

# Produksi Enzim Protease Alkalis Termostabil *Aspergillus flavus* DUCC-K225 Pada Media Limbah Cair Tahu dan Uji Keseuaiannya Terhadap Deterjen

Linda Ayu Utami\*, MG. Isworo Rukmi, and Sri Pujiyanto

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang 50275 Indonesia

\*lindaayuutami998@gmail.com

## ABSTRAK

Protease merupakan sekelompok besar enzim yang mampu menghidrolisis protein menjadi asam amino. Enzim ini mampu menyumbang 60% dari total penjualan enzim diseluruh dunia pada berbagai industri seperti industri deterjen. Protease yang digunakan dalam industri deterjen harus stabil pada suhu dan pH basa yang tinggi, atau disebut protease alkalis termostabil. Tujuan dari penelitian ini yaitu, mengetahui pengaruh suhu terhadap aktivitas dan stabilitas enzim protease alkalis *Aspergillus flavus* DUCC-K225, serta uji kesesuaiannya terhadap deterjen komersial. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal suhu inkubasi aktivitas enzim yaitu, 29°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C dengan ulangan 3 kali. Data penelitian dianalisis dengan *Analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Duncan pada taraf uji 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, aktivitas protease tertinggi *A. flavus* DUCC-K225 diperoleh pada suhu 60°C dengan nilai sebesar 215.03 U/mL, enzim protease dari *Aspergillus flavus* DUCC-K225 stabil pada suhu 60°C setelah inkubasi satu jam dengan mempertahankan aktivitas residu sebesar 85.8%. Uji Kesesuaian enzim protease *A. flavus* DUCC-K225 terhadap 5 deterjen komersial yang diujikan, mampu meningkatkan daya pembersihan noda darah pada kain, sehingga dapat digunakan sebagai aditif dalam deterjen.

*Kata kunci: Protease alkalis termostabil, A. flavus DUCC-K225, kesesuaian, deterjen, noda darah*

## ABSTRACT

Protease is a large group of enzymes that can hydrolyze proteins into amino acids. This enzyme can contribute 60% of total enzyme sales throughout the world to various industries such as the detergent industry. Proteases used in the detergent industry must be stable at high temperatures and alkaline pH, or called thermostable alkaline proteases. The purpose of this study was to determine the effect of temperature on the activity and stability of the alkaline protease enzyme *Aspergillus flavus* DUCC-K225, and its suitability test for commercial detergents. This study was conducted with a single randomized design (RAL) single factor enzyme activity incubation temperature, namely, 29°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, and 60°C with repeated 3 times. The research data were analyzed by Analysis of variance (ANOVA) and continued with the Duncan Real Difference Test at the test level of 5%. The results showed that the highest protease activity of *A. flavus* DUCC-K225 was obtained at 60°C with a value of 215.03 U / mL, the protease enzyme from *Aspergillus flavus* DUCC-K225 was stable at 60°C after one hour incubation by maintaining residual activity amounting to 85.8%. Conformity Test of the protease *A. flavus* DUCC-K225 enzyme to 5 commercial detergents tested, can increase the cleaning power of blood stains on the fabric, so that it can be used as an additive in detergent.

*Keywords: Thermostable alkaline proteinase, A. flavus DUCC-K225, compatibility, detergent, blood stain.*

## PENDAHULUAN

Protease adalah enzim yang mampu memecah ikatan peptida protein, untuk menghasilkan asam amino dan peptida lain yang lebih kecil (Oyeleke et al, 2010). Enzim ini merupakan salah satu enzim paling penting dari

industri enzim, dan menyumbang sekitar 60% dari total penjualan enzim di seluruh dunia yang banyak digunakan di berbagai industri, seperti industri deterjen (Chellapandi, 2010). Berdasarkan pH optimumnya protease dapat

digolongkan menjadi 3 yaitu bersifat asam (*acidic*), netral dan basa (*alkaline*).

Enzim protease yang digunakan dalam industri deterjen adalah enzim protease yang mampu aktif dan stabil pada kondisi suhu dan pH yang tinggi atau disebut dengan protease alkalis termostabil (Khan, 2013). Keuntungan penggunaan enzim protease alkalis termostabil dalam industri deterjen adalah, mampu mengkatalis reaksi tanpa menghasilkan produk samping, efisien, selektif, serta mampu meningkatkan efektivitas daya pembersih deterjen (Sharma et al. 2014).

