

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS PROTEASE PADA  
PH BERBEDA DARI BAKTERI ASAL TANAH KAWASAN  
TAMAN NASIONAL GUNUNG MERAPI**

**Skripsi**

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat  
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**Kurnia Nur Khamimah  
3425163229**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA  
2023**

## ABSTRAK

**KURNIA NUR KHAMIMAH.** Identifikasi dan Uji Aktivitas Enzim Protease pada pH Berbeda dari Bakteri Asal Tanah Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi. Dibawah bimbingan TRI HANDAYANI KURNIATI, SRI RAHAYU.

Protease merupakan enzim yang mengkatalisasi pemecahan ikatan peptida dalam protein. Enzim tersebut memiliki nilai ekonomi yang tinggi, karena penggunaannya yang luas diberbagai bidang industri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui jenis bakteri yang diisolasi dari tanah asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi serta mengetahui aktivitas proteasenya pada pengaruh pH. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif meliputi tahapan skrining dan identifikasi isolat bakteri proteolitik, dan metode eksperimental dilakukan pada tahap uji aktivitas protease pada variasi pH 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0, menggunakan rancangan acak lengkap. Tahapan penelitian meliputi skrining berdasarkan indeks proteolitik, karakterisasi morfologi dan biokimia, identifikasi molekuler, dan uji aktivitas protease dengan pengaruh pH yang berbeda. Berdasarkan hasil pengukuran indeks proteolitik, diperoleh tiga bakteri yang memiliki nilai indeks terbesar, yaitu TKK1A, TKK3B, dan TN2A. Hasil karakterisasi ketiga bakteri merupakan Gram positif. Analisis uji biokimia isolat TKK1A bereaksi positif pada uji VP dan oksidasi, isolat TKK3B dan TN2A bereaksi negatif pada uji indol, metil merah, VP, sitrat, oksidasi. Analisis sekuen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat TKK1A, TKK3B, dan TN2A secara berurut teridentifikasi sebagai *Bacillus tequilensis* (99,62%), *Priestia aryabhatai* (100%), *Priestia megaterium* (99,92%). Hasil ANAVA dua arah menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata jenis isolat terhadap aktivitas protease, namun pada pH menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap aktivitas protease yang dihasilkan. Berdasarkan uji DMRT 5%, aktivitas protease tertinggi terdapat pada pH 8 yaitu sebesar 0,0318 U/mL dan terendah pada pH 6,5 sebesar 0,0256 U/mL. Jenis bakteri yang diperoleh pada penelitian ini menghasilkan enzim protease yang bersifat alkali dengan pH optimum 8, dan dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan kimia untuk diaplikasikan pada berbagai bidang industri.

**Kata Kunci.** *Bacillus tequilensis*, Enzim Protease, Gunung Merapi, *Priestia sp.*, Tanah

## ABSTRACT

**KURNIA NUR KHAMIMAH.** Identification and Protease Enzyme Activity at Different pH of Bacterial from Soil Mount Merapi National Park Area. Under the guidance of TRI HANDAYANI KURNIATI, SRI RAHAYU.

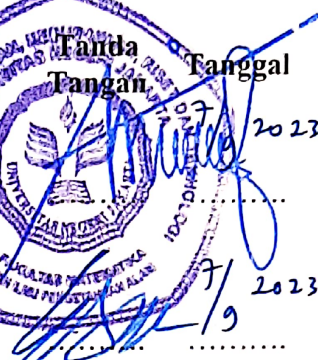
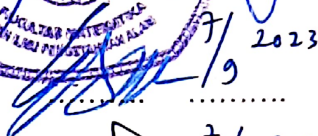
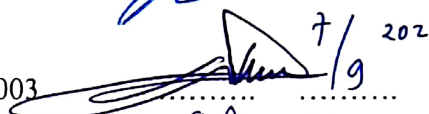
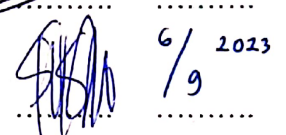
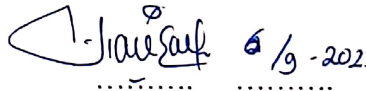
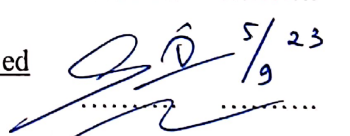

