

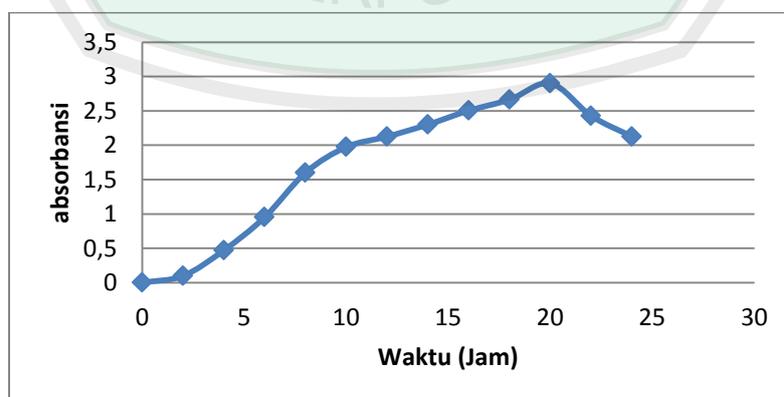
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pola Pertumbuhan *Bacillus mycoides*

Menentukan lamanya waktu fermentasi agar diperoleh aktivitas protease yang tinggi dan jumlah produk yang maksimal maka perlu diketahui fisiologi pertumbuhan bakteri *Bacillus mycoides*. Hal tersebut dapat diketahui ketika kurva pertumbuhan dari *Bacillus mycoides* diketahui. Tujuan pembuatan kurva pertumbuhan ini hanya untuk mengetahui waktu saat mikroba memasuki akhir fase logarimik awal fase stasioner. Sehingga pembuatan kurva pertumbuhan hanya dilakukan dengan mengukur kekeruhan media menggunakan spektrofotometer tanpa dilakukan perhitungan jumlah mikroba yang sebenarnya. Dalam hal ini tidak hanya mikroba yang terukur, molekul besar yang berada dalam media dapat terukur ketika tertumbuk oleh sinar, sehingga kurva pertumbuhan ini hanya dapat dijadikan acuan untuk mencari titik waktu dari tiap fase pertumbuhan mikroba.

Media yang digunakan untuk pembuatan kurva pertumbuhan dan produksi enzim protease dalam penelitian ini memanfaatkan limbah yang sudah tidak bermanfaat lagi yaitu campuran limbah cair tahu dan dedak dengan takaran 12,5 g dedak dalam 250 ml limbah cair tahu. Limbah cair tahu dan dedak yang dipakai berasal dari pabrik tahu dan penggilingan padi yang berlokasi di Desa Capang Pasuruan. Menurut Naiola dan Widhyastuti (2002), campuran antara limbah cair tahu dan dedak dapat digunakan sebagai media untuk produksi enzim protease dengan nilai aktivitas sebesar $17,61 \times 10^{-2}$ U/ml.

Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan terlihat bahwa pola pertumbuhan (gambar 4), *Bacillus mycoides* pada jam ke 0 sampai jam ke 2 merupakan fase adaptasi. Bila dilihat dari jarak waktu yang digunakan oleh *Bacillus mycoides* untuk melakukan adaptasi terhadap media pertumbuhan termasuk singkat. Hal ini dikarenakan media *starter* untuk pertumbuhan awal bakteri sama dengan media produksi sehingga usia sel relatif seragam atau homogen, karena *starter* hanya bertujuan untuk menghomologkan umur bakteri agar seragam. Pada jam ke 2 sampai jam ke 4 sel mulai membelah dengan kecepatan yang sangat rendah, fase ini merupakan fase pertumbuhan awal. Seiring dengan bertambahnya waktu, sel bakteri mulai membelah dengan cepat dan mencapai puncak pertumbuhan pada jam ke 20. Bisa dikatakan pada jam ke 2 sampai jam ke 20 pertumbuhan *Bacillus mycoides* memasuki fase logarimik, dimana pada fase ini mikroorganisme mengalami pertumbuhan yang sangat cepat. Kebutuhan akan energi bagi bakteri pada fase ini lebih tinggi dibandingkan pada fase lainnya. Oleh karena itu, pada fase ini bakteri banyak memproduksi zat-zat metabolit yang dibutuhkan dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya.



Gambar 4. Kurva pertumbuhan *Bacillus mycoides* pada media campuran limbah cair tahu dan dedak

Kerapatan optik menurun setelah jam 20, pada fase ini bakteri mulai memasuki fase penurunan jumlah sel. Penurunan ini terjadi karena zat makanan yang diperlukan bakteri berkurang dan hasil ekskresi bakteri telah bertimbun dalam medium, sehingga mengganggu perkembangbiakan dan pertumbuhan bakteri selanjutnya. Kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui waktu panen enzim protease. Waktu panen enzim ditentukan berdasarkan nilai absorbansi tertinggi yang terukur oleh spektrofotometer pada fase pertumbuhan *Bacillus mycoides*. Berdasarkan kurva pertumbuhan, waktu yang digunakan untuk panen enzim adalah pada jam ke-20 dengan nilai absorbansi sebesar 2,900. Ward (1983) mengatakan bahwa pembentukan enzim protease mulai meningkat memasuki fase eksponensial, dan kemudian meningkat lebih cepat ketika akan memasuki fase stasioner.

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, secara 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). Selanjutnya setelah substansi atau persenyawaan tertentu yang dibutuhkan oleh pertumbuhan bakteri dalam media biakan mendekati habis dan terjadi penumpukan 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).

Makanan dan nutrisi semua makhluk hidup di dunia ini telah dijamin oleh Allah yang diterangkan dalam Q.S 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) (Q.S 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.

Penggunaan bahan-bahan murah ataupun limbah sebagai media fermentasi untuk menghasilkan enzim sangat menguntungkan. Selain murah, hasil yang diperoleh tidak kalah mutunya dibandingkan dengan medium sintetik yang lebih mahal.

Allah berfirman dalam surat Ali Imran ayat 191 semua yang di ciptakan oleh Allah tidak ada yang sia-sia:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka” (Q.S Ali Imran: 191).

Limbah cair tahu dan dedak, dapat digunakan sebagai media alternatif untuk produksi enzim protease. Walaupun limbah cair tahu dan dedak merupakan sebuah limbah tetapi menurut 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%. Menurut Rahardjo dalam Trismilah *dkk* (2001) limbah cair dari tahu mengandung bahan organik dan nutrisi tinggi yang terdiri dari air 90,72 %, protein 1,8%, lemak 1,2%, serat kasar 7,36%, dan abu 0,32 %. Berdasarkan kandungan nutrisi tersebut maka limbah cair tahu dan dedak mempunyai potensi sebagai medium untuk memproduksi bakteri.

4.2 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Protease

Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimia sebagai katalis suatu reaksi. Enzim sangat rentan terhadap kondisi lingkungan karena enzim merupakan protein. Adanya perubahan temperatur akan mengakibatkan

aktivitas enzim ikut mengalami perubahan meskipun masih banyak lagi hal lain yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim (Hamdiyati, 2011).

Berdasarkan analisis statistik menggunakan ANOVA, untuk penentuan suhu optimum ekstrak enzim protease dapat ditunjukkan pada lampiran 3 tabel 3. Hasil yang ditunjukkan pada lampiran 3 tabel 3, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada perlakuan variasi suhu dimana nilai $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ ($F_{hitung} = 5,246 > F_{tabel 5\%} = 3,05$). Langkah selanjutnya yaitu melakukan uji lanjut untuk mengetahui adanya perbedaan perlakuan dari masing-masing suhu. Uji lanjut yang dilakukan adalah Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Berdasarkan hasil uji lanjut yang dilakukan dapat dilihat bahwa pada perlakuan suhu 60°C memberikan beda yang nyata dibandingkan dengan perlakuan suhu 30°C, 40°C, 50°C yaitu dengan notasi b (tabel 4) dengan nilai aktivitas sebesar $15,11 \times 10^{-2}$ U/ml.

Tabel 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim protease

No	Suhu	Aktivitas Enzim (10^{-2} U/ml)	Notasi
1	30°C	6,77	a
2	40°C	8,73	a
3	50°C	9,50	a
4	60°C	15,11	b

Aktivitas tertinggi enzim protease dari *Bacillus mycoides* yang diisolasi dari tanah Turawa (A134) juga terjadi pada suhu 60°C (Grata, dkk., 2010). *Bacillus sp* 31 yang diisolasi dari sumber air panas Mirabaya yang mempunyai suhu tinggi memiliki aktivitas optimum pada suhu 60°C (Utarti, dkk., 2009). Alkalin protease dari *B. subtilis* PE-11 (Adinarayana, dkk. 2003), *Bacillus sp*