Protease alkalis termostabil dapat dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, misalnya *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan jamur seperti *Aspergillus niger*, *A. flavus*, dan *A. oryzae* (Preetha, 2012). Namun penggunaan jamur dianggap lebih menguntungkan dalam produksi enzim protease, karena biaya produksi yang rendah, produktivitas yang tinggi dan cepat, serta mudah dimodifikasi (Li et al, 2013). Menurut Sharma et al. (2014). Penelitian yang dilakukan oleh Rukmi dkk. (2014) berhasil mendapatkan isolat *Aspergillus flavus* DUCC-K225, suatu kapang termotoleran indigenus diisolasi dari tanah kapur di Desa Sukolilo Barat, Madura, Jawa Timur, yang mampu menghasilkan protease alkalis termostabil dengan aktivitas protease tertinggi pada pH 9 dan suhu 40°C. Penelitian dilanjutkan dengan memodifikasi medium pertumbuhan *A. flavus* DUCC-K225 dengan limbah cair tahu yang potensial sebagai medium produksi enzim protease alkalis, hal ini dapat dilihat dari aktivitas enzim proteasenya sebesar 344.58 U/mL.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu optimal dan stabilitas aktivitas enzim protease alkalis termostabil dari *A. flavus* DUCC-K225, serta uji kesesuaiannya terhadap deterjen. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai suhu inkubasi yang optimal dalam produksi enzim protease alkalis termostabil jamur *Aspergillus flavus* DUCC-K225 yang diproduksi pada medium limbah tahu, serta uji kesesuaiannya terhadap deterjen, guna menekan biaya produksi enzim protease alkalis termostabil dalam bidang industri, khususnya industri deterjen.

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Media Fermentasi Limbah Tahu (Charles et al., 2008)

Media fermentasi dibuat dengan menambahkan sebanyak 10% limbah cair tahu kedalam media yang mengandung; Sukrosa 30 g/L; KCl 0,5 g/L; FeSO<sub>4</sub> 0,01 g/L; MgSO<sub>4</sub> 0,5 g/L; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g/L; dan Kloramfenicol 0,2 g/L. Media yang telah homogen dimasukkan sebanyak 120 ml ke dalam 3 erlenmeyer, selanjutnya disterilisasi pada *autoclave*. *Skim milk* yang telah ditindalisasi pada suhu 60 hingga 70 °C dalam waktu 1 jam selama 3 hari berturut-turut ditambahkan ke dalam masing-masing media sebanyak 5 ml. NaOH 1 N sebanyak 1500 µL ditambahkan ke dalam media untuk mencapai pH 9.

### Pembuatan Inokulum *A. flavus* DUCC-K225

*Aspergillus flavus* DUCC-K225 diinokulasi pada medium PDA dengan jarum tanam, kemudian diremajakan selama 5 hari pada suhu kamar. Tween 80 0,01% dimasukkan ke dalam isolat *Aspergillus flavus* DUCC-K225 yang telah diremajakan di salah satu media miring PDA sebanyak 5 ml, untuk mendapatkan kepadatan spora sejumlah 10<sup>8</sup>/ml.

### Inokulasi, Pemanenan Kultur, Penyaringan dan Pengukuran Biomassa

Sejumlah 1% inokulum spora 10<sup>8</sup>/ml *A. flavus* DUCC-K225, diinokulasikan ke dalam 3 erlenmeyer yang berisi medium fermentasi, kemudian diinkubasi di *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 7 hari. Kultur *A. flavus* DUCC-K225 yang telah melalui tahap fermentasi disaring dengan menggunakan kertas Whatman No. 1. Supernatan yang diperoleh disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang didapatkan diukur absorbansinya, sedangkan propagul yang tersaring dikeringkan di oven pada suhu 70°C selama 3x24 jam, dan ditimbang menggunakan neraca digital.

