

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Salah satu kelompok enzim yang banyak digunakan dalam industri pangan adalah enzim protease yang berfungsi menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul lebih sederhana seperti oligopeptida dan asam amino (Fatoni dan Lestari, 2008).

Kebutuhan protease mencapai 60-65% dari pasar dunia enzim, hal ini menunjukkan pentingnya industri enzim tersebut, terutama dalam bidang pangan seperti industri keju, bir dan roti dan bidang non pangan digunakan dalam pembuatan deterjen, farmasi dan penyamakan kulit (Melliawati dan Rahmani, 2016; Firlani dkk., 2015).

Di dunia kesehatan, enzim protease digunakan sebagai terapi untuk pengobatan tumor, radang, kelainan darah, pengaturan kekebalan dan penyakit-penyakit lain yang berkaitan dengan kekurangan kalsium. Enzim protease di dalam tubuh berperan untuk membantu pencernaan protein dalam makanan, menggunakan kembali protein-protein intraseluler, koagulasi sel darah dan aktivasi berbagai jenis protein, enzim, hormon, serta neurotransmitter (Naiola dkk., 2011).

Di Indonesia kebutuhan akan enzim protease juga semakin meningkat namun kebutuhan ini masih tergantung pada produksi impor. Salah satu cara usaha untuk

mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Naiola dkk., 2011). Oleh karena itu, penelitian tentang mikroorganisme penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia (Akhdiya, 2017).

Enzim protease dapat diisolasi dari hewan, tanaman serta mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim, khususnya protease mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah. Mikroorganisme penghasil protease dapat berupa bakteri, kapang maupun khamir. Protease dari bakteri merupakan jumlah yang paling banyak dibandingkan dengan sumber lain (Naiola dan Widhyastuti, 2002).

Keragaman hayati yang tinggi memberikan peluang yang besar untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim protease (Fatoni dan Lestari, 2008). Pentingnya protease dan tingginya daya jual enzim ini membuat pencarian sumber-sumber protease yang baru sangat diperlukan salah satunya melalui proses fermentasi. Proses fermentasi merupakan suatu proses yang menggunakan aktivitas metabolisme suatu mikroba tertentu atau campuran dari beberapa spesies mikroba untuk menghasilkan senyawa tertentu. Salah satu pemanfaatan teknologi fermentasi adalah dalam industri pangan diantaranya adalah oncom (Afifah, 2014).

Oncom merupakan makanan produk fermentasi yang berasal dari Jawa Barat, Indonesia. Oncom dibuat dari produk limbah kedelai dan memerlukan kapang

dalam proses pembuatannya. Kapang oncom dapat mengeluarkan enzim lipase dan protease yang aktif selama proses fermentasi. (Sarwono, 2010; Wijaya, 2014). Komponen nutrisi lengkap dari oncom yang masih mengandung protein dengan kadar tinggi memungkinkan mikroorganisme penghasil protease tumbuh di dalamnya (Sulistyaningtyas, 2006).

Aktivitas protease pada oncom dapat diuji dengan mengisolasi oncom menggunakan medium *Nutrient Agar* (NA) untuk mendapatkan isolat murni (koloni tunggal). Medium susu skim akan mengukur kadar asam amino sebagai produk hidrolisis protein dari susu skim karena mengandung kasein yang merupakan substrat yang baik untuk mengisolasi bakteri enzim protease. Kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein yang membentuk zona jernih merupakan penghasil protease yang dihasilkan oleh bakteri proteolitik terjadi karena adanya aktivitas protease yang memutuskan ikatan peptida dari kasein dalam susu skim dan digunakan untuk uji selanjutnya (Akhdiya, 2017; Fatoni dan Lestari, 2008).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk analisis deteksi bakteri dengan menggunakan teknik PCR. Teknik ini digunakan untuk menelaah profil DNA gen 16S rRNA (Aris dkk., 2011). Penggunaan analisis gen penyandi 16S rRNA dapat sebagai penanda molekuler yang identik pada semua bakteri. Sifat spesifik dari 16S rRNA yang khas ini dimiliki oleh setiap spesies bakteri. Oleh karena itu, gen yang mengkode pembentukan 16S rRNA bisa dijadikan alat identifikasi species bakteri tertentu. Penggunaan metode analisis gen 16S rRNA sebagai acuan identifikasi bakteri secara molekuler memiliki keunggulan, dimana

gen ini relative konstan dan tidak berubah dalam jangka waktu yang sangat lama atau dengan kata lain laju mutasinya sangat kecil (Faradiska, 2012).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Afifah 2014, diperoleh hasil 43 isolat tumbuh pada media *skim milk agar* (SMA) yang berpotensi menghasilkan protease yang ditandai dengan kemampuannya dalam menghasilkan zona bening pada media skim milk agar. 16 isolat yang berasal dari oncom merah segar, 11 isolat berasal dari oncom merah yang telah mengalami perlakuan pemanasan 80°C selama 15 menit, 7 isolat dari tempe gembus segar, dan 6 isolat dari yang telah mengalami perlakuan pemanasan 80°C selama 15 menit lalu didapatkan 2 isolat terbaik dan dilakukan uji identifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA dan isolat dari oncom merah teridentifikasi sebagai *Bacillus licheniformis* (96%) dan isolat tempe gembus sebagai *Bacillus pumilus* (97%).

