

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Enzim Protease**

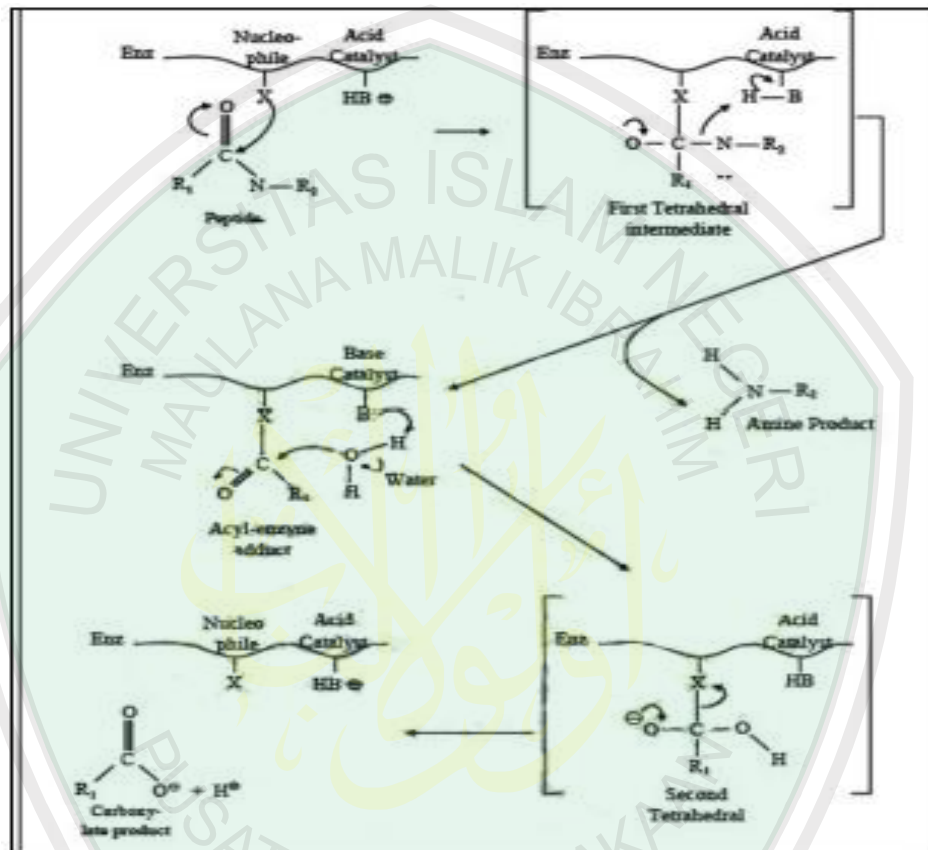
Enzim merupakan golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai biokatalisator pada reaksi-reaksi biokimia (Lehninger, 1997). Salah satu enzim yang berperan di dalam industri adalah enzim protease karena enzim ini banyak digunakan baik untuk pangan maupun non pangan (Stanbury and Whitaker, 1984).

Protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein. Enzim ini akan mengkatalisis reaksi-reaksi hidrolisis, yaitu reaksi yang melibatkan unsur air pada ikatan spesifik substrat. Protease merupakan enzim yang sangat kompleks, mempunyai sifat fisika-kimia dan sifat-sifat katalitik yang sangat bervariasi, enzim ini dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme dan mempunyai peranan yang sangat penting dalam metabolisme sel dan keteraturan dalam sel (Ward, 1983).

Protease adalah enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada molekul protein yang menghasilkan peptida atau asam amino. Protein terdiri atas molekul asam amino yang bervariasi jumlahnya, berkisar antara 10 sampai ribuan yang berfungsi sebagai unit penyusun polimer protein yang terangkai melalui ikatan peptida. Protein yang memiliki lebih dari 10 asam amino disebut polipeptida, sedangkan istilah protein ditujukan bagi polimer asam amino dengan jumlah di atas 100 (Suhartono, 1989).

Protease berperan dalam sejumlah reaksi biokimia seluler. Selain diperlukan untuk degradasi protein nutrisi, enzim protease terlibat dalam

sejumlah mekanisme patogenisitas, proses koagulasi darah, proses sporulasi, diferensiasi, sejumlah proses pasca translasi protein dan mekanisme ekspresi protein ekstraseluler (Rao, *dkk.*, 1998).



Gambar 1. Mekanisme Umum Hidrolisis Enzimatis Substrat Peptida (Moran, *dkk.*, 1984)

Berdasarkan cara kerjanya, Palmer (1981) membagi menjadi dua, yaitu 1) proteolisis terbatas, yang memecah hanya satu atau beberapa ikatan peptida tertentu dari sebuah protein target. Contohnya adalah perubahan prohormon menjadi hormon. 2) Proteolisis tak terbatas, yaitu mendegradasi protein menjadi asam amino penyusunnya. Dilihat dari letak pemutusan ikatan peptida, protease dibedakan menjadi endopeptidase atau proteinase (EC 3.4.21-99) dan

eksopeptidase (EC 3.4.11-21). Endopeptidase memutuskan ikatan peptida yang berada di dalam rantai protein sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida, sedangkan eksopeptidase menguraikan protein dari ujung rantai sehingga dihasilkan satu asam amino dan sisa peptida.

Eksoprotease memecah protein dari ujung rantai polipeptida baik dari ujung amino atau karboksi substrat sehingga menghasilkan asam amino dan sisa peptida sedangkan endoprotease memotong ikatan polipeptida protein pada bagian dalam sehingga menghasilkan sejumlah peptida. Kedua golongan protease tersebut masing-masing dapat dipilah lebih lanjut berdasarkan spesifisitas substratnya. Eksopeptidase yang memotong rantai polipeptida dari ujung karboksil bebas disebut sebagai karboksipeptidase dan yang memotong dari ujung asam amino dikenal sebagai aminopeptidase. Protease juga mampu menghidrolisis protein yang pada ujung amino atau karboksi diganti dengan pteroil atau gugus asil, protease ini dikelompokkan sebagai peptidase omega. Penggolongan endopeptidase lebih kompleks dibandingkan eksopeptidase. Keunikan pemotongan endopeptidase sangat khas pada masing-masing jenis endopeptidase. Sebagian endopeptidase memotong ikatan peptida berdasarkan jenis asam amino tertentu pada atau yang berdekatan dengan situs pemotongan, sebagian enzim memotong ikatan polipeptida secara acak (Ward, 1983).



