

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini bidang industri mengalami perkembangan pesat karena pemanfaatan enzim di berbagai bidang. Pemakaian enzim sebagai biokatalisator yang sifatnya efisien, selektif, mengkatalisis reaksi tanpa produk samping dan ramah lingkungan menjadikan enzim sebagai salah satu hal penting dalam perkembangan industri. Kemajuan dalam bioteknologi, teknologi fermentasi, rekayasa genetika dan aplikasi enzim menyebabkan penggunaan enzim semakin luas khususnya dalam bidang industri dan kesehatan (Putri, 2012).

Salah satu enzim yang sering digunakan dibidang industri dan kesehatan adalah enzim protease. Protease merupakan enzim golongan hidrolase yang memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Enzim protease berfungsi untuk menghidrolisis ikatan peptida dalam protein menjadi oligopeptida dan asam amino (Maziah, 2009). Protease dalam peranannya dibidang industri digunakan sebagai bahan pembuatan makanan, industri farmasi dan untuk proses bioremediasi (Nascimento dan Martin, 2006).

Kebutuhan enzim protease di Indonesia semakin meningkat. Namun, Indonesia sendiri masih belum mampu memproduksi enzim tersebut dalam skala besar, sehingga masih bergantung atau mengimpor negara lain (Meliawati, 2016). Enzim protease dapat diperoleh dari hewan, tanaman maupun mikroorganisme. Enzim protease yang digunakan di bidang industri dan kesehatan umumnya dihasilkan oleh bakteri. Kelebihan penggunaan bakteri untuk menghasilkan enzim

diantaranya yaitu mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek dan dapat diproduksi dengan biaya yang relatif rendah (Akhdiya, 2003).

Salah satu cara untuk mendapatkan enzim protease dari bakteri yaitu dengan melakukan isolasi bakteri untuk menemukan isolat bakteri proteolitik (Puspitasari dkk, 2009). Uji aktivitas proteolitik bakteri penghasil protease dilihat dengan mengisolasi bakteri tersebut menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) (Putri, 2012). Isolasi bakteri penghasil enzim protease ini dapat dilakukan pada sampel makanan olahan hasil fermentasi seperti pada tempe gembus, kimchi, oncom serta produk fermentasi lainnya. Oncom merupakan salah satu makanan hasil fermentasi yang mengandung protein yang sangat tinggi dan diperkirakan pada oncom terdapat bakteri pengkonsumsi protein yang menghasilkan enzim pendegradasi protein, yaitu protease. Oncom terdiri atas dua macam yaitu oncom merah dan oncom hitam. Oncom merah didegradasi oleh kapang oncom *Neurospora sitophila* sedangkan oncom hitam didegradasi oleh kapang tempe *Rhizopus oligosporus*. (Sastratmadja, 2002; Jay, 2000).

Produksi enzim protease yang dihasilkan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah pemilihan bakteri yang unggul. Dengan demikian perlu dilakukan isolasi dan identifikasi molekular bakteri penghasil protease guna mendapatkan informasi genetik mengenai gen bakteri tersebut yang nantinya dapat dimanfaatkan dalam skala besar.

Salah satu deteksi molekuler berbasis DNA yang paling populer yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara invitro. Teknik PCR dapat digunakan untuk

mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. PCR melibatkan beberapa tahap berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA untai ganda (Handoyo, 2001). Analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri penghasil protease yaitu analisis PCR 16S rRNA. Keunggulan PCR dalam hal kecepatan, spesifisitas dan sensitifitasnya dalam mendeteksi suatu mikroorganisme menjadikan PCR sebagai “*method of choice*” (Koesharyani dkk, 2003).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Afifah (2014) mengenai protease fibrinolitik dari mikroba pangan fermentasi oncom merah dan tempe gembus diketahui bahwa 43 isolat menunjukkan aktivitas proteolitik pada media *Skim Milk Agar* (SMA). Isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus licheniformis* (99,9%) dan *Bacillus pumilus* (97%) (Afifah, 2014).