Proteases are enzymes that catalyze the breakdown of peptide bonds in proteins. This enzyme has a high economic value, because of its wide use in various industrial fields. The purpose of this study was to determine the type of bacteria isolated from the soil of origin of Mount Merapi National Park and to determine their protease activity on the influence of pH. The method used in this study was descriptive which included screening and identification of proteolytic bacteria isolates, and the experimental method was carried out at the protease activity test stage at a variation of pH 5.5; 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; and 8.0, using a completely randomized design. The stages of the research included screening based on proteolytic index, morphological and biochemical characterization, molecular identification, and testing of protease activity with different pH influences. Based on the results of measuring the proteolytic index, three bacteria with the highest index values were obtained, namely TKK1A, TKK3B, and TN2A. The results of the characterization of the three bacteria were Gram-positive. Biochemical test analysis of TKK1A isolates reacted positive to the VP and oxidation tests, and TKK3B and TN2A isolates reacted negative to the indole, methyl red, VP, citrate, and oxidation tests. 16S rRNA sequence analysis showed that isolates TKK1A, TKK3B, and TN2A were identified as *Bacillus tequilensis* (99.62%), *Priestia aryabhatai* (100%), and *Priestia megaterium* (99.92%) respectively. Two-way ANOVA results showed no significant effect of the type of isolate on protease activity, but the pH showed a significant effect on the resulting protease activity. Based on the 5% DMRT test, the highest protease activity was at pH 8 which was 0.0318 U/mL and the lowest at pH 6.5 was 0.0256 U/mL. The types of bacteria obtained in this study produce protease enzymes that are alkaline have an optimum pH of 8, and can be used as an alternative to chemicals for application in various industrial fields.

**Keywords.** *Bacillus tequilensis*, *Protease Enzyme*, *Merapi Mount*, *Priestia sp.*, *Soil*

LEMBAR PENGESAHAN

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE PADA  
PH BERBEDA DARI BAKTERI ASAL TANAH KAWASAN  
TAMAN NASIONAL GUNUNG MERAPI

Nama : Kurnia Nur Khamimah  
Nomor Registrasi : 3425163229

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			
Dekan	: <u>Prof. Dr. Muktiningsih N, M.S.</u> NIP. 19640511 198903 2 001		20/23
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: <u>Dr. Esmar Budi, S.Si., MT.</u> NIP. 19720728 199903 1 002		7/2023
Ketua	: <u>Dr. Adisyahputra, M.S.</u> NIP. 19601111 198703 1 003		7/2023
Sekretaris/Penguji I	: <u>Dr. Dalia Sukmawati, M.Si</u> NIP. 19730914 200604 2 001		6/2023
Anggota			
Pembimbing I	: <u>Dr. Tri Handayani K., M.Si</u> NIP. 19660316 199203 2 001		6/9-2023
Pembimbing II	: <u>Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed</u> NIP. 19790925 200501 2 002		5/23
Penguji II	: <u>Rizky Priambodo, M.Si</u> NIP. 19891223 201903 1 014		06/2023

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 23 Agustus 2023

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **“Identifikasi dan Uji Aktivitas Enzim Protease pada pH Berbeda dari Bakteri Asal Tanah Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi”** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulisan lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah, dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 31 Agustus 2023



Kurnia Nur Khamimah



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA  
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220  
Telepon/Faksimili: 021-4894221  
Laman: [lib.unj.ac.id](http://lib.unj.ac.id)

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : KURNIA NUR KHAMIMAH  
NIM : 3425163229  
Fakultas/Prodi : MATEMATIKA DAN IPA / BIOLOGI  
Alamat email : kurniakhamimah@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

Skripsi     Tesis     Disertasi     Lain-lain (.....)

yang berjudul :

