

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi biokatalis yang menyebabkan pemecahan protein. Protease merupakan salah satu enzim dalam bidang industri yang nilai komersialnya mencapai 60% dari total penjualan enzim seluruh dunia. Enzim protease dapat dihasilkan oleh tanaman, hewan maupun mikroorganisme seperti bakteri (Fatoni dkk., 2008). Peran enzim protease dalam tubuh antara lain membantu pencernaan protein dalam makanan, menggunakan kembali protein-protein intraseluler, koagulasi sel darah, dan aktivitas berbagai jenis protein, enzim, hormon, serta neurotransmitter.

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme penghasil enzim yang paling banyak digunakan sebagai sumber enzim, karena bakteri pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang relative murah dan mampu menghasilkan enzim (Akhdiya, 2003). Bakteri dikelompokkan atas tiga golongan berdasarkan daerah aktivitas temperatur yaitu bakteri psikrofil, bakteri mesofil, dan bakteri termofilik (Wahyuna, 2012). Keanekaragaman bakteri yang ada memberikan gambaran potensi yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai tujuan dan aplikasi bioteknologi. Salah satu enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri yaitu protease.

Indonesia dikenal sebagai negara yang telah memanfaatkan enzim protease dalam bidang industri pengolahan pangan seperti susu, roti, dan secara tradisional digunakan sebagai pelunak daging. Pentingnya enzim protease dan tingginya harga jual enzim protease mendorong para ilmuwan untuk mencari

sumber-sumber enzim protease yang baru yang dapat menghasilkan lebih banyak protease dan memiliki aktivitas tinggi.

Enzim protease telah banyak ditemukan pada berbagai pangan fermentasi, baik pada pangan fermentasi nabati maupun hewani yang memiliki kadar protein tinggi. Fermentasi pada nabati yaitu pada kedelai seperti tempe, oncom, dan tempe gembus. Tempe gembus merupakan pangan fermentasi ampas tahu. Tempe gembus memiliki kandungan jenis-jenis asam amino yang sama dengan tempe kedelai, namun kadar yang jauh lebih kecil (Melliawati, 2015).

Identifikasi bakteri secara fenotipe belum cukup memberikan informasi yang jelas dalam membedakan strain *Intraspecies* dan *interspecies*. Hal ini sering terjadi kesalahan dalam membedakan spesies bakteri karena adanya karakter yang tidak bersifat statis dan dapat berubah seiring dengan perubahan lingkungan. Disamping itu identifikasi bakteri berdasarkan fenotipe memiliki reproduibilitas yang rendah karena tergantung pada kondisi kultur di laboratorium yang berbeda, hal inilah yang mendorong dilakukannya identifikasi secara genotype berdasarkan gen penyandi rRNA.

Analisis gen penyandi 16S rRNA dapat sebagai penanda molekuler karena bersifat ubikuitus dengan fungsi yang identik pada semua bakteri. Gen 16S rRNA memiliki beberapa daerah dengan urutan basa yang konservatif dan juga daerah yang urutan basanya yang sangat variatif. Perbandingan urutan basa yang konservatif berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik universal, sedangkan urutan basa variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan strain-strain dalam satu spesies (Muharni dkk., 2015).

Isolasi bakteri penghasil protease menggunakan media Nutrient Agar (NA) yang merupakan suatu medium yang mengandung sumber nitrogen dalam jumlah cukup tetapi tidak mengandung sumber karbohidrat, jadi baik untuk pertumbuhan bakteri namun kapang dan khamir tidak dapat tumbuh dengan baik. Kemudian selanjutnya menggunakan media *Skim Milk Agar* yang mengandung kasein sebagai protein susu dimana akan dipecah oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga pada koloni dikelilingi area bening (Fatoni dkk., 2008).

Hasil penelitian Amarila dkk (2010), tentang isolasi dan skrining molekuler bakteri asam laktat pembawa gen glukansukrase dari makanan dan minuman mengandung gula diperoleh hasil PCR gen 16S rRNA yang disekuensing sebanyak 13 amplicon semua teridentifikasi sebagai BAL (bakteri asam laktat) dengan homologi antara 93-100% dan tiga spesies diantaranya masih jarang diketahui sebagai BAL. Hasil penelitian Afifah (2014), tentang fibrinolitik dari mikroba pangan fermentasi oncom merah dan tempe gembus berhasil mengisolasi mikroba penghasil protease.

Penelitian ini perlu dilakukan karena penelitian sebelumnya (Afifah, 2014) berhasil mengisolasi bakteri protease pada tempe gembus hasil fermentasi segar, namun pada tempe gembus pasca fermentasi belum pernah dilaporkan. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian tentang keanekaragaman bakteri penghasil protease pada bahan pangan asli Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Apakah bakteri penghasil protease dapat ditemukan pada tempe gembus pasca fermentasi 4 hari dan jenisnya berdasarkan analisis gen 16S rRNA ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Melakukan isolasi bakteri penghasil enzim protease pada tempe gembus pasca fermentasi 4 hari.
2. Melakukan identifikasi untuk mengetahui jenis bakteri penghasil enzim protease berdasarkan sekuen Gen 16S rRNA.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk Peneliti
Menambah wawasan serta pengetahuan tentang keanekaragaman bakteri proteolitik yang terdapat pada bahan makanan sumber protein hasil fermentasi.
2. Untuk Mahasiswa
Memberikan informasi dan sebagai bahan referensi peneliti selanjutnya.
3. Untuk Institusi
Sebagai bahan bacaan dan sumbangsi kepastakaan dari hasil penelitian.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Keaslian penelitian

Peneli, tahun, penerbit	Judul	Hasil
Amarila. dkk, 2010, Laboratorium Mikrobiologi & Bioteknologi Universitas Indonesia	Isolasi dan skrining molekuler bakteri asam laktat pembawa gen glukansukrase dari makanan dan minuman mengandung gula	PCR gen 16S rRNA yang disekuensing sebanyak 13 amplikon semua teridentifikasi sebagai BAL (bakteri asam laktat) dengan homologi antara 93-100% dan tiga spesies diantaranya masih jarang diketahui sebagai BAL
Afifah, 2014, Sekolah Pascasarjana Institusi Pertanian Bogor	Protease fibrinolitik dari mikroba pangan fermentasi oncom merah dan tempe gembus	Fermentasi oncom merah dan tempe gembus berhasil mengisolasi mikroba penghasil protease

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan sebelumnya yaitu pada penelitian sebelumnya isolasi bakteri proteolitik menggunakan tempe gembus hasil fermentasi segar atau tanpa penyimpanan, sedangkan pada penelitian yang akan dilakukan ialah isolasi dan identifikasi molekuler bakteri penghasil enzim protease pada tempe gembus pasca fermentasi 4 hari berdasarkan gen 16S rRNA.