Protease serin merupakan endopeptidase. Golongan protease serin memiliki asam amino serin pada sisi katalitik. Jika asam amino serin ini dimodifikasi dengan memfosforilasi gugus  $-OH$  asam amino serin tersebut maka aktivitas enzimatis akan lenyap (Sadikin, 2002). Golongan ini terdiri dari dua kelompok yang berbeda. Kelompok kimotripsin yang meliputi enzim-enzim mamalia dan kelompok subtilisin yang meliputi enzim bakteri. Struktur dari kedua kelompok ini berbeda tetapi memiliki geometri sisi aktif yang sama (Ward, 1985). Contoh protease serin adalah tripsin, kimotripsin dan elastase (Fersht, 1985).

Protease sistein, sifat katalitik kelompok enzim ini ditentukan oleh asam amino sistein. Enzim ini tidak akan hilang aktivitasnya dengan fosforilasi tetapi akan hilang kemampuan katalitiknya dengan alkilasi. Contoh enzim ini adalah bromelin, papain dan katepin (Sadikin, 2002). Protease jenis ini mempunyai aktivitas optimal pada pH netral, dan sangat dipengaruhi oleh logam pengkelat. Protease sistein dibagi menjadi dua golongan berdasarkan spesifitasnya. Klostipain, yang dihasilkan oleh *Clostridium histolyticum* menunjukkan spesifitas yang kuat terhadap asam amino utama karboksil pada situs pemutusan, sedangkan protease streptokal memperlihatkan spesifitas terhadap substrat-substrat sintetik dari insulin peroksida (Ward, 1985).

Protease aspartat, enzim ini memiliki urutan asam amino yang kaya akan aspartat dan glutamat. Asam aspartat diperlukan keberadaannya ditempat interaksi dengan molekul. Jika aspartat di tempat tersebut diubah menjadi amida maka sifat katalitik enzim akan hilang. Protease aspartat sering disebut juga protease karboksil, karena memerlukan gugus karboksil bebas dalam residu asam amino

tertentu yang ada di bagian enzim tersebut berinteraksi dengan protein substrat dan memecahnya. Banyaknya asam amino asam ini juga menerangkan, mengapa protease golongan ini bekerja pada pH rendah (Sadikin, 2002), yaitu berkisar antara 2-6 dan memiliki titik isolistrik pada selang pH 3-5. Contoh enzim ini adalah kelompok pepsin yang meliputi enzim-enzim pencernaan seperti pepsin, kimosin dan renin (Ward,1985).

Protease logam atau metaloprotease, memerlukan adanya logam untuk aktivitasnya. Enzim ini berperan penting dalam sel-sel fagosit, seperti leukosit dan makrofag. Enzim ini berperan penting dalam perusakan rawan sendi dalam penyakit-penyakit sendi (Sadikin, 2002). Kelompok metaloprotease Zn, merupakan salah satu kelompok protease yang sering ditemukan pada bakteri dan jamur (Ferdian, 2006).

Protease merupakan satu diantara tiga kelompok enzim komersial yang diperdagangkan dengan nilai mencapai 60% total penjualan enzim yang aplikasinya sebagai katalisator hayati, digunakan di dalam industri pangan, detergen dan kulit (Suhartono, 2000). Protease memegang peran utama didalam banyak fungsi hayati, mulai dari tingkat sel, organ sampai organisme, yaitu dalam melangsungkan reaksi metabolisme, fungsi regulasi dan reaksi-reaksi yang menghasilkan sistem berantai (*cascade*) untuk menjaga normal homeostatis maupun kondisi patofisiologis abnormal serta proses kematian sel terencana (Rao dkk., 1998).

Pasar yang luas dan sumber daya alam yang mendukung merupakan peluang berharga bagi pengembangan industri enzim di Indonesia. Di Indonesia

kebutuhan akan enzim protease semakin meningkat, namun kebutuhan ini masih tergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap impor tersebut adalah dengan mengupayakan untuk memproduksi enzim protease dengan mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya hayati yang dimiliki oleh Indonesia (Suhartono, 2000).

Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme. Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim, khususnya protease mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek, serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Thomas, 1984). Keunggulan lainnya adalah mikroorganisme dapat hidup dan berkembang biak dalam media limbah pertanian yang relatif lebih murah. Adanya mikroorganisme unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim (Stanbury dan Whitaker, 1984).

Keberadaan enzim merupakan sebuah fenomena alam yang menunjukkan tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi manusia yang mau berfikir. Dalam surat Al- Baqarah ayat 164, Allah berfirman:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi

*manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. Al- Baqarah: 164).*

Tanda kebesaran Allah juga di jelaskan dalam Al-Quran surat Al- Hijr ayat 20 yang berbunyi:

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَّسْتُ لَهُمْ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: “Dan kami Telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya” ( QS. Al- Hijr: 20).

Kedua ayat tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu yang Allah turunkan ke bumi merupakan pembuktian keberadaan sang Pencipta. Berdasarkan ayat diatas Allah telah menyediakan segala sesuatu termasuk enzim untuk meringankan beban manusia dalam memenuhi kebutuhan hidupnya.

Sebagian besar enzim mikroba yang dihasilkan secara komersial adalah enzim ekstraseluler yang diproduksi di dalam sel dan dikeluarkan ke cairan lingkungan sekitar tempat sel tersebut tumbuh (Olajuyigbe dan Ajele, 2005). Fowler (1988) mengatakan bahwa penggunaan mikroba lebih menguntungkan dibandingkan dengan hewan dan tanaman yang membutuhkan proses penghancuran sel untuk mendapatkan enzim yang diinginkan. Contoh mikroba yang aman untuk pangan adalah *Aspergillus niger*, *A. Oryzae*, *A. Awamori*, *Mucor miehei*, *Bacillus spp*, *B. Licheniformis* dan *Saccharomyces cerevisiae* (Nagodawithana dan Reed, 1993). Galur-galur spesies tersebut telah digunakan

bertahun-tahun dalam industri, bahkan telah dilakukan mutasi dan seleksi untuk mendapatkan enzim yang lebih baik (Chaplin dan Bucke, 1990).