Penelitian mengenai protease ekstraseluler pada fermentasi oncom pernah dilaporkan namun umumnya pada produk oncom yang masih segar. Isolasi bakteri penghasil protease pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam belum pernah dilaporkan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penting untuk dilakukan penelitian mengenai isolasi bakteri penghasil enzim protease pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam dan identifikasi molekuler bakteri berbasis gen 16S rRNA. Dengan melakukan penelitian tersebut diharapkan dapat diperoleh sumber enzim protease baru yang berasal dari kelompok bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang ada, maka permasalahan penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Adakah bakteri penghasil protease pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam dan apakah jenis bakteri tersebut berdasarkan sekuen gen 16S rRNA

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam dan mengetahui jenis bakteri berdasarkan sekuen gen 16S rRNA.

Tujuan Khusus

1. Isolasi dan pemurnian koloni bakteri yang terdapat pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam menggunakan media *nutrient agar* (NA).
2. Melakukan isolasi bakteri penghasil protease (proteolitik) yang terdapat pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam menggunakan media Skim Milk Agar.
3. Melakukan isolasi, amplifikasi dan skuensing gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi isolat bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom merah pasca fermentasi 24 jam secara molekuler.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan serta pengetahuan tentang pengaplikasian mata kuliah biologi molekuler dalam menganalisis isolat bakteri proteolitik menggunakan metode PCR 16S rRNA untuk amplifikasi DNA.

1.4.2 Manfaat bagi masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang enzim protease yang berasal dari bakteri pada oncom merah untuk dimanfaatkan dalam skala yang lebih besar.

1.4.3 Manfaat bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan bacaan dan referensi bagi mahasiswa mengenai identifikasi bakteri penghasil protease dari fermentasi oncom merah. Selain itu penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai analisis gen 16S rRNA dan sekuensing untuk mengetahui spesies bakteri.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Orisinalitas penelitian

No.	Peneliti, tahun, Penerbit	Judul	Hasil
1.	Afifah, 2014., Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.	Protease fibrinolitik dari mikrobia pangan fermentasi oncom merah dan tempe gembus.	Empat puluh tiga isolat menunjukkan aktivitas proteolitik dan 38 diantaranya menunjukkan aktivitas fibrinolitik. Isolat RO3 diidentifikasi sebagai <i>B. licheniformis</i> (99,9%) dan isolat 2.g diidentifikasi sebagai <i>B. Pumilud</i> .
2.	Melliawati dkk., 2016 Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.	Seleksi dan Identifikasi Bakteri Endofit Potensial Penghasil Enzim Protease dari Taman Nasional Gunung Halimun	Delapan puluh enam isolat berpotensi proteolitik. Isolat HL.29B.63 mempunyai aktif enzim protease tertinggi. Analisis menggunakan 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat HL.29B.63 adalah <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subs. <i>Plantarum</i> strain FZB42
3.	Panajung dkk., 2014 Fakultas Farmasi Jurusam FMIPA Biologi, Universitas Jember	Identifikasi 16S rRNA dan uji Zimografi Bakteri Asal Pantai Papuma Penghasil Enzim Fibrinolitik Sebagai Anti Artherotrombosis.	Bakteri asal pantai Papuma mempunyai kemiripan 97% dengan spesies <i>Micobacterium testaceum</i> yang dianalisis menggunakan analisa gen 16S rRNA. Bakteri ini juga positif fibrinolitik pada uji Zimografi.

Perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian Afifah (2014) yaitu penelitian sebelumnya menggunakan sampel oncom segar untuk melihat adanya mikroorganisme penghasil protease fibrinolitik, sedangkan pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi terhadap bakteri proteolitik penghasil enzim protease pada sampel oncom pasca fermentasi 24 jam. Selain itu, pada penelitian ini akan dilihat aktivitas bakteri memproduksi enzim protease dalam waktu 24 jam sedangkan pada penelitian sebelumnya dilihat aktivitas bakteri memproduksi protease fibrinolitik yang diamati setiap 12 jam sekali selama 72 jam.

Penelitian lain yang dilakukan Melliawati dkk., (2016) dilakukan untuk melihat adanya bakteri penghasil protease pada sampel tumbuhan menggunakan analisis 16S rDNA, sedangkan pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri proteolitik yang berasal dari sampel makanan (oncom pasca fermentasi 24 jam) berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Penelitian lain yang dilakukan Panajung dkk., (2014) dilakukan untuk mengetahui bakteri penghasil protease fibrinolitik asal pantai Papuma, sedangkan penelitian yang akan dilakukan menggunakan sampel oncom untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease.