4. Grafik Pengaruh 0,5 % Surfaktan terhadap Stabilitas Enzim pada Suhu 4°C

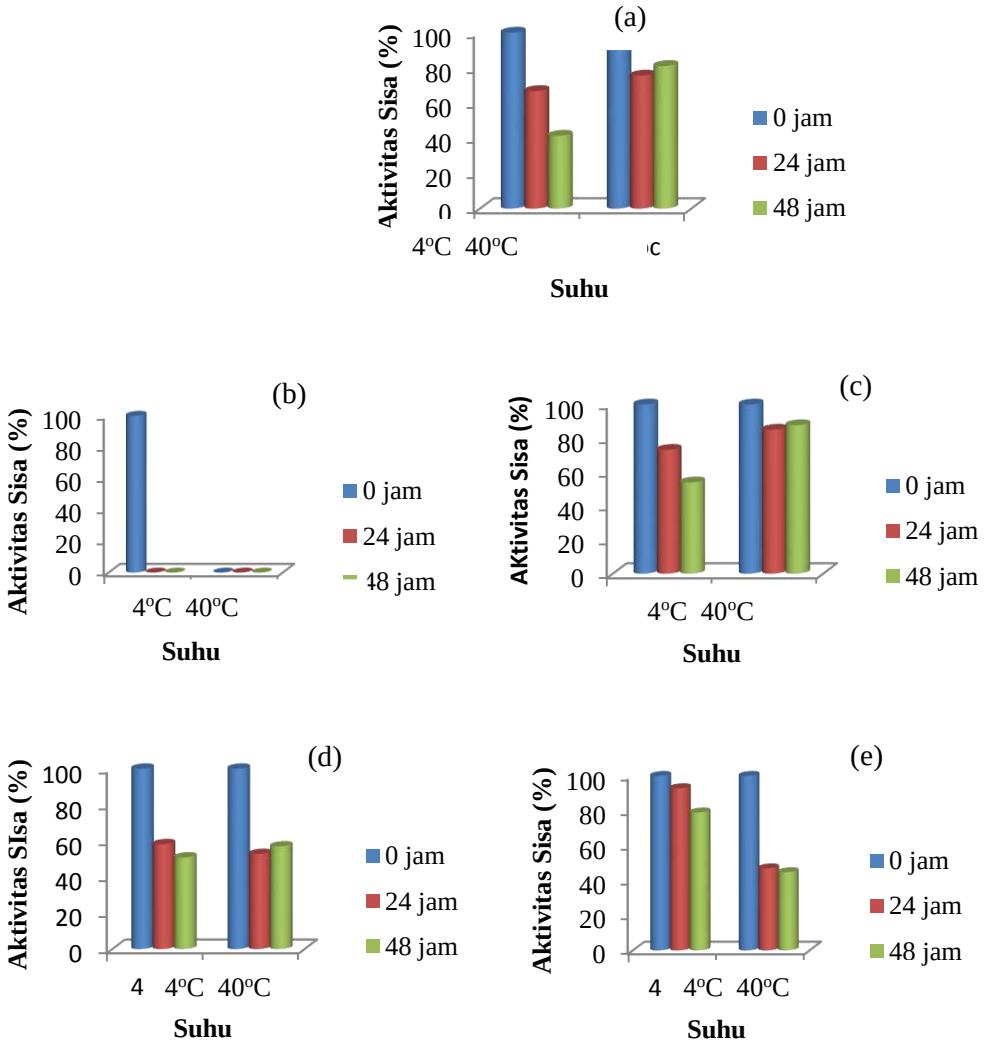
Gambar 5 menggambarkan stabilitas enzim terhadap penambahan masing-masing surfaktan pada suhu 40°C dan waktu penyimpanan selama 24 dan 48 jam pada suhu 40°C. Pengukuran pertama dilakukan setelah inkubasi selama 15 menit. Pada penambahan Tween 80 aktivitas yang tersisa adalah 69,50%, setelah 24 dan 48 jam aktivitas yang tersisa sebesar 48,92 dan 50,44%. Sedangkan setelah penambahan Tween 20 aktivitas yang tersisa 85,61%, setelah 24 dan 48 jam aktivitas yang tersisa sebesar 45,11 dan 48,73 %. Untuk penambahan Triton X-100 terhadap ekstrak kasar, aktivitas yang tersisa 89,61%, setelah 24 dan 48 jam aktivitas yang tersisa sebesar 42,15 dan 39,86%. Pada penambahan SDS tidak ada aktivitas dari awal surfaktan ditambahkan dalam ekstrak kasar. Dilihat dari hasil tersebut enzim paling stabil pada linkungan Tween 80.