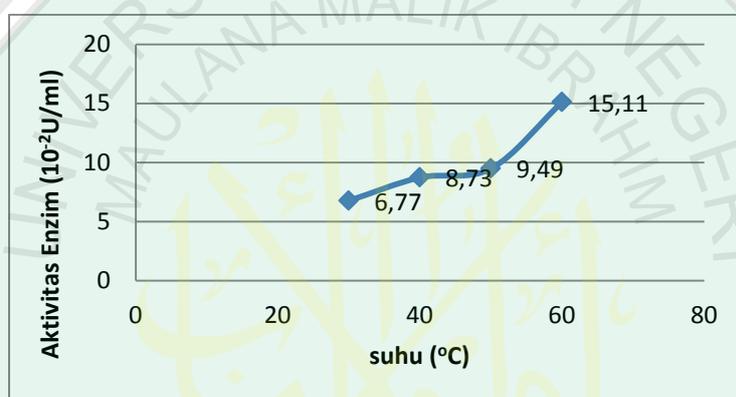
APR-4 (Kumar & Bhalla, 2004) dan *Bacillus sp* B21-2 (Fujiwara dan Yamamoto, 1987) mempunyai aktivitas optimum pada suhu 60°C.

Apabila aktivitas enzim diukur dengan menghitung banyaknya substrat yang diubah dalam jangka waktu tertentu pada suhu yang berbeda, maka didapatkan suhu optimum. Suhu optimum ini adalah suhu pada saat laju reaksi enzim paling tinggi mengubah substrat dan merupakan hasil kesetimbangan antara laju kenaikan aktivitas dan laju perusakan enzim (Bintang, 2010).

Kecepatan reaksi kimia akan meningkat dengan meningkatnya suhu karena akan mempercepat gerak termal molekul dan karenanya akan meningkatkan bagian molekul yang memiliki energi dalam jumlah yang cukup untuk memasuki keadaan transisi. Namun pada suhu 70 - 80°C enzim akan mengalami kerusakan yang mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim. Batasan ini tidak mutlak, karena ada enzim tertentu yang tahan terhadap pemanasan pada suhu tinggi yaitu enzim termostabil dan ada juga enzim yang optimum pada suhu rendah (Palmer, 1991).

Seiring dengan bertambahnya suhu, aktivitas enzim protease juga meningkat. Pada suhu 30°C aktivitas enzim protease $6,77 \times 10^{-2}$ U/ml dan semakin meningkat sampai mencapai aktivitas tertinggi yaitu pada 60°C dengan nilai aktivitas sebesar $15,11 \times 10^{-2}$ U/ml (gambar 5). Menurut Bintang (2010), Suhu berpengaruh besar terhadap aktivitas enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis organisme. Secara umum, setiap peningkatan sebesar 10°C di atas suhu minimum, aktivitas enzim akan meningkat sebanyak dua kali lipat hingga mencapai kondisi optimum.

Enzim protease yang dihasilkan dari *Bacillus mycides* termasuk enzim protease termostabil karena tahan terhadap suhu tinggi yaitu 60°C. Menurut Endo (1962), enzim protease termostabil merupakan keadaan dimana sebuah enzim dapat tetap bekerja pada suhu tinggi. Rentang suhu aktivitas enzim protease termostabil cukup lebar yaitu antara suhu 25°C-80°C. Enzim protease termostabil tergolong endopeptidase dan setiap molekul enzim memiliki satu atom seng yang sangat berperan dalam aktivitas katalitiknya.



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim protease

Enzim-enzim termostabil mempunyai karakteristik biokimiawi yang menarik. Sifat termostabilitas enzim berkaitan dengan bagian asam-asam amino yang bersifat hidrofobik, intensitas interaksi elektrostatik dan jembatan disulfida di antara asam amino penyusun struktur protein (Suhartono, 2000).

Aplikasi enzim pada beberapa industri menghendaki enzim-enzim yang dalam beraktivitas tahan terhadap panas (termostabil). Hal ini berkaitan dengan keuntungan yang akan diperoleh bila proses produksi dilakukan pada suhu tinggi dapat menurunkan resiko kontaminasi, meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghemat waktu, tenaga dan biaya, serta menurunkan viskositas larutan

fermentasi sehingga memudahkan proses produksi (Yati, *dkk.*, 2011). Dalam industri fermentasi protease alkalin merupakan jenis protease yang paling banyak diaplikasikan dalam bidang industri (Akhdiya, 2003).