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS PROTEASE PADA PH BERBEDA  
DARI BAKTERI ASAL TANAH KAWASAN TAMAN NASIONAL  
GUNUNG MERAPI


Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta

Penulis

  
(KURNIA NUR KHAMIMAH)  
nama dan tanda tangan

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Identifikasi dan Uji Aktivitas Enzim Protease pada pH Berbeda dari Bakteri Asal Tanah Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi”** dengan baik. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari bahwa hingga terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari berbagai pihak yang telah memotivasi, membantu, dan mendukung. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si. selaku dosen pembimbing satu dan Ibu Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed. selaku dosen pembimbing dua, yang telah memberikan arahan, dukungan, serta mendampingi dengan tulus hingga skripsi ini terselesaikan. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada dosen penguji yaitu, Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si. dan Bapak Rizky Priambodo, M.Si. selaku dosen penguji dua yang telah memberikan arahan serta masukkan dalam perbaikan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Adisyahputra, M.S. selaku ketua sidang. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Agung Sedayu, M.Sc. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan selama penulis menjalani perkuliahan, Ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si. selaku Koordinator Program Studi Biologi yang telah membantu penulis selama penyelesaian studi, dan seluruh staf Laboratorium Biologi yaitu, Ibu Deselina Ferdinandus, Kak Leni, Kak Sayid Ramadhan, Bapak Isnin Noer, dan Bapak Ishak yang telah membantu penulis dalam menyediakan alat serta bahan selama penelitian berlangsung.

Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Mujiyono dan Ibu Titin Ekoningsih selaku orangtua penulis yang selalu memberikan cinta dan kasih, mendoakan, memotivasi, serta memberikan dukungan baik secara lahiriah dan batiniah. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan peminatan Mikrobiologi yaitu Sany, Hera, Ocha, Dessy, Bani, Disa, Naomi, Awal, dan adik-

adik Biologi 2018 yang selalu memberikan bantuan dan saran kepada penulis. Selain itu, terima kasih juga penulis ucapkan kepada rekan Biologi angkatan 2016, khususnya teman terdekat penulis “Sleding” yaitu Sany, Isfi, Atika, Qonita, Dhona, Septi, Alma, dan Hasna yang selalu mendoakan, menghibur, mendukung, mendengarkan keluh kesah dan memotivasi hingga skripsi ini terselesaikan. Penulis berterima kasih pula kepada Rio Rezaldy atas segala doa, bantuan, kesabaran, dan motivasi kepada penulis, dan tidak lupa juga kepada saya selaku penulis yang sudah bekerja keras, berusaha, dan bertahan hingga akhir pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penulisan masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan demi pengembangan dan perbaikan skripsi ini di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat dijadikan gambaran dan memberikan manfaat bagi pembaca serta dapat digunakan sebaik-baiknya.

Jakarta, Agustus 2023

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b>	
A. Enzim Protease .....	5
B. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Protease .....	6
C. Bakteri Penghasil Enzim Protease .....	7
D. Aplikasi Protease dalam Bidang Industri .....	7
E. Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi .....	8
F. Identifikasi Gen 16S rRNA .....	10
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. Tempat dan Waktu Penelitian .....	12
B. Metode Penelitian .....	12
1. Isolat Bakteri .....	13
2. Alat dan Bahan .....	13
3. Prosedur Penelitian .....	14
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data .....	19
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Skrining Isolat Bakteri Proteolitik Berdasarkan Indeks Proteolitik .....	20
B. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Proteolitik .....	23
C. Karakteristik Biokimia Isolat Bakteri Proteolitik .....	24
D. Identitas Isolat Bakteri Proteolitik .....	31
E. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim Protease .....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan .....	44
B. Saran .....	44
DAFTAR PUSTAKA .....	45
LAMPIRAN .....	61
DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....	76