Efektivitas kerja protease terhadap suatu protein ditentukan oleh struktur protein itu sendiri. Hal ini mempengaruhi kerentanan suatu protein terhadap hidrolisis oleh suatu protease. Struktur tersebut terdiri atas: 1) struktur primer, yaitu deret asam amino pada protein, 2) struktur sekunder (derajat pembentukan struktur sulur alfa dan beta, serta struktur acak, 3) struktur tersier, interaksi antar gugus alkil (R) satu sama lain, yaitu interaksi hidrofobik, ionik, ikatan hidrogen, gaya dispersi van der Waals dan jembatan disulfida, 4) struktur kuaterner merupakan asosiasi antar subunit molekul protein. Protease memecah ikatan peptida dengan bantuan molekul air (Suhartono, 1989).

Menurut Fowler (1988), berdasarkan kelebihan-kelebihan di atas, terdapat 12 jenis enzim yang digunakan dalam skala besar secara komersial, yaitu enzim  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase, glukoamilase, invertase, protease (kapang dan bakteri), pankreatin, rennin, pepsin, papain, lipase, glukosa isomerase, glukosa oksidase dan pektinase.

## **2.2 Aplikasi Enzim Protease**

Enzim protease merupakan enzim yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi pemecahan molekul protein dengan cara hidrolisis (Lay dan Sugyo, 1992). Protease merupakan enzim penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena penggunaannya sangat luas. Enzim ini memainkan peranan yang penting pada industri makanan, misalnya dalam proses konversi susu menjadi keju, sebagai bahan pada deterjen maupun pada pemrosesan kulit (Saefudin, 2006). Oleh karena

itu, tidak mengherankan apabila protease yang digunakan mencapai 60% dari total enzim yang diperjualbelikan di seluruh dunia (Ward, 1985). Nilai perdagangan enzim dunia mencapai 3-4 miliar dolar per tahun, 4-5 juta dolar di antaranya dari pasar Indonesia yang keseluruhannya diimpor dari negara-negara produsen enzim (Rajasa, 2003).

Peranan enzim dalam kehidupan sudah diterangkan dalam hadis yang berbunyi:

حدثنا هشام بن عمار حدثنا صدقه بن خالد حدثنا زيد بن واقد عن خالد بن عبد الله بن حسين عن ابي هريره قل علمت ان رسول الله صلي الله عليه وسلم كان يصوم فتحنيت فطره بنبيد صنعته في دناء ثم اثيته نه فاءذا هو ينش فقال اضرب بهذا الحائط فاعن هذا شراب من لا يو من با الله واليوم الاخر

Artinya: “Telah menceritakan kepada kami hisyam bin ‘ammar telah menceritakan kepada kami shadaqah bin khalid telah menceritakan kepada kami zaid bin waqid dari halid bin husain dari abu hurairah, ia berkata “ aku mengetahui bahwa rasullah Shallallahu ‘alaihi wasallam berpuasa, maka aku menunggu waktu berbukanya beliau dengan menyiapkan perasan nabadz yang aku buat dalam ad dubba (bejana yang terbuat dari labu kering), ternyata minuman tersebut telah mendidih. Beliau bersabda: “ Buanglah ke belakang dinding ini! Sebab ini adalah minuman orang yang tidak beriman kepada Allah dan hari akhir.”( H.R Abu Daud).

Hadis di atas menjelaskan bagaimana nabi melarang umatnya untuk meminum perasan buah anggur yang telah mengalami proses fermentasi menjadi etanol sedangkan gelembung gas yang dihasilkan adalah proses respirasi dari mikroba anaerobik yang mengubah glukosa dalam perasan anggur menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> oleh bantuan enzim. Pada tahun 1897, Buchcer bersaudara melalui penelitiannya “ cel-free extract” menemukan bahwa proses fermentasi juga dapat terjadi tanpa adanya sel hidup asalkan terdapat enzim (Purwoko, 2007).

Protease dihasilkan dari tiga sumber utama, yaitu tanaman, hewan dan mikroba. Enzim papain, bromelain dan fisin merupakan protease yang dihasilkan

dari tanaman, sedangkan tripsin, kimotripsin dan renin merupakan protease yang dihasilkan dari hewan. Kelemahan tanaman sebagai sumber protease adalah kesulitan untuk melakukan ekstraksi enzim secara efisien karena membutuhkan peralatan berat untuk menghancurkan jaringan tanaman yang besar dan keras (Fowler, 1988). Selain itu pertumbuhan tanaman terlalu lama untuk produksi enzim dalam skala besar. Produksi protease dari hewan pun sangat terbatas, membutuhkan jumlah hewan yang besar dan biaya yang besar karena proses ekstraksi enzim dari jaringan hewan sulit dilakukan (Taylor dan Leach, 1995). Enzim dari hewan yang paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah kimosin, yaitu pada industri keju, sedangkan enzim tanaman yang paling banyak digunakan dalam industri pangan adalah papain dan bromelin. Pada tahun 1950-1960, pemanfaatan enzim dari hewan dan tanaman mulai digantikan oleh enzim mikrobial (Nagodawithana dan Reed, 1993).

Menurut Hodgson (1994), protease menduduki peringkat pertama sebagai enzim yang dipergunakan dalam industri. Industri menyerap sekitar 30-35 % dari total enzim yang ada. Berikut ini tabel yang menyatakan pangsa pasar enzim :

Tabel 2. Pangsa pasar enzim (Hodgson, 1994).

| No | Jenis Enzim                 | Persentase |
|----|-----------------------------|------------|
| 1. | Protease                    | 30-35 %    |
| 2. | Amilase ( <i>Bacillus</i> ) | 10-12 %    |
| 3. | Renet (Calf)                | 1-12 %     |
| 4. | Glokoamilase                | 8-10 %     |
| 5. | Glukose isomerase           | 5-7 %      |
| 6. | Papain, bromelin            | 4-6 %      |

Lanjutan Tabel 2

| No  | Jenis Enzim        | Persentase |
|-----|--------------------|------------|
| 7.  | Pectinase          | 4-5 %      |
| 8.  | Pacreatin, tripsin | 2-4 %      |
| 9.  | Renet (mikrobia)   | 2-4 %      |
| 10. | Lipase             | 2-3 %      |
| 11. | Lain-lain          | 5-10 %     |

Aplikasi protease mikroorganisme di dalam industri sudah sangat luas. Baik industri pangan maupun non pangan. Penggunaan di dalam industri non pangan yaitu pada industri detergen dan industri kulit. Di dalam industri pangan, digunakan pada industri roti, industri keju, industri daging, industri bir dan industri protein hidrolisat (Ward, 1983).