Penelitian ini perlu dilakukan karena pada penelitian sebelumnya isolasi bakteri pada oncom segar, sedangkan pada kondisi pasca fermentasi belum pernah dilaporkan. Penelitian ini adalah bagian dari penelitian tentang keanekaragaman bakteri proteolitik yang terdapat pada bahan makanan sumber protein hasil fermentasi yang ada di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 72 Jam dan Identifikasi Molekuler Bakteri Berbasis Gen 16S rRNA.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, permasalahan dalam penelitian ini adalah Adakah bakteri penghasil protease pada oncom pasca fermentasi 72 jam dan apakah jenis bakteri penghasil protease berdasarkan analisis gen 16S rRNA?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui adanya bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 72 jam
2. Untuk mengetahui jenis bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 72 jam berdasarkan analisis gen 16S rRNA

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Melakukan isolasi berbagai koloni bakteri dan pemurnian koloni bakteri yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 72 jam menggunakan media *Nutrient Agar*
2. Melakukan isolasi bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 72 jam menggunakan media *Skim Milk Agar*
3. Melakukan isolasi, amplifikasi dan sekuensing gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi isolat bakteri penghasil protease yang terdapat pada oncom pasca fermentasi 72 jam secara molekuler

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan pemahaman mengenai bakteri enzim protease pada oncom pasca fermentasi 72 jam menganalisis gen 16S rRNA, dan dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi penelitian sejenis.

### 1.4.2 Bagi Masyarakat

Untuk memberikan informasi tentang pentingnya enzim Protease bagi kesehatan serta pentingnya konsumsi oncom untuk salah satu makanan yang mengandung enzim protease.

### 1.4.3 Bagi Akademik

Untuk menambah pustaka untuk bahan pendidikan dan dapat dijadikan sebagai bahan referensi mengenai isolasi dan identifikasi bakteri penghasil enzim protease pada oncom pasca fermentasi 72 jam melalui analisis gen 16S rRNA bagi mahasiswa Universitas Muhammadiyah Semarang.

## 1.5 Keaslian Penelitian

**Tabel 1. Keaslian penelitian**

No	Peneliti	Judul	Hasil
1	Afifah, D.N 2014.	Protease fibrinolitik dari mikroba Pangan fermentasi oncom merah dan tempe gembus	Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya mikroba dari oncom dan tempe gembus segar diperoleh hasil 43 isolat tumbuh pada media skim milk agar yang berpotensi menghasilkan protease dan didapatkan 2 isolat terbaik dan dilakukan uji Identifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA dan isolat dari oncom merah teridentifikasi sebagai <i>Bacillus licheniformis</i> (96%) dan isolat tempe gembus sebagai <i>Bacillus pumilus</i> (97%)

**Tabel 1. Keaslian penelitian (Lanjutan)**

No	Peneliti	Judul	Hasil
2	Naiola, E. dan Widhyastuti, N., 2002.	Isolasi, seleksi dan optmasi produksi protease dari beberapa isolat bakteri	Hasil pengujian secara kualitatif dan kuantitatif menunjukkan bahwa 37 dari 61 isolat bakteri yang diisolasi dari beberapa macam makanan fermentasi (tape, tempe, oncom, kecap, ragi tape) serta dari beberapa contoh tanah dan air sungai memiliki aktivitas protease. Aktivitas protease yang dihasilkan bervariasi sesuai dengan biaknya dan aktivitas protease tertinggi dihasilkan oleh ISO PL3 yaitu sebesar 113,520 x 10 <sup>2</sup> U/ml hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat PL3 menyerupai <i>Bacillus macerans</i> .
3	Melliawati dkk., 2016.	Seleksi dan identifikasi bakteri endofit Potensial penghasil enzim protease dari taman Nasional gunung halimun	Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri endofit penghasil enzim protease pada taman nasional gunung halimun. Diperoleh hasil pengujian bakteri endofit pada tanaman sebanyak delapan puluh enam (86) isolat berpotensi proteolitik. Isolat HL.29B.63 terseleksi sebagai isolat yang menghasilkan enzim protease terbaik.. Analisis menggunakan 16s rRNA menunjukkan bahwa isolat HL.29B.63 adalah <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .

Berdasarkan data orisinalitas penelitian di atas, perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan yang telah dilaksanakan yaitu pada kondisi bahan pangan fermentasi yang menjadi tempat isolasi. Pada penelitian sebelumnya Naiola dan Widhyastuti (2002), bahan oncom yang digunakan yaitu oncom segar sedangkan penelitian yang akan dilakukan isolasi bakteri proteolitik pada bahan oncom pasca fermentasi 72 jam. Pada penelitian Muharni (2015), bakteri diisolasi dari tanaman sedangkan pada penelitian ini bakteri diisolasi dari bahan pangan (oncom) pasca fermentasi.