Gambar 5. Grafik Pengaruh Surfaktan terhadap Stabilitas Enzim padaSuhu 40°C

Pada Gambar 6 (a) dapat dilihat perbedaan aktivitas enzim di dua suhu yang berbeda dan aktivitas enzim setelah penyimpanan 48 jam. Ekstrak kasar yang disimpan pada suhu 4°C setelah 24 jam aktivitas yang tersisa 66,91 % dan setelah 48 jam aktivitas yang tersisa 41,55 %. Sedangkan ekstrak kasar yang disimpan pada suhu 40°C setelah 24 jam aktivitas yang tersisa 75,69% dan setelah 48 jam aktivitas yang tersisa 81,13%. Dapat dilihat dari data tersebut bahwa semakin lama waktu penyimpanan, maka semakin turun juga aktivitasnya. Penurunan aktivitas protease dimungkinkan karena adanya proses hidrolisis oleh sesama enzim protease.

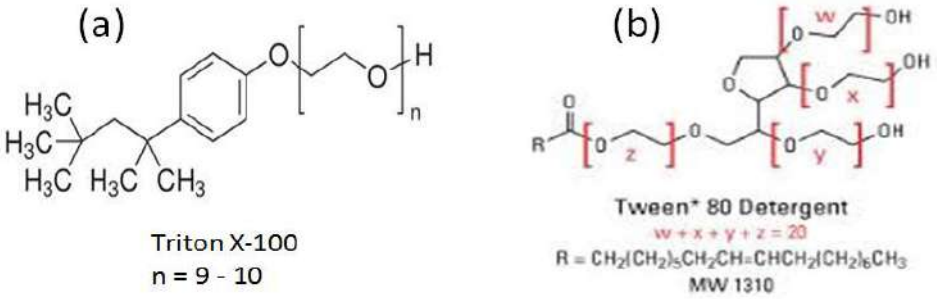
Pada Gambar 6 (b) aktivitas dari ekstrak kasar dibawah lingkungkan 0,5 % SDS pada dua suhu menunjukkan bahwa enzim tidak stabil saat ditambah SDS baik di suhu 40ºC maupun suhu 4ºC. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa hampir seluruh protease alkali memiliki aktivitas dan stabilitas yang rendah terhadap surfaktan ionik seperti SDS dan agen pengoksidasi seperti H_2O_2 (Joo *dkk.*, 2003). Gambar 6 (c) menunjukkan aktivitas ekstrak kasar dibawah lingkungan Tween 80 pada dua kondisi suhu. Berdasarkan gambar tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar dengan Tween 80 lebih baik diinkubasi pada suhu 40ºC daripada disimpan pada suhu 4ºC. Gambar 6 (d) adalah aktivitas dari ekstrak kasar dengan Tween 20 pada dua kondisi suhu yang menunjukkan penurunan aktivitas pada kedua suhu tersebut hampir sama, dimana penurunannya sekitar 50%. Melihat Gambar 6 (e), aktivitas dari ekstrak kasar dibawah lingkungan Triton X-100 pada dua suhu menunjukkan penurunan pada suhu 4ºC lebih sedikit dibandingkan dengan pada suhu 40ºC. Pada suhu 4ºC aktivitas enzim setelah 48 jam semakin menurun, tetapi pada suhu 40ºC setelah 24 dan 48 jam aktivitasnya cenderung stabil. Ekstrak kasar Triton X-100 ini lebih baik disimpan pada suhu 4ºC dan tidak maksimal jika diaplikasikan pada industri deterjen.