#### 1. Industri detergen

Enzim yang diaplikasikan pada detergen harus memiliki karakteristik yang mendukung seperti pH basa, stabilitas suhu yang baik, ketahanan terhadap senyawa pengoksidasi dan pengikat, serta memiliki spesifitas yang luas (Ward, 1983).

#### 2. Industri kulit

Enzim protease ditambahkan untuk membantu membebaskan bulu-bulu pada kulit dan melangsungkan hidrolisis sebagian protein untuk melunakkan kulit. Penambahan protease juga mengurangi kebutuhan akan pereaksi sulfida, sehingga mengurangi limbah bersulfur dan mengurangi biaya untuk pengolahan limbah. Disamping itu juga pemakaian enzim

protease dapat mempercepat waktu proses penghilangan bulu (Suhartono, 1989).

### 3. Industri kue dan roti

Protease akan mengubah sifat-sifat viskoelastik adonan dengan menghidrolisis ikatan peptida pada interior gluten sehingga mempersingkat waktu pengembangan gluten. Enzim protease juga akan membebaskan asam amino dari gluten yang akan bereaksi dengan gula selama pembakaran roti sehingga menimbulkan aroma dan warna yang diinginkan (Suhartono, 1989).

### 4. Industri keju

Protease ini digunakan untuk menggumpalkan susu pada industri keju. Protease renin dari anak sapi telah mulai digantikan oleh *Endothia*, *Mucor pusillus* dan *Mucor meithei*. (Suhartono, 1989).

### 5. Industri bir

Pada proses pembuatan bir, enzim protease ditambahkan untuk mendegradasi komponen protein penyebab kekeruhan, sehingga akan meningkatkan mutu produk (Suhartono, 1989).

### 6. Industri protein hidrolisat

Penggunaan protease dalam hal ini bertujuan untuk menghasilkan produk hidrolisis dari protein nabati, hidrolisis protein ikan, dan daging. Adanya beberapa kelemahan dalam pembuatan protein hidrolisat dengan asam dan basa membawa pada suatu alternatif lain yang dinilai cukup baik, yaitu pembuatan protein hidrolisat secara enzimatis. Proses

netralisasi yang dilakukan pada pembuatan protein hidrolisat dengan asam akan menghasilkan kadar garam yang tinggi, sedangkan dengan penambahan basa menyebabkan kerusakan pada asam amino sistein, arginin, dan lisin. Berbeda dari hidrolisis oleh asam dan basa, hidrolisis enzimatis tidak akan memisahkan gugus fungsional lain yang melekat pada protein selain asam amino (Suhartono, 1989).

#### 7. Industri daging

Penggunaan enzim protease pada industri daging bertujuan untuk melunakkan daging. Cara kerja enzim ini yaitu dengan menghidrolisis serabut otot, elastin dan kolagen (Winarno, 1983).

#### 2.3 *Bacillus mycoides*

Islam tidak hanya mengkaji makhluk hidup yang terlihat oleh mata telanjang tetapi juga mengkaji makhluk hidup yang tidak terlihat oleh mata telanjang seperti bakteri. Allah berfirman dalam Al Quran surat Al - Baqarah ayat 26:

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۖ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang

*kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik" (QS. Al- Baqarah: 26).*

Menurut asy-syaukani (2008), menyatakan bahwa (فما فوقها) “yang lebih rendah dari itu”. Maksud dari ayat tersebut adalah apa yang lebih kecil dari nyamuk dari segi fisik dan makna, mengingat nyamuk adalah hewan yang kecil, dan hewan yang lebih kecil dari nyamuk antara lain yaitu bakteri.

*Bacillus* spp. digolongkan ke dalam kelas bakteri heterotrofik, yaitu protista bersifat uniseluler, termasuk dalam golongan mikroorganisme reduksen atau yang lazim disebut sebagai dekomposer. Sebagian besar bakteri laut termasuk dalam kelompok bakteri bersifat heterotrofik dan saprofitik (Rheinheimer, 1980). Marga *Bacillus* merupakan bakteri yang berbentuk batang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks (Pelczar dan Chan, 1988).

Marga *Bacillus* merupakan salah satu dari enam bakteri penghasil endospora. Endospora tersebut berbentuk bulat, oval, elips atau silinder, yang terbentuk di dalam sel vegetatif. Endospora tersebut membedakan *Bacillus* dari tipe-tipe bakteri pembentuk eksospora. Spora *Bacillus* pertama kali dideskripsikan oleh Cohn pada tahun 1872 pada *B. subtilis* yang semula disebut *Vibrio subtilis* oleh Ehrenberg pada 1835 (Gordon, 1981).

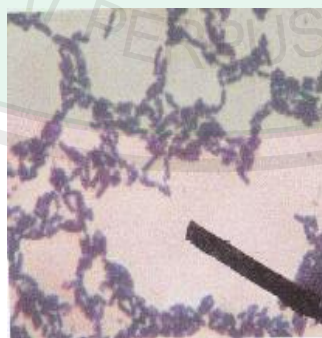
Spesies *Bacillus* sangat cocok untuk produksi enzim, kecuali *B. cerus* dan *B. anthracis*. Mikroba jenis *Bacillus* tidak menghasilkan toksin, mudah ditumbuhkan dan tidak memerlukan substrat yang mahal. Kemampuan *Bacillus*

untuk bertahan pada temperatur tinggi, tidak adanya hasil samping metabolik dan kemampuannya untuk menghasilkan sejumlah besar protein eksternal membuat *Bacillus* merupakan organisme vaforit untuk industri (Doi, 1992).

*Bacillus mycoides* merupakan bakteri berbentuk rantai, motil, dan dapat membentuk asam dari glukosa. Sel tubuhnya memiliki ukuran sepanjang 3  $\mu\text{m}$ . Uji identifikasi dengan menggunakan metode vosges- prostkauer, *Bacillus mycoides* menghasilkan enzim yang mereduksi nitrat dan methylen blue. *Bacillus mycoides* adalah bakteri yang menghasilkan endospora dalam siklus hidupnya (Wardhani, 2010).

Klasifikasi bakteri *Bacillus mycoides* menurut Hadioetomo (1985), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae  
 Filum : Firmicuter  
 Kelas : Bacilli  
 Ordo : Bacillales  
 Familli : Bacillaceae  
 Genus : *Bacillus*  
 Spesies : *Bacillus mycoides*



Gambar 2. *Bacillus mycoides* (Wardhani, 2010).

Menurut Atlas dan Bartha (1987), *Bacillus* spp. sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena mempunyai sifat-sifat seperti,

memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, memiliki kemampuan enzimatik yang beragam, dan beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik. Selain itu yang utama adalah *Bacillus spp* tidak membutuhkan faktor tumbuh yang relatif mahal.

Menurut Naiola dan Widhyastuti (2002), penggunaan mikroorganisme untuk produksi protease memiliki beberapa kelebihan diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah. Salah satu mikroorganisme yang termasuk dalam kategori di atas adalah *Bacillus sp.*

#### **2.4 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim**

Menurut Suhartono (1989), faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi enzim, substrat, pH, suhu, senyawa inhibitor dan aktivator. Selain itu juga penentuan berat molekul, titik isoelektrik dan struktur enzim tersebut untuk mengetahui golongan fungsional pada lokasi aktif dan urutan asam amino enzim.

Semua enzim adalah protein, dan aktivitas kaalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Seperti halnya protein lain, enzim mempunyai berat molekul berkisar 12.000 sampai 1 juta. Oleh karena itu enzim berukuran besar dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya (Sadikin, 2002).

Penataan tertentu pada rantai samping asam amino suatu enzim di sisi aktifnya menentukan tipe molekul yang dapat terikat dan bereaksi. Biasanya ada sekitar lima rantai samping dalam enzim apapun. Selain itu banyak enzim yang molekul molekul non protein kecil yang terhubung dengan sisi aktif atau didekatnya. Molekul molekul ini disebut kofaktor atau koenzim (Ngili, 2009). Beberapa enzim memerlukan kofaktor atau koenzim untuk aktifitas katalitiknya. Bagian holoenzim (koenzim dan ion) bersifat stabil sewaktu pemanasan, sedangkan bagian apoenzim (protein) terdenaturasi oleh panas (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994).

#### 1. Suhu

Allah dalam firman-Nya telah menjelaskan bahwa perbedaan kondisi lingkungan akan mempengaruhi aktivitas makhluk hidup yang ada di bumi. Hal ini tercantum dalam Al- Qur'an surat Faathir ayat 20-21:

وَلَا الظُّلُمَاتُ وَلَا النُّورُ ۖ وَلَا الظِّلُّ وَلَا الْحَرُورُ ۚ

Artinya: “Dan tidak (pula) sama gelap gulita dengan cahaya, dan tidak (pula) sama yang teduh dengan yang panas” (QS. Faathir: 20-21).

Menurut Al-Akhfasi sebagaimana dikutip oleh Al-Qurthubi (2009), menafsirkan “وَلَا الظُّلُمَاتُ وَلَا النُّورُ” sebagai “tidak sama antara gelap gulita dengan cahaya, serta tidak sama pula antara keteduhan dengan kepanasan”. Kata “الحرور” tidak akan terjadi kecuali jika adanya sinar matahari di siang hari. Sedangkan angin panas terjadi pada waktu malam. Ayat ini menjelaskan bahwa adanya siang dan malam mengakibatkan

perbedaan suhu di muka bumi yang akan berdampak pada aktivitas makhluk hidup termasuk enzim.

Suhu sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, makin meningkat pula aktifitas enzim. Secara umum, setiap peningkatan sebesar 10°C diatas suhu minimum, aktivitas enzim akan meningkat sebanyak dua kali lipat. Aktivitas enzim meningkat pada kecepatan ini hingga mencapai kondisi optimum. Peningkatan suhu melebihi suhu optimumnya menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim secara struktural (Pratiwi, 2008). Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus non polar yang berada didalam molekul menjadi terbuka keluar, kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun, sehingga aktivitas enzim juga akan turun (Lehninger, 1997).

*Bacillus mycoides* dapat menghasilkan enzim protease dengan karakteristik yang berbeda tergantung pada habitatnya. *Bacillus mycoides* yang di dapat dari Pusat Penelitian Nasional (NRC), Dokki, Kairo, Mesir dengan suhu inkubasi 50°C menunjukkan aktivitas protease termofil ekstraseluler sebesar 54,0 U/ml sedangkan bakteri yang lain *Bacillus megaterium* 8,2 U/ml, *B. subtilis* 11,53 U/ml dan *Staphylococcus* sp. 23,9 U/ml pada masa inkubasi 48 jam (Naby, dkk., 1997).

*Bacillus mycoides* isolat tanah (A134) dan air (G3) danau Turawa menunjukkan aktivitas yang berbeda dalam beberapa medium

dengan suhu yang berbeda. Aktivitas protease terbesar dari *Bacillus mycoides* G3 dengan substat albumin yaitu pada suhu 60°C sebesar 17,00  $\mu\text{mol}$  pada substat kasein sebesar 4,12  $\mu\text{mol}$  suhu 30°C. pada *Bacillus mycoides* A134 aktivitas protease tertinggi juga pada substrat albumin tapi pada suhu 30°C menunjukkan aktivitas sebesar 13,72  $\mu\text{mol}$ . Pada suhu 60°C aktivitasnya 10,52  $\mu\text{mol}$  (Grata, dkk., 2010)

Karakteristik aktivitas protease *Bacillus mycoides* yang diisolasi dari ikan asin mempunyai suhu optimum 40°C dengan jumlah bakteri sebesar 1,000, pH optimum 6 dengan jumlah bakteri sebesar 2,407, dengan rata-rata aktivitas protease sebesar 5,140 U/ml (Shabur dan Primayudha, 2012).

## 2. Aktivitas enzim dipengaruhi pula oleh konsentrasi substrat.

Pada konsentrasi substrat rendah, enzim tidak mencapai konversi maksimum akibat sulitnya enzim menemukan substrat yang akan direaksikan. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, kecepatan reaksi juga akan meningkat akibat makin banyaknya substrat terikat dengan enzim. Peningkatan konsentrasi substrat pada titik-titik jenuh tidak dapat lagi meningkatkan kecepatan laju reaksi (Pratiwi, 2008).

Keseimbangan yang terjadi antara enzim dan substrat menunjukkan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu di alam ini dalam keadaan yang seimbang. Konsep keseimbangan yang terjadi dalam alam telah tercantum dalam Al- Qur'an surat Al- Mulk ayat 3, yang berbunyi:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ  
فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: “Yang Telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka Lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (QS. Al- Mulk: 3).