### Pengukuran Aktivitas Enzim Protease

Enzim protease kasar sebanyak 1 ml ditambahkan dengan 1 ml kasein 2% (dalam buffer Tris HCl 0,1 M dengan pH 8,6). Larutan tersebut diinkubasi pada suhu yang berbeda yaitu

29°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C selama 10 menit, kemudian ditambah dengan 3 ml TCA 10%, diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar. Endapan yang terbentuk, disentrifugasi selama 10 menit. Filtrat enzim sebanyak 1 ml, ditambah dengan 5 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,4 M dan 0,5 ml folin 0,5 M digojog hingga homogen, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 660 nm. Perhitungan aktivitas enzim ditentukan dengan cara:

$$Y = 0,127X + 0,018 \times \frac{Vt}{Ve} \times \frac{Vs}{Va} \times \frac{1}{t} \times Fp$$

Keterangan:

- Y : Absorbansi yang diperoleh  
 X : Aktivitas enzim protease (U/mL)  
 Vt : Campuran enzim dan kasein atau volume total (mL)  
 Ve : Volume enzim yang digunakan (mL)  
 Vs : Volume sampel (mL)  
 Va : Volume analitik yang diambil (mL)  
 T : Waktu inkubasi antara reaksi enzim dan kasein (menit)  
 Fp : Faktor Pengenceran

#### Uji Termostabilitas (Kamoun et al., 2008)

Enzim protease kasar sebanyak 2 mL dipanaskan pada suhu optimum aktivitas enzim protease yang diperoleh selama 1 jam, kemudian sejumlah 1 ml filtrat enzim diukur absorbansinya sesuai dengan Pengukuran Aktivitas Enzim Protease diatas.

#### Uji Aktivitas Enzim Protease pada Deterjen

Deterjen Boom, Daia, So Klin, Rinso, dan Jazz sebanyak 0,7 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades, lalu dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Sejumlah 1 ml larutan deterjen ditambah dengan 1 mL kasein 2% (dalam buffer Tris HCl 0,1 M dengan pH 8,6), kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Langkah selanjutnya dilakukan sesuai dengan Pengukuran Aktivitas Enzim Protease diatas.

#### Uji Kesesuaian terhadap Deterjen

Uji kesesuaian protease alkalis terhadap deterjen mengacu pada penelitian Francois et al. (2015) dengan menguji 5 merek

deterjen komersial (Rinso, Boom, Daia, Jazz, dan SoKlin) yang tersedia di pasaran. Larutan deterjen 0,7/100ml akuades, dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Sebanyak 5,7 ml larutan deterjen dicampur dengan 0,3 ml enzim protease kasar, kemudian diambil sebanyak 1 mL untuk diuji aktivitas proteasenya pada suhu 29°C dan suhu optimum aktivitas enzim yang telah diperoleh sesuai dengan metode diatas.

#### Uji Daya Bersih

Uji daya bersih protease mengacu pada penelitian Niyonzima and More. (2015) dengan menggunakan sepotong kain bersih yang telah ditetesi dengan darah, kemudian kain tersebut dipotong-potong dengan ukuran yang sama (4 cm<sup>2</sup>), lalu direndam dalam larutan sampel meliputi: 50 mL akuades, 1 mL larutan deterjen (0,7 g/100mL), dan 1 mL enzim protease kasar; 51 mL akuades dan 1 ml larutan deterjen(0,7 g/100mL); 51 mL akuades dan 1 mL enzim protease kasar; dan sebagai kontrol potongan kain bernoda hanya direndam dengan 52 mL akuades. Larutan masing-masing sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu 29°C dan suhu optimum yang dihasilkan pada saat produksi aktivitas enzim protease. Potongan kain setelah perendaman, dikeringkan dan diamati perubahan warna noda darah secara visual. Kelarutan noda darah pada potongan kain setiap perlakuan, diukur absorbansinya pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 200 nm.

#### Rancangan Penelitian

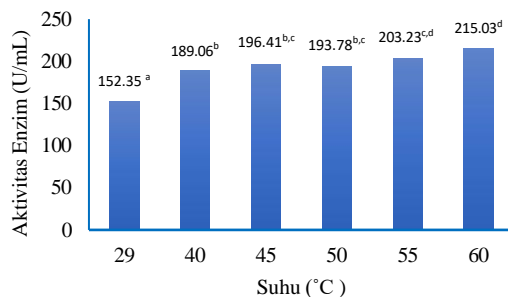
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal. Perlakuan yang dilakukan yaitu suhu (T) pada Uji Aktivitas Enzim Protease, meliputi 29°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C, setiap perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Aktivitas Protease Alkalis *A. flavus* DUCC-K225