Gambar 6. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim (EK) (a) EK (b) EK+SDS (c) EK+Tween 80 (c) EK+Tween 20 (d) EK+Triton X100

Tanpa adanya surfaktan, selam penyimpanan selama 48 jam hanya kehilangan aktivitas hampir 19 %, sedangkan detergen yang paling sedikit menganggu kestabilan enzim pada 4ºC adalah Triton X-100 sedangkan pada suhu 40ºC adalah Tween 80. Tween 80 memiliki rantai yang lebih banyak dan rantai yang lebih panjang dibandingkan Triton X-100 (Gambar 7). Fenomena ini sulit dijelaskan. Hal yang dapat dipikirkan emungkinkan stabilitas misel pada suhu 40ºC antara protease dan Tween 80 lebih baik dibanding misel antar protein dengan Triton X-100. Triton X lebih hidrofobik dibandingkan dengan Tween 80, sehingga pada temperatur tinggi dapat menginduksi lebih kuta terjadi denaturasi

protease alkali dibandingkan tween 80. Fenomena yang terjadi pada temperatur rendah perlu diteliti dan dipikirkan lebih jauh. Pencucian menggunakan deterjen umumnya dilakukan pada temperatur kamar atau 40-50 ^{o}C.



Gambar 7. Struktur (a) Triton X-100 dan (b) Tween 80

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan logam Ca^{2+} merupakan logam penginduksi paling baik untuk alkali protease yang dihasilkan bakteri *Bacillus brevis*. Aktivitas ekstrak kasar setelah diinduksi oleh logam Ca^{2+} dengan konsentrasi 1 mM meningkat menjadi 202,36%. Aktivitas protease alkali semakin menurun dengan adanya surfaktan, tetapi surfaktan ionik berpengaruh lebih besar dibanding surfaktan nonionik. Setelah disimpan 24 jam surfaktan ionik sudah mampu meniadakan aktivitas protease alkali, tetapi surfaktan nonionik pada waktu penyimpanan yang sama aktivitasnya hanya berkurang 10-50%. Protease alkali dari *Bacillus* Sp ini secara umum paling stabil di lingkungan surfaktan nonionik Tween 80. Pengujian dengan surfaktan lain, reduktor dan oksidator perlu dilakukan untuk memperluas pengetahuan tentang protease alkali dari *Bacillus* Sp. Sebelum digunakan untuk bahan bioaktig

DAFTAR RUJUKAN

1. Deng, A., Wua, J., Zhang, Y., Zhang, G., & Wen, T. 2010. Purification and Characterization of a Surfactant-Stable High-Alkaline Protease from *Bacillus* sp. B001. *Bioresource Technology*, 101: 7100-7106.
2. Nadeem, M., Qazi, J. I., Syed, Q., & Gulsher, M. 2013. Purification and Characterization of an Alkaline Protease from *Bacillus licheniformis* UV-9 for Detergent Formulations. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 35 (2) : 187-195.
3. Joo, H. S., Kumar, C. G., Park, G. C., Paik, S. R., & Chang, C. S. 2003. Oxidant and SDS-Stable Alkaline Protease from *Bacillus clausii* I-52: Production and Some Properties. *Journal Applied of Microbiology*, 95: 267-272.
4. PelczarM. J. Jr. &Chan,E. C. S.1986.*Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan R.S. Hadioetomo, T. Imas dan S.L. Angka dari Elements of Microbiology (1976). Jakarta:Penerbit Universitas Indonesia.
5. Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*.,62 (3): 597.
6. Sigma Aldrich. *Enzymatic Assay of Protease Using Casein as a Substrate*. (Online), (http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-protease-casein-as-a-substrate.html), diakses 14 Mei 2014.
7. Soda, F., N. & Agustini, R. 2013. Pengaruh Penambahan Ion Logam K^{+} terhadap Aktivitas Enzim Papain. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(2).
8. Suharti, Wonoraharjo, S., & Susanti, E. 2013. *Eksplorasi, Karakterisasi, dan Pemanfaatan Alkaline Protease dari Mikroba sebagai Bioaktif Deterjen*. Malang : Kimia FMIPA UM.
9. Uyar, F., Porsuk, I., Kizil, G., & Yilmaz, E. I. 2011. Optimal Conditions for Produstion of Extracellular Protease from Newly Isolated *Bacillus cereus* strain CA15. *EurAsian Journal of BioSciences*, 5:1-9.
10. Vijay Kumar, E., Srijana, M., Harikrishna, N. & Reddy, G. 2011. A novel serine alkaline protease from Bacillus altitudinis GVC11 and its application as a dehairing agent. *Bioprocess Biosyst Eng*, 34 : 403-409.
11. Zhang, L., Conway, J. F. & Thibodeau, P. H. 2012. Calcium-induced folding and stabilization of the Pseudomonas aeruginosa alkaline protease. *Journal of Biological Chemistry*, 287 : 4311-4322