Maksud dari ayat tersebut yaitu, segala sesuatu yang diciptakan Allah di alam semesta ini pasti dalam keadaan yang seimbang. Keseimbangan juga terjadi antara enzim dengan substratnya, dimana laju reaksi enzim di pengaruhi oleh jumlah substrat. Semakin banyak substrat maka semakin banyak pula substrat yang menempati sisi aktif enzim. Apabila jumlah substrat tidak seimbang maka enzim akan mengalami kejenuhan.

### 3. pH

pH lingkungan berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum dimana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif untuk mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktifitas enzim secara progresif hilang sampai akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1997).

Enzim menyediakan banyak tempat untuk pengikatan proton karena enzim adalah protein yang tersusun oleh asam amino yang dapat mengikat proton pada gugus amino, karboksil dan gugus fungsional lain.

Gugus fungsional pada sisi aktif yang dapat terionisasi yang dikatalisa oleh enzim (Suhartono, 1989). Gugus fungsional yang memegang peranan penting pada suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim terdapat pada rantai asam amino basa dan asam amino asam (Whitaker, 1994). Pada skala deviasi pH yang besar, perubahan pH akan mengakibatkan enzim mengalami denaturasi karena adanya gangguan terhadap berbagai interaksi non kovalen yang menjaga kestabilan struktur 3 dimensi enzim (Baehaki, dkk., 2005).

Produksi protease optimal dari *Bacillus mycoides* dihasilkan pada pH 9. Hal ini menunjukkan bahwa protease dari *Bacillus mycoides* termasuk dalam protease alkali (Naby, dkk., 1997).

#### 4. Ada tidaknya aktivator dan inhibitor.

Jika terdapat pengurangan laju reaksi oleh suatu senyawa, senyawa tersebut dinamakan inhibitor. Inhibitor dapat bersaing dengan substrat dalam berikatan dengan enzim, sehingga menghalangi substrat terikat pada tapak aktif enzim. Peningkatan laju reaksi yang disebabkan oleh aktivator adalah kebalikan dari efek inhibitor (Poedjiaji dan Supriyanti, 1994).

Kecepatan reaksi enzimatik dipengaruhi juga oleh keberadaan ion logam (Suhartono 1989). Ion logam dapat berfungsi sebagai aktivator atau inhibitor. Secara kimiawi, suatu kofaktor tidak dapat dibedakan dari inhibitor. Setelah enzim dan substrat berinteraksi, barulah dapat dilihat perbedaannya. Adanya aktivator yang berikatan dengan enzim dapat menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim sedangkan inhibitor jika

berikatan dengan enzim menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzimatik (Whitaker, 1994).

Hasil penelitian Utarti, *dkk* (2009), menunjukkan bahwa ion logam yang berfungsi sebagai aktifator protease dari *Bacillus* sp31 adalah ion  $\text{Fe}^{2+}$ . Adinarayana, *dkk* (2003) menyatakan bahwa, serin alkalin protease dari *B. subtilis* PE-11 aktifaktornya adalah ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan  $\text{Mn}^{2+}$ . Sementara pada protease dari *Bacillus* spAPR-4 aktifaktornya adalah ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan ion  $\text{Cu}^{2+}$  (Kumar dan Bhalla, 2004). Penambahan ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  pada reaksi enzimatik yang dikatalis oleh protease *Bacillus* sp31 menurunkan aktivitasnya (Utarti, *dkk.*, 2009).

## 2. 5 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sa'id (1987) menyatakan bahwa faktor-faktor yang penting untuk diperhatikan dalam fermentasi enzim adalah seleksi mikroba, pengaturan kondisi fermentasi dan pengenalan siklus pertumbuhan. Persyaratan utama dalam seleksi mikroba adalah kemudahan dalam metodologi, sehingga pengujian yang cepat untuk sejumlah besar mikroba dapat dikerjakan. Kondisi fermentasi yang harus diperhatikan adalah pH, suhu, transfer oksigen dan nutrisi bagi pertumbuhan mikroba, khususnya senyawa-senyawa yang mengandung karbon, nitrogen, fosfor, belerang dan garam-garam mineral.

Menurut Aunstrup (1979), untuk mendapatkan protease ada dua hal yang perlu diperhatikan yaitu seleksi galur dan kontrol lingkungan. Seleksi galur dimaksudkan untuk mendapatkan galur mikroorganisme penghasil protease dalam jumlah dan aktivitas yang tinggi. Sedangkan kontrol lingkungan dilakukan

dengan mengoptimalkan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi protease. Menurut Ward (1983), faktor-faktor tersebut adalah pH, komposisi medium, kondisi aerob atau anaerob dan sebagainya.

Pengukuran kekeruhan medium pada selang waktu tertentu dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri memperbanyak sel dalam medium. Kekeruhan terjadi karena sel bakteri tumbuh, berkembang, memperbanyak diri dan mensekresikan enzim ke medium kultur. Kekeruhan tersebut diukur dengan mengukur turbiditas medium pada panjang gelombang tertentu. Absorbansi yang terukur ini tidak hanya mengukur jumlah sel hidup, tetapi sel yang mati juga ikut terukur (Susanti dan Ariani, 2003).

Pertumbuhan dapat diamati dari meningkatnya jumlah sel atau massa sel (berat kering sel). Pada umumnya bakteri dapat memperbanyak diri dengan pembelahan biner yaitu dari satu sel menjadi dua sel baru, maka pertumbuhan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel. Waktu yang diperlukan untuk membelah diri dari satu sel menjadi dua sel sempurna disebut waktu generasi. Waktu yang diperlukan mikroba untuk menggandakan diri tidak sama, dari beberapa menit, beberapa jam sampai beberapa hari tergantung kecepatan pertumbuhannya. Kecepatan pertumbuhan merupakan perubahan jumlah atau massa sel per unit waktu (Sumarsih, 2003).