Aktivitas enzim disebut juga sebagai kinetik enzim. Kinetik enzim adalah kemampuan enzim dalam membantu reaksi kimia. Penentuan aktivitas enzim lebih tepat dilakukan dengan cara mengukur produk yang dihasilkan, daripada

mengukur berkurangnya substrat. Satu unit aktivitas protease didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang dapat membebaskan 1 μmol tirosin per menit, hal ini didasarkan pada proses hidrolisis substrat kasein menjadi asam amino penyusunnya (Ramadhani, 2015). Rukmi dkk. (2014), telah melakukan pengujian aktivitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 pada medium produksi limbah cair tahu sebagai pengganti sumber nitrogen pada suhu 40°C dengan hasil aktivitas protease sebesar 344.58 U/mL. Uji aktivitas enzim protease yang dilakukan saat ini bertujuan untuk mendapatkan suhu optimum aktivitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 pada suhu yaitu 29°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C (Gambar 1).



Gambar 1. Aktivitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 pada berbagai suhu

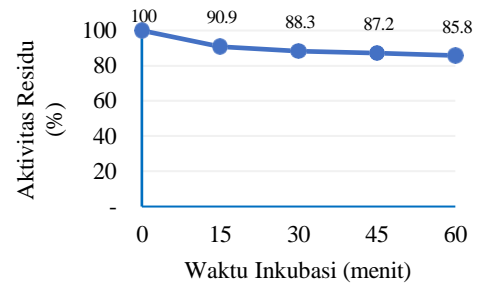
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama, aktivitas enzim *A. flavus* DUCC-K225 menunjukkan perbedaan tidak nyata.

Berdasarkan Gambar 1 diatas dapat diketahui bahwa, aktivitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 akan meningkat seiring dengan bertambahnya suhu inkubasi, sedangkan suhu optimal aktivitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 yaitu 60°C dengan aktivitas enzim sebesar 215,03 U/mL. Hal ini dapat dilihat dari perlakuan pada suhu 60°C yang memiliki perbedaan nyata dengan seluruh perlakuan suhu, dan memiliki perbedaan yang tidak nyata dengan suhu 55°C sehingga enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 termasuk enzim yang mampu aktif pada suhu yang tinggi.

### Stabilitas Enzim Protease Alkalis *A. flavus* DUCC-K225

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas enzim protease alkalis *A.*

*flavus* DUCC-K225 pada suhu yang relatif tinggi. Suhu yang digunakan untuk pengujian ini adalah suhu optimum yang telah diperoleh dari pengujian aktivitas enzim protease alkalis yaitu suhu 60°C. Hasil stabilitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Stabilitas enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 pada suhu 60°C selama 1 jam

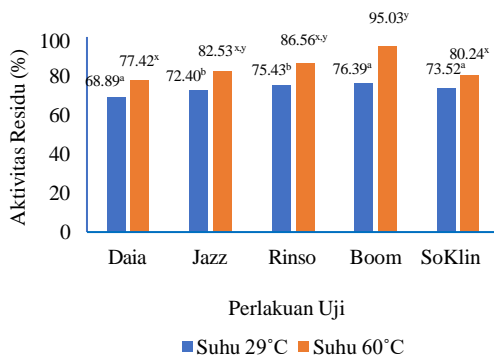
Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa, enzim protease alkalis jamur *A. flavus* DUCC-K225 mampu mempertahankan aktivitas proteasenya setelah 60 menit inkubasi pada suhu 60°C sebesar 85,8%, sehingga enzim protease yang dihasilkan oleh *A. flavus* DUCC-K225 termasuk kedalam enzim protease alkalis termostabil. Penelitian yang dilakukan oleh Yadav *et al.* (2011) menyatakan bahwa, penginkubasian enzim protease *Aspergillus flavus* selama 1 jam pada suhu 40°C, menghasilkan aktivitas residu sebesar 96%, sedangkan pada suhu 45°C dan 55°C, aktivitas residu protease sebesar 84% dan 53%. Penelitian lain juga dilakukan pada jamur *Aspergillus parasiticus*, enzim protease yang dihasilkan jamur ini mampu stabil pada suhu 40°C selama 1 jam inkubasi, serta jamur *Aspergillus fumigatus* TKU003 yang mampu mempertahankan aktivitas proteasenya sebesar 25% pada suhu 50°C dan 47% pada suhu 60°C (Nirmal and Laxman, 2014).

