

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim telah banyak digunakan dalam teknologi dan industri. Reaksi kimia yang dilakukan secara bertahap mulai digantikan dan dikatalisis oleh enzim. Enzim sebagai biokatalis dapat mempercepat reaksi biokimia yang terjadi di dalam dan di luar sel dan merupakan kunci proses biologis pada suatu senyawa makromolekul tertentu (Bisswanger, 2014; Warshel dan Bora, 2016). Enzim diperlukan untuk proses-proses di sektor industri, baik di sektor pangan maupun non pangan (Eleuche *et al.*, 2014). Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam industri makanan, farmasi, dan industri kimia lainnya adalah enzim protease, yaitu sekelompok enzim hidrolase yang memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Protease berfungsi menghidrolisis ikatan peptida menjadi oligopeptida dan asam amino. Enzim protease banyak digunakan dalam bidang bioteknologi untuk menghasilkan asam amino dan peptida dari substrat bermolekul tinggi atau dalam industri kulit untuk digunakan dalam pengolahan air limbah, tekstil, farmasi, kosmetik, industri pengolahan kulit, dan peternakan unggas (Singh *et al.*, 2016; Razzaq *et al.*, 2019).

Pemanfaatan enzim dalam berbagai bidang khususnya industri berkembang pesat. Penelitian mengenai protease baru terus berkembang karena protease mewakili 60% dari jumlah enzim yang dikomersialkan di dunia. Pasar enzim protease secara keseluruhan diperkirakan di atas 3 miliar US\$, menunjukkan tingkat pertumbuhan tahunan gabungan (CAGR) sebesar 6,1% pada tahun 2024 (Naveed *et al.*, 2021). Adrio dan Demain (2014) menyatakan pemilihan mikroorganisme sebagai penghasil enzim karena mikroorganisme dapat dijadikan solusi atas

tingginya kebutuhan enzim yang menuntut produksi berkelanjutan. Enzim mikroba banyak digunakan dalam proses industri karena biayanya yang rendah, produktivitas yang besar, stabilitas kimia, perlindungan lingkungan, plastisitas dan ketersediaan yang luas (Nursyiwani *et al.*, 2021).

Optimasi statistik dengan *Response Surface Methodology* (RSM) digunakan untuk pemodelan dan analisis dalam aplikasi di mana respons yang diinginkan dipengaruhi oleh banyak variabel dengan tujuan tunggal untuk mengoptimalkan respons ini (Eswari *et al.*, 2016). Metode ini membantu mengidentifikasi parameter yang signifikan, memilih kondisi proses terbaik dan menilai interaksi antara respon dan variabel kunci dalam percobaan yang lebih sedikit (Walia *et al.*, 2014; Tajabadi *et al.*, 2015). Pendekatan *One Factor at A Time* (OFAT) digunakan untuk pemilihan sumber karbon, nitrogen, dan *trace element* terbaik. Selanjutnya, optimasi statistik dari sumber karbon dan nitrogen yang dipilih bersama dengan konsentrasi inokulum untuk meningkatkan produksi protease dilakukan dengan bantuan *Central Composite Design* pada RSM.

Bakteri merupakan komponen utama suatu ekosistem dan menempati ruang seluas-luasnya di lingkungan tersebut, termasuk ekosistem mangrove. Bakteri mempunyai peranan penting dalam ekosistem mangrove. Keberadaan dan keanekaragaman bakteri pada ekosistem mangrove dipengaruhi oleh salinitas, pH, fisik, iklim, vegetasi, nutrisi, dan lokasi (Hrenovic *et al.*, 2003). Diketahui beberapa bakteri berperan dalam ekosistem mangrove melalui proses fotosintesis, fiksasi nitrogen, metanogenesis, produksi enzim, dan produksi antibiotik (Lyla dan Ajmal, 2006). Penelitian mengenai bakteri yang berasal dari perairan mangrove telah

banyak dilakukan antara lain oleh Yulma *et al.* (2018) yang memperoleh sembilan isolat bakteri dari perairan Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB). Isolat tersebut adalah *Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Listeria* spp, *Enterobacteria* spp, *Pseudomonas* spp, *Aeromonas* spp, *Micrococcus* spp, *Staphylococcus* spp, dan *Actinobacillus* spp. Menurut Gupta *et al.* (2005), bakteri yang mampu menghasilkan protease termasuk genus *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas* dan *Halobacterium*, tetapi strain *B. amyloquifaciens*, *B. subtilis* dan *B. licheniformis* adalah yang paling dominan di antara spesies tersebut. bakteri penghasil protease.

Produksi protease oleh mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh komponen-komponen yang ada di dalam media, terutama sumber karbon dan nitrogen. Sumber karbon dan nitrogen berperan dalam mengatur sintesis enzim. Selain sumber karbon dan nitrogen, faktor fisik juga mempengaruhi produksi protease seperti suhu, pH, agitasi, salinitas, dan konsentrasi inokulum. Faktor-faktor fisik tersebut merupakan pengatur penting produksi enzim dan stabilitas substrat dalam media kultur karena dapat mempengaruhi struktur kimiawi enzim, menyebabkan denaturasi dan hilangnya aktivitas katalitik (Elgammal *et al.*, 2020).

Laboratorium Bioteknologi Universitas Andalas memiliki 38 isolat bakteri perairan mangrove dari Kawasan Mandeh Kabupaten Pesisir Selatan, empat isolat diantaranya menghasilkan protease. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri PUA-14 yang memiliki aktivitas protease tertinggi sebesar 0, 889 U/mL dengan suhu optimum 35°C dan pH optimum 8,0 (Ananta, 2023). Selama ini belum ada penelitian mengenai optimasi sumber karbon, sumber nitrogen, *trace element*

konsentrasi sumber karbon, konsentrasi sumber nitrogen, dan konsentrasi inokulum untuk menghasilkan protease sehingga dilakukan penelitian ini. Produksi enzim mikroba sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis sumber C dan N, ion logam, pH, suhu, ukuran inokulum, dan waktu inkubasi. Komponen media ditemukan memiliki kontribusi penting pada produksi protease ekstraselular tergantung pada mikroorganisme yang digunakan. Komponen media dan konsentrasinya harus dioptimalkan (Rohmatussolihat *et al.*, 2021). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum sumber karbon, sumber nitrogen, konsentrasi sumber karbon, konsentrasi sumber nitrogen, dan konsentrasi inokulum serta mengidentifikasi jenis isolat bakteri PUA-14 secara molekuler dengan analisis sekuens 16S rRNA. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai Optimasi Produksi dan Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri PUA-14 Penghasil Protease Dari Perairan Mangrove.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimanakah optimasi sumber karbon, sumber nitrogen, *trace element* konsentrasi sumber karbon, konsentrasi sumber nitrogen, dan konsentrasi inokulum optimum terhadap isolat bakteri PUA-14 dalam memproduksi protease?
2. Apakah jenis isolat bakteri PUA-14 penghasil protease berdasarkan identifikasi berbasis biomolekuler?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Menganalisis sumber karbon, sumber nitrogen, *trace element*, konsentrasi sumber karbon, konsentrasi sumber nitrogen, dan konsentrasi inokulum optimum terhadap isolat bakteri PUA-14 dalam memproduksi protease.
2. Menganalisis jenis isolat bakteri PUA-14 penghasil protease dengan identifikasi berbasis biomolekuler.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai optimasi sumber karbon, sumber nitrogen, *trace element*, konsentrasi sumber karbon, konsentrasi sumber nitrogen, dan konsentrasi inokulum untuk produksi protease, serta identifikasi molekuler isolat bakteri PUA-14 penghasil protease.