Makanan dan nutrisi semua makhluk hidup di dunia ini telah dijamin oleh Allah yang diterangkan dalam al Qur'an surat Al Huud ayat 6 yang berbunyi:

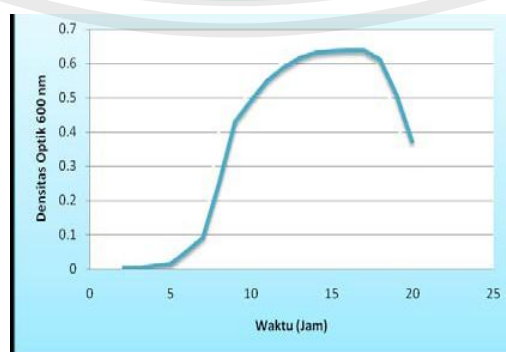
وَمَا مِنْ دَابَّةٍ فِي الْأَرْضِ إِلَّا عَلَى اللَّهِ رِزْقُهَا وَيَعْلَمُ مُسْتَقَرَّهَا وَمُسْتَوْدَعَهَا كُلٌّ فِي

كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦﴾

Artinya: “Dan tidak ada suatu binatang melatapun di bumi melainkan Allah-lah yang memberi rezkinya, dan dia mengetahui tempat berdiam binatang itu dan tempat penyimpanannya. semuanya tertulis dalam Kitab yang nyata (Lauh mahfuzh)” (QS. Al-Huud: 6).

Ayat tersebut menjelaskan tentang rizki dan makanan seluruh makhluk hidup di dunia ini telah dijamin oleh Allah, seperti terpenuhinya nutrisi dari *Bacillus mycoides*. Nutrisi dari *Bacillus mycoides* dapat diperoleh dengan cara menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease yang memecah protein menjadi asam amino yang dapat dimanfaatkan langsung oleh bakteri dalam memenuhi nutrisinya untuk tumbuh dan berkembang.

Mengukur pertumbuhan mikroba padat digunakan beberapa metode. Tetapi tidak satupun prosedur yang dapat diaplikasikan pada semua situasi. Dalam banyak kasus, khususnya yang menyangkut fermentasi komersial maka media untuk pertumbuhan dan perkembangan produk sangat kompleks sehingga metode langsung tidak dapat digunakan dan cara yang diperlukan adalah cara yang tidak langsung (Judoamidjojo, dkk., 1990).



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri ( Kosim dan Putra, 2010)

Kurva pertumbuhan diawali dengan fase awal (lag) yang merupakan masa penyesuaian mikroba. Pada fase tersebut terjadi sintesis enzim oleh sel yang dipergunakan untuk metabolisme metabolit. Setelah fase awal selesai, baru mulai terjadi reproduksi selular. Konsentrasi selular meningkat, mula-mula perlahan kemudian makin lama makin meningkat sampai pada suatu saat laju pertumbuhan atau reproduksi selular mencapai titik maksimal dan terjadi pertumbuhan secara logaritmik atau eksponensial (Putranto, 2006). Fase logaritmik dicirikan dengan suatu garis lurus pada plot antara  $\ln$  berat kering terhadap waktu. Periode eksponensial merupakan periode pertumbuhan mikroorganisme yang stabil dengan laju pertumbuhan yang spesifik ( $\mu$ ) konstan (Panji, dkk., 2002). Selanjutnya setelah substrat atau persenyawaan tertentu yang dibutuhkan oleh pertumbuhan bakteri dalam media biakan mendekati habis dan terjadi penumpukan produk-produk penghambat, maka terjadi penurunan laju pertumbuhan bakteri tersebut. Fase penurunan ditandai oleh berkurangnya jumlah sel hidup (viable) dalam media pertumbuhan akibatnya terjadi kematian (mortalitas) (Mangunwidjaja dan Suryani, 1994).

## **2.6 Limbah Cair Tahu**

Media produksi untuk menghasilkan enzim harus memenuhi kebutuhan dasar untuk menghasilkan sel serta produk. Nutrisi utama bagi pertumbuhan mikroba adalah sumber karbon, nitrogen dan mineral, terutama fosfat. Nitrogen sangat diperlukan untuk pertumbuhan sel, sedang unsur-unsur karbon digunakan untuk meningkatkan energi biosintesis (Aunstrup, 1979).

Media merupakan suatu susunan bahan, baik berbentuk bahan alam (seperti toge, wortel, daging, kentang dan sebagainya) atau bahan buatan (berbentuk senyawa kimia, organik ataupun anorganik) yang dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba (Suriawiria, 1990).

Media merupakan tempat tumbuh dan berkembang biaknya mikroorganisma . Agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media, diperlukan persyaratan tertentu, yaitu : 1 . Di dalam media harus terkandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba, yaitu nitrogen, karbon, vitamin, garam mineral dan air (Lay dan Sugyo, 1992). 2. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. 3. Media harus dalam keadaan steril (Suriawiria, 1990).

Berbagai sumber makanan yang bersifat organik atau anorganik baik yang merupakan senyawa sederhana maupun senyawa kompleks tersedia di alam. Pemilihan sumber makanan untuk memproduksi enzim sangat tergantung dari jenis mikroorganisme dan jenis enzim yang ingin diproduksi, ketersediaannya di alam dan faktor ekonomis. Pemanfaatan limbah yang tersedia melimpah di alam atau substrat yang bernilai ekonomis rendah untuk digunakan sebagai media sangat diutamakan. Proses fermentasi merupakan proses perubahan substrat menjadi produk dengan bantuan enzim. Dalam proses ini perlu diperhatikan komposisi media optimum agar proses berlangsung baik. Teknologi fermentasi telah banyak memanfaatkan limbah untuk menghasilkan berbagai produk. Limbah

yang akan digunakan sebagai media pertumbuhan diharapkan mempunyai kadar nutrisi yang tinggi, mudah didapat, dan harganya relatif murah (Suhartono, 1996).

Seiring perkembangan teknologi, limbah pertanian dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk menumbuhkan mikroba, untuk memproduksi berbagai jenis bahan yang bermanfaat bagi industri, seperti enzim dan antibiotika. Salah satu limbah pertanian yang cukup berlimpah adalah limbah cair tahu yang dihasilkan oleh pabrik-pabrik tahu. Limbah cair tahu ini penggunaannya masih sangat terbatas dan umumnya dibuang ke sungai, yang dapat mengakibatkan pencemaran sungai. Limbah cair tahu mengandung protein, glukosa dan komponen lainnya dengan kadar yang relatif tinggi. Dengan kandungan nutrisi tersebut maka limbah cair tahu mempunyai potensi sebagai medium untuk memproduksi bakteri (Ferdian, 2006).