### Kesesuaian Protease Alkalis *A. flavus* DUCC-K225 terhadap Deterjen

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemungkinan enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 sebagai bahan aditif yang dapat ditambahkan kedalam deterjen

komersial. Pengujian ini dilakukan pada 5 jenis deterjen komersial yaitu deterjen Daia, Jazz, Rinso, Boom, dan So Klin. Enzim protease memiliki aplikasi yang luas dalam formulasi deterjen guna meningkatkan pembersihan noda protein seperti keratin, darah, telur, susu, dan saus (Ribitsch, 2013).

Banik and Prakash (2004) menyatakan bahwa, persiapan enzim yang digunakan dalam deterjen tergantung pada kesesuaiannya dengan deterjen pada pH basa yang luas, dan kisaran suhu. Enzim deterjen yang ideal harus stabil dan aktif dalam larutan deterjen untuk periode waktu yang lebih lama dan harus memiliki stabilitas suhu yang memadai agar efektif dalam berbagai suhu pencucian. Selain itu Furhan and Sharma (2014) menyatakan bahwa, ada banyak parameter yang terlibat dalam pemilihan protease deterjen yang baik, seperti kesesuaiannya dengan komponen deterjen seperti surfaktan, parfum dan pemutih, kesesuaiannya dengan kekuatan ionik larutan deterjen, degradasi dan potensi penghilangan noda, stabilitas dan umur simpan. Aktivitas residu enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 pada perlakuan suhu dan jenis deterjen yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kesesuaian enzim protease alkalis *A. flavus* DUCC-K225 dengan deterjen lokal

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap perlakuan suhu, aktivitas enzim *A. flavus* DUCC-K225 menunjukkan perbedaan tidak nyata.

Berdasarkan Gambar 3 terlihat bahwa, enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 mampu stabil dalam semua jenis deterjen yang diujikan, serta memiliki tingkat keefektifan pada suhu 60°C dibandingkan dengan

suhu 29°C. Hal ini menunjukkan bahwa, efektifitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 dengan deterjen yang diujikan pada suhu 60°C sesuai dengan suhu optimal aktivitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 yang diperoleh. Faktor yang mempengaruhi tingkat efektifitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 terhadap deterjen yang diujikan adalah perbedaan kandungan pH deterjen yang berbeda. pH dari deterjen Boom sebesar 11,0, Rinso 11,1, Jazz 11,2, Soklin 11,4, dan Daia 11,5. Hal ini menunjukkan bahwa enzim protease alkalis termostabil mampu aktif dalam deterjen yang diujikan dengan kondisi pH deterjen yang basa. Niyonzima and More (2015) menyatakan bahwa, enzim protease alkalis itu tidak aktif pada pH rendah dan aktif secara luas pada rentang pH basa (8.0-12.0) dengan aktivitas maksimum pada pH 11,0.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap efektifitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K22 pada berbagai jenis deterjen adalah kandungan surfaktan yang terdapat dalam deterjen. Surfaktan adalah komponen utama yang bertanggung jawab untuk aksi pembersihan deterjen. Jenis surfaktan pada deterjen Boom, So Klin dan Rinso adalah Linier Alkyl Sulfonat (LAS) dengan kadar 26%, 25%, dan 22%, deterjen Daia mengandung jenis surfaktan Alkyl Benzene Sulfonat (ABS) dengan kadar 29%, sedangkan deterjen Jazz mengandung 17% surfaktan yang belum diketahui jenisnya (Syahra, 2004).