Pengukuran aktivitas proteolitik secara kuantitatif tersebut dilakukan menggunakan metode Bergmeyer dan Grassal (1983). Prinsip kerja metode ini adalah pengukuran asam amino tirosin yang terhidrolisis setelah dipisahkan dari substratnya. Pertama-tama enzim akan memecah substrat kasein dengan bantuan air menjadi asam amino dan peptida. Laju pembentukan peptida inilah yang dijadikan tolak ukur aktivitas katalisis protease. Asam amino yang terhidrolisis harus dipisahkan dari substrat atau protein lain yang tidak terhidrolisis. Pemisahan dilakukan menggunakan *Trichloroaceticacid* (TCA), sehingga protein dan peptida yang berukuran besar akan terendapkan. Penambahan TCA ini sekaligus akan menginaktivasi enzim protease, karena enzim adalah protein sehingga akan ikut mengendap. Untuk mempercepat pemisahan digunakan sentrifus. Tirosin dan triptofan yang larut dalam filtrat akan bereaksi dengan reagen Folin menghasilkan warna biru. Penambahan Na_2CO_3 bertujuan untuk mendapatkan pH sekitar 11,5 yang merupakan pH optimum untuk intensitas dan stabilitas warna biru. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 578 nm. Besarnya serapan ini berbanding lurus dengan konsentrasi protein yang terhidrolisis. Satuan aktivitas enzim adalah unit. *Unit* didefinisikan sebagai jumlah yang dapat merubah 1 μmol substrat menjadi produk per menit.

4.2 Pengaruh pH terhadap Aktivitas enzim Protease

Berdasarkan analisis statistik menggunakan ANOVA, untuk penentuan pH optimum ekstrak enzim protease dapat ditunjukkan pada lampiran 3 tabel 3. Hasil yang ditunjukkan pada lampiran 3 tabel 3, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada perlakuan variasi pH dimana nilai $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ ($F_{hitung} = 18,686 > F_{tabel 5\%} = 3,44$). Langkah selanjutnya yaitu melakukan uji lanjut untuk mengetahui adanya perbedaan perlakuan dari masing-masing pH. Uji lanjut yang dilakukan adalah Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Berdasarkan hasil uji lanjut yang dilakukan dapat dilihat bahwa pada perlakuan pH 6 dan 8 memberikan beda yang nyata dibandingkan dengan perlakuan pH 7 yaitu dengan notasi b namun antara pH 6 dan 8 tidak berbeda nyata (tabel 5). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat dua pH yang mempengaruhi aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycoides* yaitu pada pH 6 dan 8 dengan nilai aktivitas masing-masing sebesar $12,34 \times 10^{-2}$ U/ml dan $14,37 \times 10^{-2}$ U/ml.

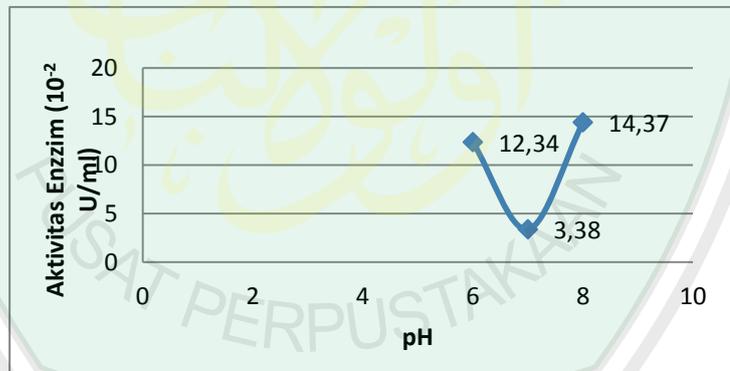
Tabel 5. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim protease

No	pH	Aktivitas Enzim (10^{-2} U/ml)	Notasi
1	7	3,38	a
2	6	12,33	b
3	8	14,37	b

Terdapatnya dua jenis pH yang mempengaruhi aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycoides* terjadi karena larutan enzim protease yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak enzim kasar yang belum mengalami tahap pemurnian sehingga pada pH 6 salah satu enzim protease (asam) yang bekerja, sedangkan

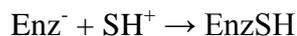
pada pH 8 enzim protease (alkali) yang lain bekerja. Berdasarkan penelitian Novita, *dkk* (2006), aktivitas enzim protease yang diproduksi oleh *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-14396 memiliki 2 jenis pH optimum yaitu 7,5 dan 9. Salah satu enzim protease (netral) bekerja dengan optimal, sedangkan pada pH 9,0 enzim protease (alkali) yang lain bekerja dengan optimal.

Berdasarkan pH optimumnya, protease di klasifikasikan pada protease asam, netral dan alkalin. Rentang pH 8 – 12 dapat diklasifikasikan sebagai protease alkalin (North, 1982). Protease asam (EC 3.4.23) merupakan enzim yang aktif pada pH asam. Enzim ini tidak sensitif terhadap EDTA, DFP maupun p-CMB (p- cloro- mercuribenzoate), tapi dapat dihambat oleh komponen diazoketon (Ward, 1983).

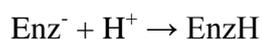


Gambar 6. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim protease

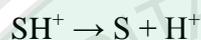
Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena pH mempengaruhi keadaan muatan listrik substrat atau enzim. Perubahan muatan dapat mempengaruhi aktivitas, baik dengan perubahan struktur maupun dengan perubahan muatan pada residu asam amino yang berfungsi mengikat substrat atau terjadi katalisis. Misalnya enzim bermuatan negatif (Enz^-) bereaksi dengan substrat (SH^+):



Pada nilai pH kurang dari 7,5 untuk protease netral atau kurang dari 9 untuk protease alkali, Enz⁻ akan diprotonasi dan kehilangan muatan negatifnya.



Pada nilai pH lebih dari 7,5 untuk protease netral atau lebih dari 9 untuk protease alkali, SH⁺ akan terionisasi dan kehilangan muatan positifnya.



Jadi nilai pH yang lebih rendah atau lebih tinggi akan menurunkan konsentrasi Enz⁻ dan SH⁺, padahal yang bereaksi adalah Enz⁻ dan SH⁺ sehingga akan menurunkan kecepatan reaksi (Martin *dkk.*, 1983).

pH lingkungan juga 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, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1997).

Ward (1983) menyebutkan bahwa, sintesis enzim ekstraselular secara tidak langsung dipengaruhi pH media. sintesis enzim ekstraselular terjadi pada membran sel dalam bentuk prekursor yang tidak aktif dan akan dilepaskan pada media menjadi bentuk aktif melalui proses proteolisis. Jika pH medium tidak mendukung permeabilitas membran untuk mensekresikan enzim, maka

konsentrasi eksoenzim dalam media akan rendah, walaupun enzim telah disintesis pada membran.

4.3 Interaksi antara Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Protease

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara suhu dan pH yang diinteraksikan terhadap aktivitas enzim protease dengan nilai dari $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ ($F_{hitung} = 5,770 > F_{tabel 5\%} = 2,55$) yang dapat dilihat pada lampiran 3 tabel 3. Langkah selanjutnya yaitu melakukan uji lanjut untuk mengetahui adanya perbedaan perlakuan dari masing-masing suhu dan pH yang diinteraksikan. Uji lanjut yang dilakukan adalah Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Berdasarkan hasil uji lanjut yang dilakukan dapat dilihat bahwa interaksi antara suhu 60 °C dan pH 8 memberikan nilai aktivitas yang paling tinggi di antara interaksi yang lain dengan nilai aktivitas sebesar $27,59 \times 10^{-2}$ U/ml yang diikuti dengan notasi e (tabel 6).

Tabel 6. Interaksi pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim protease

