

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science

**OPTIMIZATION OF PROTEASE FROM *ASPERGILLUS NIGER* IN SOLID STATE FERMENTATION FOR ENZYMATIC TREATMENT OF AQUACULTURE SLUDGE**

**OOI CHEE KUAN**

**FEBRUARY 2021**

**Main Supervisor : Nazaitulshila binti Rasit, Ph.D**

**Co-Supervisor : Wan Rafizah binti Wan Abdullah @ Wan Abd. Rahman, Ph.D**

**Faculty : Faculty of Ocean Engineering Technology and Informatics**

Proteases or proteolytic enzymes, has high potential to be applied in wastewater treatment and improve sludge dewatering. Hence, the ultimate aim of this study is to produce and characterize protease from *Aspergillus niger* under solid-state fermentation (SSF) by utilizing shrimp shell powder as solid substrate. The produced protease was applied for enzymatic treatment to reduce organic matter and micropollutants in aquaculture sludge based on selected parameters. It was found that the produced protease from SSF was slightly alkaline. The correlation between factors operating parameters (incubation temperature, inoculum size, moisture content) for the production of enzyme are analysed using statistical software, Minitab 16. A 2<sup>3</sup> full factorial experimental design was employed and the enzyme produced was optimized by the method of desirability function. The optimal conditions for protease production of 3.7 U/mg were 35 °C of incubation temperature, 60% of initial moisture content and 1.0 of inoculum size. It was found that aquaculture sludge collected contained high total suspended solids (TSS) and chemical oxygen demand (COD), which were 8280 mg/L and 5866.67 mg/L respectively. SSF protease and commercial protease was applied for enzymatic treatment of this aquaculture sludge by batch test for seven days. Results obtained indicated that protease from SSF was able to remove 79.63% of TSS and 67.27% of COD while

commercial protease was able to remove 73.95% of TSS and 92.32% of COD. It is concluded that through SSF, protease was successfully produced from *Aspergillus niger* by utilizing shrimp waste as substrate. Through optimization study, moisture content, interaction between incubation temperature and moisture content, interaction between moisture content and inoculum size have significant impact for the production of protease. It is also deduced that the protease produced was effectively degraded the TSS and COD with cost effective compared to commercial protease. It is hoped that the findings of this research can exhibit good fundamental knowledge in improving proteases production and aquaculture sludge management.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu  
sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains

**PENGOPTIMUMAN PROTEASE DARI *ASPERGILLUS NIGER* DI BAWAH  
PENAPAIAN KEADAAN PEPEJAL UNTUK RAWATAN ENZIMATIK  
ATAS ENAPCEMAR AQUAKULTUR**

**OOI CHEE KUAN**

**FEBRUARI 2021**

**Penyelia utama : Nazaitulshila binti Rasit, Ph.D**

**Penyelia bersama : Wan Rafizah binti Wan Abdullah @ Wan Abd.  
Rahman, Ph.D**

**Fakulti : Fakulti Teknologi Kejuruteraan Kelautan dan Informatik**

Proteases atau enzim proteolitik, mempunyai potensi yang tinggi untuk digunakan dalam rawatan sisa dan meningkatkan penyahairan enapcemar. Oleh itu, tujuan utama kajian ini adalah untuk menghasilkan enzim protease dari *Aspergillus niger* di bawah penapaian keadaan pepejal (SSF) dengan menggunakan serbuk kulit udang sebagai substrat pepejal. Protease yang dihasil telah diaplikasi untuk rawatan enzim untuk mengurangkan bahan organik dan bahan pencemar mikro dalam enapcemar akuakultur berdasarkan parameter yang dipilih. Diselidik bahawa protease berpotensi dihasilkan dari SSF dan enzim ini adalah sedikit alkali. Korelasi antara parameter faktor operasi (suhu inkubasi, saiz inokulum, kandungan kelembapan) untuk penghasilan enzim dianalisis menggunakan perisian statistik, iaitu Minitab 16. Reka bentuk eksperimen penuh dengan faktor  $2^3$  telah digunakan dan enzim yang dihasil dioptimumkan dengan kaedah 'desirability function'. Keadaan optimum untuk pengeluaran protease untuk kepekatan 3.7 U/mg adalah suhu inkubasi 35°C, kandungan lembapan permulaan 60% dan saiz inokulum 1.0. Telah didapati bahawa enapcemar akuakultur yang dikumpulkan mengandungi jumlah pepejal terampai (TSS) dan keperluan oksigen kimia (COD) yang tinggi, iaitu 8280 mg/L dan 5866.67 mg/L masing-masing. Protease SSF dan protease komersial diaplikasi untuk rawatan enzim kepada enapcemar akuakultur ini selama tujuh hari melalui ujian kelompok. Hasil daripada kajian menunjukkan bahawa protease dari SSF mampu mengurangkan

79.63% daripada TSS dan 67.27% COD manakala protease pembelian secara komersil mampu mengurangkan 73.95% TSS dan 92.32% COD. Disimpulkan bahawa melalui SSF, protease berpotensi dihasilkan dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan sisa udang sebagai substrat. Melalui kajian pengoptimuman, kandungan kelembapan, interaksi antara suhu inkubasi dan kandungan kelembapan, interaksi antara kandungan kelembapan dan saiz inokulum mempunyai impak yang ketara bagi penghasilan protease. Juga disimpulkan bahawa protease yang dihasilkan mampu menurunkan TSS dan COD secara efektif dan lebih kos efektif berbanding dengan protease komersil. Diharapkan bahawa penemuan penyelidikan ini dapat mempamerkan pengetahuan asas yang baik dalam meningkatkan penghasilan protease dan pengurusan enapcemar akuakultur.