

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan industri enzim telah pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Kesadaran masyarakat terhadap masalah lingkungan yang semakin tinggi serta adanya tekanan dari para ahli dan pecinta lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi dalam bidang industri (Soeka dkk, 2011).

Di Indonesia kebutuhan enzim protease juga semakin meningkat namun kebutuhan ini masih tergantung pada produksi impor. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Putri dan Kes, 2012). Protease memegang peran utama didalam banyak fungsi hayati, mulai dari tingkat sel, organ sampai organisme, yaitu dalam melangsungkan reaksi metabolisme, fungsi regulasi dan reaksi-reaksi yang menghasilkan sistem berantai (*cascade*) untuk menjaga normal homeostatis maupun kondisi patofisiologis abnormal serta proses kematian sel terencana (Baehaki dkk,2011).

Dalam industri pengolahan jenis makanan fermentasi, umumnya proses dilakukan dengan mendayagunakan aktivitas metabolisme suatu mikroba atau campuran dari beberapa spesies untuk menghasilkan senyawa tertentu. Iklim Indonesia yang hangat membuat mikroba dapat tumbuh dan berkembang, di Indonesia tidak asing dengan pangan fermentasi karena banyak pangan fermentasi

yang menjadi makanan sehari sehari, seperti oncom merah dan tempe gembus (Afifah, 2014).

Oncom adalah makanan asal Indonesia yang populer di daerah Jawa Barat. Makanan ini adalah produk fermentasi yang dilakukan oleh beberapa jenis kapang. Ada dua jenis oncom, yaitu oncom merah dan oncom hitam. Oncom merah didegradasi oleh kapang *Neurospora sitophila* sedangkan oncom hitam didegradasi oleh kapang *Rhizopus oligosporus*. Kapang oncom mengeluarkan enzim amilase, lipase dan protease yang aktif selama proses fermentasi. Mikroba yang berperan dalam pembuatan pangan fermentasi dapat dikembangkan manfaatnya dalam hal lain, misalnya metabolit yang dihasilkan seperti enzim (Turmala dan Taufik, 2016 ; Nuritasari, 2012).

Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi protein, memproduksi enzim protease ekstraseluler. Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Untuk mensekresikan protease yang dapat mendegradasikan protein, maka pada medium disertakan susu skim yang mengandung kasein. Kasein merupakan protein utama susu, suatu mikromolekul yang tersusun atas sub unit asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Kasein berfungsi sebagai substrat bagi enzim protease. Pada umumnya bakteri proteolitik adalah bakteri dari genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus* *Streptobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* (Puspita, 2012).

Saat ini dikembangkan metode identifikasi berbasis molekuler yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, yaitu dengan

analisis sekuensing gen 16S rRNA (16S *Ribosomal Ribonucleic Acid*/Asam ribonukleat pengkode ribosom istilah 16S rRNA) (Rinanda, 2011).

Pemanfaatan gen 16S-rRNA telah digunakan sebagai parameter sistematik molekuler yang universal, representatif, dan praktis untuk mengkonstruksi kekerabatan filogenetik pada tingkat spesies. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR yakni pemilihan primer yang tepat. Primer PCR merupakan oligonukleotida yang berperan untuk mengawali proses amplifikasi molekul DNA. Keberadaan primer PCR tersebut menyebabkan gen target akan teramplifikasi sepanjang reaksi PCR berlangsung. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin (Joko, 2011; Aris, 2011).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Afifah (2014), ditemukan 43 isolat yang dapat tumbuh dalam media *skim milk agar* (SMA) dan memiliki potensi menghasilkan protease yang ditandai dengan kemampuannya dalam menghasilkan zona bening pada media SMA. Enam belas isolat (RO1-19) berasal dari oncom merah segar, 11 isolat (ROa-k) berasal dari oncom merah yang telah mengalami perlakuan pemanasan 80°C selama 15 menit, 7 isolat (1-7.g) dari tempe gembus segar, dan 6 isolat (a-f.g) dari yang telah mengalami perlakuan pemanasan 80°C selama 15 menit.

Berdasarkan latar belakang penelitian ini, dilakukan karena sebelumnya telah dilakukan isolasi bakteri oncom merah segar tetapi, belum

pernah dilaporkan isolasi bakteri proteolitik oncom merah pasca fermentasi. Penelitian ini adalah bagian dari penelitian tentang keanekaragaman bakteri proteolitik yang terdapat pada bahan makanan sumber protein hasil fermentasi yang ada di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah "Adakah bakteri penghasil protease pada oncom pasca fermentasi 48 jam dan apakah jenis bakteri penghasil enzim protease berdasarkan analisis gen 16S rRNA?"

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease pada oncom pasca fermentasi 48 jam
2. Untuk mengetahui jenis bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 48 jam berdasarkan gen 16S rRNA

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Melakukan isolasi dan pemurnian berbagai koloni bakteri yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 48 jam menggunakan media *Nutrient Agar*.
2. Isolasi bakteri penghasil protease pada oncom merah pasca fermentasi 48 jam menggunakan media *Milk Skim Agar*

3. Amplifikasi dan sekuensing gen 16S rRNA pada oncom pasca fermentasi 48 jam secara analisis gen 16S rRNA.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Dengan penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh merupakan spesies yang telah diketahui atau spesies baru dengan mengisolasi DNA kromosomnya dan amplifikasi fragmen penyandi 16S rRNA.

1.4.2 Bagi Masyarakat/ Umum

Sebagai tambahan informasi bagi masyarakat mengenai adanya enzim protease yang baik bagi tubuh pada oncom yang di lakukan pasca fermentasi selama 48 jam.

1.4.3 Bagi Institusi Akademik

Menambah pustaka mengenai isolasi dan identifikasi bakteri penghasil enzim protease pada oncom pasca fermentasi 48 jam melalui analisis gen 16S rRNA

1.5 Originalitas

Tabel 1. Originalitas Penelitian

No	Penelitian	Judul Penelitian	Hasil
1	Afifah, D.N 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	Muharni, M.,Juswardi, J. dan Prihandayani, I., 2013, Universitas Sriwijaya	Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Protease Dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan	Bakteri termofilik penghasil protease didapatkan empat isolat yang mampu menghasilkan protease dengan indeks proteolitik berkisar antara 0,23 – 0,77. Berdasarkan karakteristik morfologi dan fisiologi isolat, menunjukkan bahwa semua isolate bakteri termofilik penghasil protease yang diidentifikasi termasuk
3	Naiola, E. dan Widhyastuti, N., 2002, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.	Isolasi, seleksi dan opttmasi produksi protease dari beberapa isolat bakteri	Hasil pengujian secara kualitatif dan kuantitatif menunjukkan bahwa 37 dari 61 isolat bakteri yang diisolasi dari beberapa macam contoh memiliki aktivitas protease. Aktivitas protease yang dihasilkan bervariasi sesuai dengan biaknya dan aktivitas protease tertinggi dihasilkan oleh ISO PL3 yaitu sebesar 113,520 x 102 U/ml. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat PL3 menyerupai <i>Bacillus macerans</i> .

Berdasarkan dari data diatas penelitian ini bersifat orisinal dan berbeda dengan penelitian sebelumnya dilakukan isolasi oncom tetapi, belum pernah dilaporkan isolasi bakteri proteolitik pasca fermentasi dan penelitian yang lainnya berbeda pada sampel. Dalam penelitian ini, akan dilakukan isolasi dan identifikasi molekuler bakteri penghasil enzim protease pada oncom yang dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan berdasarkan hasil analisis gen 16S rRNA