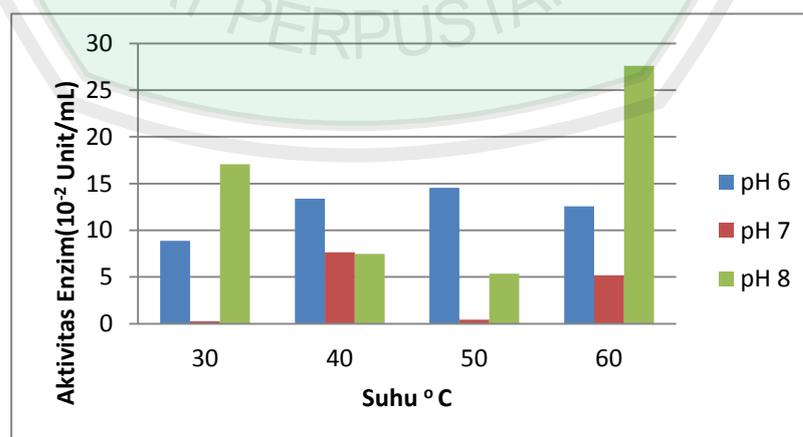
No	Suhu	pH	Aktivitas Enzim (10^{-2} U/ml)	Notasi
1	30° C	6	8,89	abcd
2		7	0,25	a
3		8	17,07	d
4	40° C	6	13,37	bcd
5		7	7,64	abc
6		8	7,48	a
7	50° C	6	14,53	abc
8		7	0,45	cd
9		8	5,34	ab
10	60° C	6	12,57	bcd
11		7	5,18	ab
12		8	27,59	e

Aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycoides* untuk pH 6 yaitu, terjadi peningkatan aktivitas secara berkala dan mencapai optimum pada suhu 50°C dengan aktivitas sebesar $14,53 \times 10^{-2}$ U/ml selanjutnya mengalami penurunan aktivitas pada suhu 60°C menjadi $12,57 \times 10^{-2}$ U/ml (gambar 7). Hal ini sesuai dengan pernyataan. Menurut Kosim dan Putra (2010) menyatakan bahwa, peningkatan suhu menyebabkan aktivitas enzim meningkat. Hal ini disebabkan oleh suhu yang makin tinggi akan meningkatkan energi kinetik, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dan enzim. Tumbukan yang sering terjadi akan mempermudah pembentukan kompleks enzim-substrat, sehingga produk yang terbentuk makin banyak. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif, sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat makin mudah dan produk yang terbentuk meningkat. Peningkatan suhu lebih lanjut akan menurunkan aktivitas enzim. Hal ini disebabkan karena enzim mengalami denaturasi. Enzim mengalami perubahan konformasi pada suhu terlalu tinggi, sehingga substrat terhambat dalam memasuki sisi aktif enzim. Lehninger (1997) menyatakan bahwa, 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.

Aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycoides* untuk pH 7 hampir sama dengan aktivitas enzim protease untuk pH 6 yaitu, meningkat seiring dengan bertambahnya suhu namun untuk pH 7 aktivitas enzim protease mencapai optimum pada suhu 40°C dengan nilai aktivitas sebesar $7,64 \times 10^{-2}$ U/ml lalu

mengalami penurunan aktivitas yang besar pada suhu 50°C menjadi $0,45 \times 10^{-2}$ U/ml selanjutnya mengalami kenaikan aktivitas lagi pada suhu 60°C menjadi $5,18 \times 10^{-2}$ U/ml namun tidak sebesar aktivitas pada suhu 40°C (gambar 7).

Aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycoides* untuk pH 8 pada suhu 30°C adalah $12,12 \times 10^{-2}$ U/ml lalu mengalami penurunan pada suhu 40°C dan 50°C masing-masing dengan aktivitas $7,48 \times 10^{-2}$ U/ml dan $5,34 \times 10^{-2}$ U/ml. Aktivitas enzim mengalami kenaikan yang ekstrim yaitu sebesar $27,59 \times 10^{-2}$ U/ml pada suhu 60°C. Berdasarkan hasil keseluruhan dari aktivitas enzim protease yang diperoleh, aktivitas enzim protease yang tertinggi dari *Bacillus mycoides* adalah pada suhu 60°C dengan pH 8 (gambar 7). Protease dari isolat bakteri T1S1 dan T2S3 yang diisolasi dari tanah rawa Indralaya memiliki aktivitas protease masing – masing 0,391 U/ml dan 0,385 yang optimum pada pH 8 sedangkan isolat bakteri T2S3 optimum pada pH 7,5 (Baehaki *dkk.*, 2011), aktivitas optimum enzim protease bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berada pada pH 8 (Baehaki *dkk.*, 2008).



Gambar 7. Interaksi antara suhu dan pH terhadap aktivitas enzim protease

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 tersebut terdapat pada rantai asam amino basa dan asam amino asam (Whitaker, 1994) yang memegang peranan penting pada suatu reaksi. Selain suhu, pH, dan konsentrasi substrat, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh ada tidaknya inhibitor. Pada skala deviasi pH yang besar, perubahan pH akan mengakibatkan enzim mengalami denaturasi karena adanya gangguan terhadap berbagai interaksi non kovalen yang menjaga kestabilan stuktur 3 dimensi enzim (Baehaki, *dkk.*, 2005).

