ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE PADA TEMPE GEMBUS PASCA FERMENTASI 1 HARI BERDASARKAN ANALISIS GEN 16S rRNA

Wa Ode Inayatul[1], Stalis Norma Ethica[2], Ana Hidayati Mukaromah[2]

[1.]Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang
[2.]Program Studi DIII Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

ABSTRAK

Protease adalah suatu grup enzim yang berperan penting dalam reaksi biokimia yang menyebabkan pemecahan protein. Protease merupakan salah satu enzim dalam bidang industri yang nilai komersialnya mencapai 60% dari total penjualan enzim seluruh dunia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri penghasil protease yang terdapat pada tempe gembus pasca fermentasi 1 hari dan mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Proses isolasi dan purifikasi dilakukan menggunakan media *Nutrient Agar* dengan teknik *spread.* Proses uji penghasilan enzim protease dilakukan pada media agar susu skim. Proses identifikasi molekuler dilakukan melalui analisis sekuen fragmen gen 16S rRNA bakteri yang diamplifikasi menggunakan primer forward F (F: 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3'), dan primer reverse R (R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') dengan metode PCR. DNA hasil amplifikasi kemudian di sekuensing. Dari proses isolasi diperoleh hasil berupa satu isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik berdasarkan pengamatan area zona bening dengan diameter 85 mm. Dari hasil pensejajaran sekuen dengan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) diketahui fragmen gen 16S rRNA strain ISTD1.4 yang diperoleh memiliki tingkat kemiripan 98% dengan fragmen gen 16S *ribosomal* RNA isolat bakteri *Pseudomonas stutzeri* strain E141. Sebagai kesimpulan, strain ISTD1.4 merupakan bakteri penghasil protease yang potensial dan teridentifikasi sebagai *Pseudomonas stutzeri* ISTD4.

Kata kunci : Tempe gembus, Enzim protease, Gen 16S rRNA,

THE ISOLATION AND MOLUCULAR IDENTIFICATION OF THE PROTEASE ENZYME IN THE TEMPE GEMBUS AFTER ONE DAY FERMENTATION BASED ON AN ANALYSIS OF THE 16S rRNA

Wa Ode Inayatul[1], Stalis Norma Ethica[2], Ana Hidayati Mukaromah[2]

[1.]The Courses Of The Faculty Of Health Science Analyst DIV Nursing and Health University Of Muhammadiyah Semarang
[2.]The Courses Of The Faculty Of Health Science Analyst DIII Of Nursing and Health University Of Semarang Muhamadiyah

ABSTRACT

Protease is a group of enzymes that play an important role in biochemical reactions, whichc a use protein break down. Protease is among main enzymes used in industry, which commercial value reach 60% of total enzymes world wide. This study a imed to isolat protease-producing bacterium found on tempe gembus in after 1-day post-fermentation and to identify the bacterial isolat obtained based on the analysis of its 16S rRNA gene. Isolation and purification process was done using Nutrient Agar media withs pread technique. The protease production test was carried out on skim milk agar medium. The molecular identification process was performed by analyzing sequence of 16S rRNA gene fragment of bacteria amplified using both forward primer F (F:5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3 '), and reverse primer R (R:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') by Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The amplified DNA from PCR was then sequenced. From the isolation process a bacterial strain that has a proteolytic activity based on observation of clear zone area with a diameter of 85 mm was obtained. From sequence alignment result using BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) the fragment of16S rRNA gene of strain ISTD1.4 obtained has similarity level of 98% with fragment of 16S ribosomal RNA gene of bacterium *Pseudomonas stutzeri*strain E141. In conclusion, strain ISTD1.4 is a potential protease-producing bacteria and is identified as *Pseudomonas stutzeri* ISTD4.

Keywords: Tempe Gembus, Protease enzyme, 16S rRNA gene