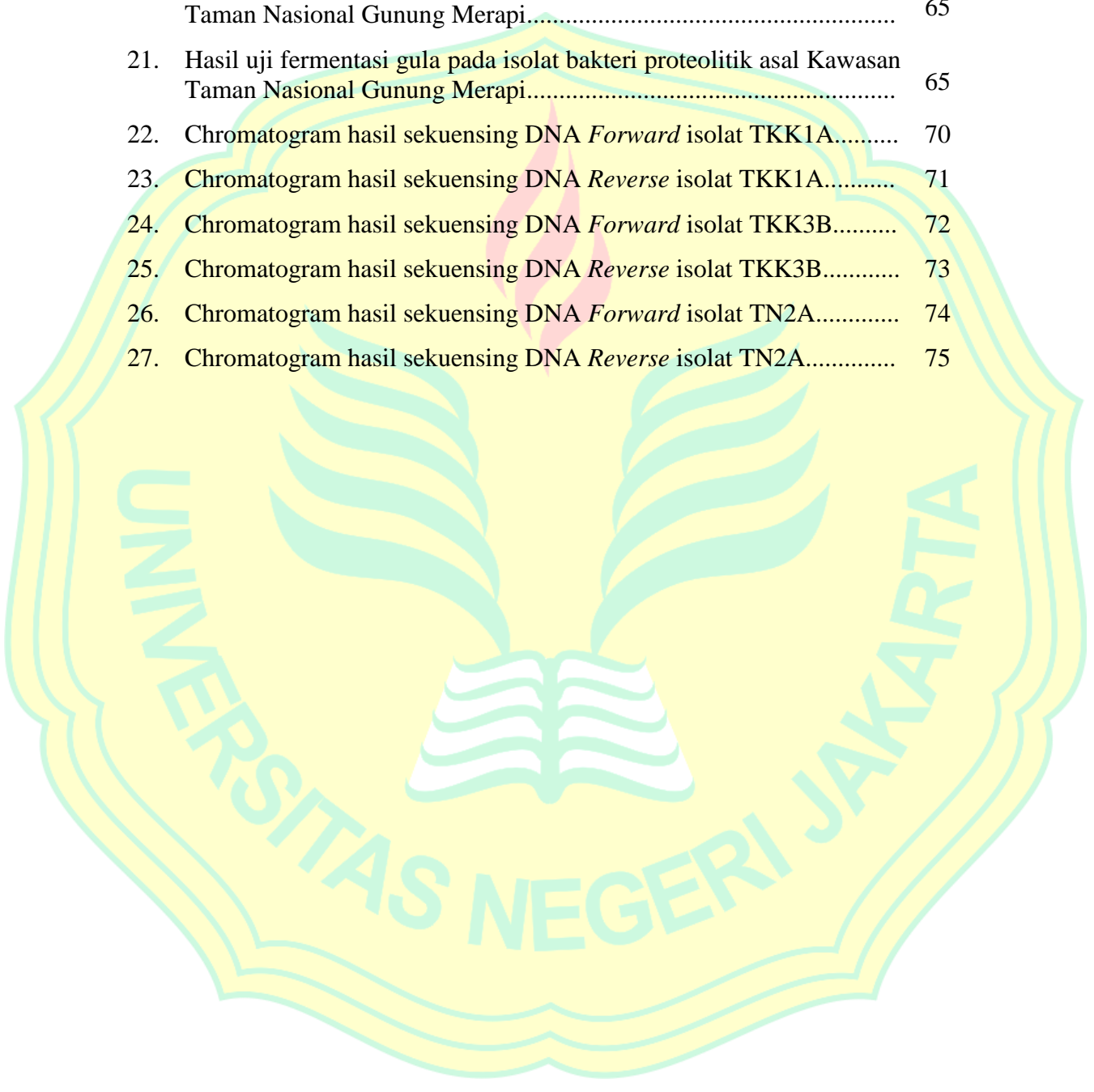
## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kombinasi perlakuan isolat bakteri dan variasi pH terhadap aktivitas enzim protease.....	13
2. Karakteristik morfologi isolat bakteri proteolitik asal tanah kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	23
3. Karakteristik biokimia isolat bakteri proteolitik asal tanah kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	25
4. Hasil identifikasi isolat bakteri proteolitik berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA dengan program BLAST.....	33
5. Hasil uji DMRT pengaruh pH terhadap aktivitas protease bakteri proteolitik asal Taman Nasional Gunung Merapi.....	41
6. Nilai rata-rata indeks proteolitik isolat bakteri asal tanah kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	66
7. Konsentrasi larutan standar tirosin dan nilai absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm.....	67
8. Hasil uji ANAVA dua arah pengaruh isolat bakteri dan pH terhadap aktivitas protease bakteri proteolitik.....	68
9. Hasil uji DMRT pengaruh pH terhadap aktivitas protease.....	69

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Taman Nasional Gunung Merapi.....	9
2. Bagan alir penelitian.....	14
3. Isolat TN2A pada media <i>Skim Milk Agar</i> , inkubasi selama 24 jam.....	21
4. Nilai rata-rata indeks proteolitik isolat bakteri asal tanah kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	22
5. Reaksi uji indol.....	26
6. Reaksi uji metil merah.....	27
7. Reaksi uji Vogues-Proskauer (VP).....	28
8. Reaksi uji sitrat.....	29
9. Reaksi uji oksidasi.....	30
10. Visualisasi amplicon sekuen 16S rRNA yang diamplifikasi dari isolat bakteri proteolitik asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi (1kb) DNA ladder 1kb, (1) isolat TKK1A, (2) isolat TKK3B, (3) isolat TN2A.....	32
11. Pohon filogenetik isolat TKK1A berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA menggunakan metode Neighbour Joining (NJ) dengan <i>bootstrap</i> 1000x.....	35
12. Pohon filogenetik isolat TKK3B berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA menggunakan metode Neighbour Joining (NJ) dengan <i>bootstrap</i> 1000x.....	36
13. Pohon filogenetik isolat TN2A berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA menggunakan metode Neighbour Joining (NJ) dengan <i>bootstrap</i> 1000x.....	37
14. Kurva Standar Tirosin.....	40
15. Zona bening yang dihasilkan isolat bakteri proteolitik pada media <i>Skim Milk Agar</i> . (a) TKK1A, (b) TKK1C, (c) TKK2A, (d) TKK3B, (e) TN2A, (f) TN2B, (g) TN2C.....	62
16. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri proteolitik TKK1A, TKK1C, TKK2A, TKK3B, TN2A, TN2B, dan TN2C.....	63
17. Hasil uji indol pada media SIM Agar isolat bakteri asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	64

18.	Hasil uji sitrat pada media <i>Simmon's Citrate Agar</i> isolat bakteri asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	64
19.	Hasil uji (1) metil merah, (2) VP pada isolat bakteri proteolitik asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	65
20.	Hasil uji oksidasi pada isolat bakteri proteolitik asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	65
21.	Hasil uji fermentasi gula pada isolat bakteri proteolitik asal Kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	65
22.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Forward</i> isolat TTK1A.....	70
23.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Reverse</i> isolat TTK1A.....	71
24.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Forward</i> isolat TTK3B.....	72
25.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Reverse</i> isolat TTK3B.....	73
26.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Forward</i> isolat TN2A.....	74
27.	Chromatogram hasil sekuensing DNA <i>Reverse</i> isolat TN2A.....	75



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Cara pembuatan media.....	61
2. Dokumentasi hasil pengukuran indeks proteolitik isolat bakteri penghasil protease asal kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	62
3. Dokumentasi hasil karakterisasi isolat bakteri penghasil protease asal kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	63
4. Dokumentasi hasil uji biokimia isolat bakteri penghasil protease asal kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	64
5. Hasil dan pengolahan data indeks proteolitik isolat bakteri penghasil protease asal kawasan Taman Nasional Gunung Merapi.....	66
6. Hasil pembuatan kurva standar tirosin.....	67
7. Analisis statistik aktivitas protease pada pH yang berbeda.....	68
8. Hasil sekuensing isolat TKK1A, TKK3B, dan TN2A.....	70