Allah telah menetapkan segala sesuatu sesuai dengan kadar dan ukurannya, sebagaimana yang yang dijelaskan dalam Al- Qur'an surat Al - Qamar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “ *Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (Q.S Al Qamar: 49).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya. Seperti halnya besarnya aktivitas optimum enzim protease dari *Bacillus mycoides* dalam penelitian ini yang berada pada suhu dan pH optimum tertentu tergantung dari jenis bakteri, dan habitatnya. Sebagaimana yang telah diteliti dalam penelitian ini bahwa aktivitas enzim protease tertinggi terdapat pada suhu 60°C dan pH 8 dengan nilai aktivitas sebesar $27,59 \times 10^{-2}$ U/ml.

Berdasarkan penelitian Yati (2011) menyebutkan bahwa, enzim protease dari *Bacillus licheniformis* yang diproduksi pada media sintetik memiliki aktivitas protease tertinggi sebesar 123,34 U/mL pada suhu 50°C dan 193,14 U/mL pada pH 10. Aktivitas enzim protease dari *Bacillus licheniformis* lebih tinggi jika dibanding dengan aktivitas enzim protease dari *Bacillus mycooides* yaitu $27,59 \times 10^{-2}$ U/ml, namun enzim protease dari *Bacillus mycooides* memiliki aktivitas protease tertinggi pada suhu 60°C selain itu, media yang digunakan untuk produksi enzim protease dari *Bacillus mycooides* menggunakan media limbah yang murah dan mudah didapat yaitu campuran limbah cair tahu dan dedak. Fardiaz (1988) menyatakan bahwa dalam industri fermentasi dibutuhkan substrat yang murah, mudah didapat dan penggunaannya efisien. Selain itu media yang digunakan harus dapat memenuhi kebutuhan senyawa karbon, nitrogen serta beberapa zat pertumbuhan yang diperlukan, misalnya asam amino esensial. Salah satu media yang cukup potensial untuk digunakan adalah limbah cair tahu.

4.5 Hikmah dari Penelitian

Al-Qur'an merupakan kitab yang memberikan petunjuk kepada umat manusia, tanpa terkecuali dalam hubungannya dengan ilmu pengetahuan. Al-Qur'an mendorong umat manusia untuk menggunakan akal pikirannya dalam melakukan observasi terhadap alam semesta sehingga diperoleh penemuan baru yang selaras dengan Al-Qur'an (Shihab, 1999). Allah berfirman dalam surat Al-Jaatsiyah ayat 13:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: “Dan dia Telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir” (QS. Al- Jaatsiyah: 13).

Berdasarkan ayat tersebut Allah menyuruh kita merenungkan alam, langit yang melindungi dan bumi yang terhampar untuk manusia hidup. Juga memperhatikan siang dan malam, Semua itu penuh dengan ayat-ayat dan kebesaran Allah SWT. Bumi tempat kita berdiam penuh dengan aneka keganjilan yang mengandung rahasia ilmu yang belum terurai. Langit dan bumi dijadikan oleh Allah tersusun dengan sangat tertib. Silih bergantinya malam dan siang, besar pengaruhnya atas hidup kita dan segala yang bernyawa. Semua ini menjadi tanda-tanda kebesaran dan keagungan Allah bagi orang-orang yang berfikir. Bahwa tidaklah semua terjadi dengan sendirinya, pasti ada yang menciptakan yaitu Allah SWT.

Orang yang melihat dan memikirkan hal itu, akan meninjau menurut bakat pikirannya masing-masing, apakah dia seorang ahli ilmu alam, ahli ilmu pertambangan dan lain-lain. Semua akan terpesona oleh tabir alam yang luar biasa, terasa kecil diri dihadapan kebesaran Allah. Allah SWT memerintahkan manusia untuk mempelajari, memahami dan mengamalkan apa yang terkandung dalam kitab suci Al Qur'an. Diantaranya memahami penciptaan alam semesta agar manusia mengetahui apa saja yang ada di bumi sehingga dapat meningkatkan keimanan dan ketaqwaan kepada Allah SWT.