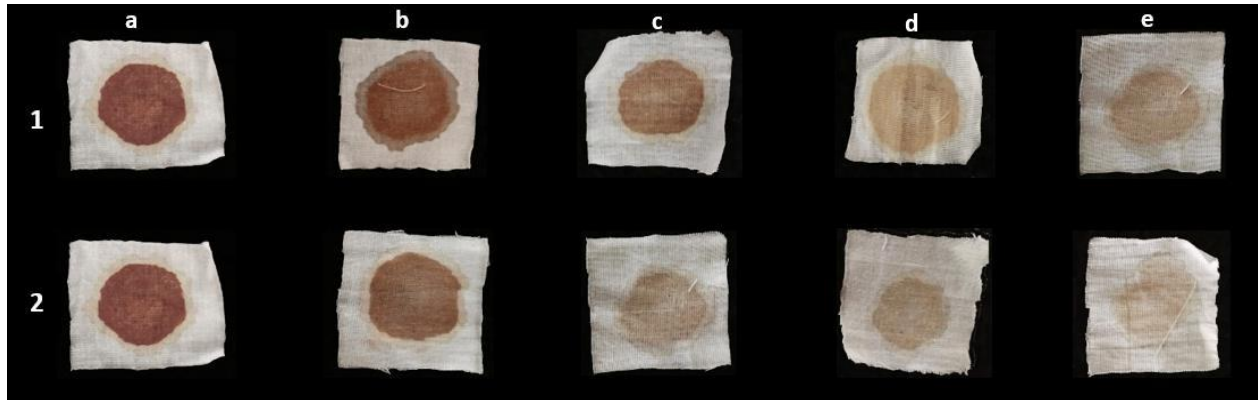
Menurut Violeta and Miroslav (2017), surfaktan yang biasa digunakan sebagai bahan utama deterjen komersial adalah linear alkyl-benzene sulfonate (LASs) (anionik) dan alkohol teretoksilasi (AE) (nonionik). Penelitian yang dilakukan oleh Barberis, et al., (2013) membuktikan bahwa, aktivitas protease meningkat atau bertahan secara konstan ketika konsentrasi surfaktan anionik juga meningkat. Oleh karena itu, efektifitas enzim protease alkalis termostabil dari *A. flavus* DUCC-K225 memiliki tingkat kesesuaian tertinggi pada deterjen Boom dibandingkan dengan 4 jenis deterjen lainnya, hal ini dikarenakan pada deterjen Boom mengandung jenis surfaktan LAS dengan kadar yang tinggi, sehingga mampu membantu meningkatkan konsentrasi aktivitas enzim protease alkalis

termostabil *A. flavus* DUCC-K255 jika digunakan sebagai aditif pengganti protease sintetik dalam deterjen tersebut.

### Daya Bersih

Pengujian daya bersih bertujuan untuk mengetahui tingkat efektivitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 yang telah ditambahkan dalam deterjen komersial dalam membersihkan noda protein seperti noda

darah. Pengujian daya bersih ini dilakukan pada suhu 29°C dan 60°C. Suhu 29°C merupakan suhu air biasa atau suhu normal yang digunakan dalam proses pencucian, sedangkan pada suhu 60°C digunakan, karena aktivitas enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225 optimum pada suhu tersebut. Hasil pengamatan pembersihan kain bernoda darah terbaik terdapat pada perlakuan penambahan enzim protease pada deterjen Boom dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pembersihan noda darah pada kain katun

Baris: 1. Suhu 29°C, 2. Suhu 60°C

Kolom: a. Kontrol (tanpa Perlakuan), b. Akuades, c. Akuades dengan larutan deterjen Boom (7mg/ml), d. akuades dengan Enzim kasar, e. Akuades dengan larutan deterjen Boom (7mg/ml) + 1 ml Enzim Kasar