Proses produksi tahu menghasilkan limbah cair antara 15-20 L/kg bahan baku kedelai dan limbah padat. Jumlah produksi tahu yang semakin meningkat akan mengakibatkan jumlah limbah cair yang dihasilkan semakin melimpah. Mengingat kedelai sebagai bahan baku pembuatan tahu yang memiliki kadar protein (34-45%), karbohidrat (12-30%), lemak (18-32%), dan air (7%) (Radiyah, dkk., 2000), akibatnya limbah cair tahu memiliki zat-zat organik yang tinggi. Jika limbah cair industri tahu tersebut dibuang langsung ke lingkungan tanpa proses pengolahan, akan terjadi *blooming* (pengendapan zat-zat organik pada perairan), yang menyebabkan proses pembusukan dan berkembangnya mikroorganisme patogen (Sudaryati, dkk., 2007). Menurut Rahardjo dalam Trismilah, dkk (2001)

limbah cair dari tahu mengandung bahan organik dan nutrien tinggi yang terdiri dari air 90,72 %, protein 1,8%, lemak 1,2%, serat kasar 7,36%, dan abu 0,32 %.

Islam menganjurkan manusia untuk memperhatikan kebersihan lingkungan. Karena kebersihan lingkungan akan sangat berpengaruh terhadap keselamatan manusia yang ada disekitarnya. Perintah nabi muhammad SAW untuk menjaga kebersihan lingkungan juga disebutkan dalam hadis sebagai berikut:

النبي صلى الله عليه وسلم نهى أن يبال في الماء الراكد

Artinya: “Nabi SAW melarang umatnya mengotori sumber air” (HR. Muslim).

Hadis tersebut menjelaskan bahwa sumber air merupakan sumber kehidupan di bumi. Oleh karena itu sebagai khalifah di bumi, kita harus menjaga lingkungan sekitar tetapi tidak semua orang menyadari pentingnya sumber air bagi kehidupan karena masih seringnya dijumpai masyarakat yang membuang limbah di sungai khususnya limbah cair tahu (Jasmiyati dan Tahamrin, 2010). Dengan memanfaatkan limbah cair tahu sebagai media untuk produksi enzim protease, paling tidak kita sudah mengurangi sedikit pencemaran air yang disebabkan oleh limbah cair tahu.

Limbah cair tahu merupakan jenis limbah yang penggunaannya masih sangat terbatas dan umumnya dibuang ke sungai, yang dapat mengakibatkan pencemaran sungai. Pencemaran pada sungai merupakan salah satu hal yang dapat membuat kerusakan di bumi. Padahal sebagai khalifah di bumi kita tidak boleh merusak bumi. Perintah untuk tidak boleh merusak bumi terdapat dalam surat Al Baqarah ayat 11 yang berbunyi:

وَإِذَا قِيلَ لَهُمْ لَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ قَالُوا إِنَّمَا نَحْنُ مُصْلِحُونَ ﴿١١﴾

Artinya: "Dan bila dikatakan kepada mereka: "Janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi". mereka menjawab: "Sesungguhnya kami orang-orang yang mengadakan perbaikan." (QS. Al-Baqarah: 11).

## 2.7 Dedak

Dedak merupakan hasil ikutan proses pemecahan kulit gabah yang terdiri dari lapisan kutikula sebelah luar dan hancuran sekam serta sebagian kecil lembaga yang masih tinggi kandungan protein, vitamin, dan mineral. Menurut (Schalbroeck, 2001), produksi dedak padi di Indonesia cukup tinggi per tahun dapat mencapai 4 juta ton dan setiap kuintal padi dapat menghasilkan 18-20 gram dedak. Dedak mengandung protein 13,00 % lemak 13,00%, dan serat kasar 12,00 % dapat dipakai sebagai bahan pakan ternak (Schalbroeck, 2001).

Penggilingan satu ton gabah menghasilkan dedak sebanyak 60-80 kg. Bergantung pada varietas beras dan derajat penggilingannya (Purbasari dan Silviana, 2008). Gusnimar (2011), mengemukakan bahwa dedak pada kadar air 14% mempunyai komposisi sebagai berikut: protein 11,3-14,9%; lipida 15,0-19,7%; serat kasar 7,0-11,4%; abu 6,6-9,9%; karbohidrat 34,1-52,3%; pati 13,8%; neutral detergent fiber 23,7-28,6%; pentosan 7,0-8,3%; hemiselulosa 9,5-16,9%; selulosa 5,9-9,0%; asam poliuronat 1,2%; gula bebas 5,5-6,9% dan lignin 2,8-9,3% yang kesemuanya dapat menunjang pertumbuhan jamur. Gunawan (1975) menyatakan bahwa penambahan dedak dalam substrat akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan

perkembangannya, sehingga menyebabkan mikroba cepat tumbuh dan mudah berkembang biak.

## 2.8 Pengujian Aktivitas Protease

Pengukuran aktivitas protease ini menggunakan metode Bregmeyer dan Gassal (1983). Prinsip kerja dari metode ini yaitu kasein yang berfungsi sebagai substrat akan dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air menjadi peptida dan asam amino.

Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini dengan berpasangan. Allah berfirman dalam Al Qur'an surat Adz-Dzariyaat ayat 49 yang berbunyi:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ﴿٤٩﴾

Artinya: *"Dan segala sesuatu kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah"* (QS. Adz-Dzariyaat: 49).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu disertai dengan pasangannya. Seperti halnya menciptakan laki laki dengan perempuan, siang dengan malam, manis dengan pahit. Begitu pula enzim yang diciptakan oleh Allah berdampingan dengan substratnya. Enzim memiliki spesifitas atau kekhasan terhadap substrat (Pelczar dan Chan, 1988).

Enzim protease merupakan enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein. Protease merupakan enzim yang sangat kompleks dan hanya dapat mengkatalisis zat mengandung protein misalnya: kasein, albumin dan lain-lain (Ward, 1983).

Laju pembentukan peptida dan asam amino tersebut dapat dijadikan tolak ukur aktivitas katalisis protease. Asam amino yang terbentuk harus dipisahkan ini dilakukan dengan penambahan TCA. Penambahan TCA ini sekaligus menginaktifkan enzim protease. Asam amino tirosin dan triptopan yang larut dalam TCA akan bereaksi dengan reagen folin menghasilkan warna biru. Warna yang terbentuk diukur absorbansinya pada daerah sinar nampak 578 nm dengan alat spektrofotometer. Besarnya serapan berbanding lurus dengan konsentrasi protein yang terhidrolisis (Sumarlin, 2010).