Berdasarkan Gambar 4 terlihat bahwa, pembersihan noda darah terbaik secara keseluruhan terjadi pada perlakuan sampel yang berisi air, larutan deterjen, dan enzim protease alkalis termostabil *A. flavus* DUCC-K225. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Choudhary (2012) bahwa efisiensi alkali protease yang dihasilkan dari *Aspergillus versicolor* PF/F/107 diuji untuk menghilangkan noda darah pada kain yang berbeda. Enzim tersebut mampu membersihkan kain bernoda secara efisien jika dicampur dengan deterjen. Niyonzima and More (2015) menyatakan bahwa, noda darah lebih cepat hilang dengan menggunakan larutan deterjen yang telah ditambah dengan protease dari *Aspergillus terreus*. Dengan demikian, hasil tersebut jelas menunjukkan bahwa penambahan enzim ke deterjen komersial akan meningkatkan kinerja deterjen secara signifikan dalam proses menghilangkan noda darah dan dapat digunakan sebagai aditif dalam pembuatan deterjen pembersih pada skala industri.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa, Suhu optimum aktivitas enzim protease alkalis termostabil yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus* DUCC-K225 yaitu pada suhu 60°C. Enzim protease alkalis yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus* DUCC-K225 ini, termasuk enzim yang stabil dalam suhu 60°C selama 1 jam dengan aktivitas residu sebesar 85,8%. Enzim protease alkalis termostabil *Aspergillus flavus* DUCC-K225 stabil dalam 5 jenis deterjen komersial yang diujikan, sehingga dapat digunakan sebagai aditif dalam deterjen.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Banik, Rathindra Mohan. and Prakash Monika. 2004. Laundry detergent compatibility of the alkaline protease from *Bacillus cereus*. *J. of Microbiol Research*. 2: 135-140.
- Barberis, Sonia. Quiroga, Evelina. Barcia, Cristina. and Liggieri, Constanza. 2013. Effect of Laundry Detergent Formulation on The Performance of Alkaline Phytoproteases. *Electronic J. of Biotechnol*. 3: 0717-3458.
- Charles, P. V. Devanathan, Periasamy Anbu, M. N. Ponnuswamy, P. T. Kalaichelvan and Byung-Ki Hur. 2008. Purification, characterization and crystallization of an extracellular alkaline protease from *Aspergillus nidulans* HA-10. *J. of Basic Microbiolog*. 48: 347–352.
- Chellapandi, P. 2010. Production and Preliminary Characterization of Alkaline Protease from *Aspergillus flavus* and *Aspergillus terreus*. *J. Chemis*. 7: 479-482.
- Choudhary, Vaishali. 2012. Compatibility with commercial detergents and stain removal capability of *Aspergillus versicolor* protease. *J. Acad. Indus*. 6: 301-305.
- Furhan, Junaid and Sharma, Sarika. 2014. Microbial Alkaline Proteases: Findings and Applications. *International J. of Inventions in Pharmaceutical Sciences*. 4: 823-834.
- Kamoun, Alya Sellami. Haddar, Anissa. El-Hadj, Ali Nedra. Ghorbel-Frika, Basma. Kanoun, Safia. Nasri, Moncef. 2008. Stability of Thermostable Alkaline Protease from *Bacillus licheniformis* RP1 in Comercial Solid Laundry Detergent Formulations. *Mocrobiol Research*. 163: 299-306.
- Khan, F. 2013. New Microbial Protease in Laether and Detergent Industries. *Innovative Research in Chemis*. 1: 1-6.
- Li-Jung Yin, Ya-Hui Chou, and Shamm-Tzong Jiang. 2013. Purification and Characterization Acidic protease from *Aspergillus oryzae* BCRC 20118. *Int. J, Marine Science and Technol*. 21: 105-110.
- Nirmal, Nilesh P. And R. Seeta Laxman. 2014. Enhanced Thermostability of a Fungal Alkaline Protease by Different Additives. *Enzyme Research*. 1: 1-8.
- Nirmal. N P, Shankar. S, and Laxman, R.S. 2011. Fungal Proteases: An Overview. *J. Biotech & Biosci*. 2: 1-40.
- Niyonzima, Francois N. and More, Sunil S. 2015. Purification and characterization of detergent-compatible protease from *Aspergillus terreus* gr. *Biotech*. 5:61–70.
- Oyeleke, S. B. 2010. Screening of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* strains for extracellular protease enzyme Production. *J. Microbiol and Antimicrobiol*. 5: 83-87.
- Preetha, P. 2012. Comperative study on production of the alkaline protease enzyme from free and immobilized mycellia of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *Discovery life*. 1: 18-25.
- Ramadhani, Putri. MG. Isworo Rukmi. Sri Pujiyanto. 2015. Produksi Enzim Protease dari *A. niger* PAM18A dengan Variasi pH dan Waktu Inkubasi. *J. Biologi*. 2: 25-34.
- Ribitsch, K. 2013. *Application of Alkaline Protease Enzyme from Isolated Bacterial Strain*. Chennai: Centre for Reasearch: Anna University.
- Rukmi, Wuryanti, Lunggani. 2014. *Laporan Akhir: Eksplorasi dan Karakterisasi Jamur Alkalofilik Toleran Indigenus dari Tanah Kapur di Daerah Sukolilo Barat Madura Sebagai Penghasil Ensim Protease Alkalis untuk Industri*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Sharma, J. F. 2014. Microbial Alkaline Protease: Findings and Applications. *International J. Inventions in Pharmaceutical Sciences*. 5: 23-834.
- Violeta D. Jakovljević and Miroslav M. Vrvic. 2017. The Potential Application of Selected Fungi Strains in Removal of Commercial Detergents and Biotechnology. *Intech*. 8: 233-258.
- Yadaf, Santosh Kumar. Bisht, Deepali. Shikha and Nandan Singh Darmwal. 2011. Oxidant and solvent stable alkaline protease from *Aspergillus flavus* and its characterization. *J. of Biotechnol*. 10: 8630-8640.