

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim digunakan dalam berbagai industri seperti penyamakan kulit, farmasi, pembuatan bir, industri susu, deterjen, dan banyak lagi. Protease memiliki potensi yang luas untuk aplikasi dalam berbagai industri, termasuk industri deterjen, susu, kulit, pembuatan roti, farmasi, dan minuman. Enzim-enzim hidrolitik ini digunakan dalam industri makanan untuk meningkatkan nilai gizi, kenikmatan rasa, flavor, dan mengurangi senyawa alergen, serta dalam pengelolaan limbah domestik dan industri. Protease adalah kelompok enzim yang menyebabkan hidrolisis ikatan peptida. Bergantung pada jenis protease yang terlibat, ikatan peptida yang berdekatan dengan asam amino tertentu akan terpecahkan (Khan *et al.*,2011).

Sekitar 60-65% dari penjualan enzim secara global diperoleh dari protease, yang merupakan salah satu dari tiga kelompok enzim yang memiliki pentingnya dalam industri (Thakur *et al.* 2016). Protease yang berasal dari mikroba menyumbang sekitar 40% dari total produksi enzim di seluruh dunia, dan dalam kelompok enzim proteolitik ini, sekitar 35% adalah protease alkali (Asker *et al.* 2013; Ramkumar *et al.* 2018). Permintaan enzim protease diproyeksikan meningkat hingga 2028 karena peran pentingnya di berbagai industri, dengan perkiraan nilai \$2,21 miliar dengan tingkat pertumbuhan tahunan (CAGR) sekitar 6% (Asia, 2018).

Berbagai penelitian yang telah dilakukan mengenai bakteri endofitik penghasil protease antara lain Melliawati *et al.* (2016) yang memperoleh 86 isolat

bakteri endofitik penghasil protease yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun dan Rori *et al.* (2019) memperoleh 6 isolat yang memiliki potensi menghasilkan enzim protease dari tumbuhan *mangrove A. marina* di Kelurahan Molas, Kecamatan Bunaken, Kota Manado.

Produksi protease oleh bakteri dapat disesuaikan oleh beragam faktor, termasuk aspek fisik, kimia, dan nutrisi. Aspek fisik meliputi variabel seperti jumlah inokulum, suhu, waktu inkubasi, serta tingkat pH. Di sisi lain, faktor nutrisi melibatkan elemen seperti jenis karbon dan nitrogen yang digunakan (Enuneku *et al.*,2020).

Bakteri endofitik merupakan bakteri mesofilik hidup pada kisaran suhu 25°C-40°C dengan suhu optimum 25°C-37°C (Black, 2005). Pada suhu rendah, reaksi kimia akan berjalan dengan kecepatan yang lambat, tetapi pada suhu tinggi, reaksi akan berlangsung lebih cepat. Karena enzim adalah protein, kenaikan suhu dapat menyebabkan denaturasi, yang mengganggu bagian aktif enzim. Akibatnya, konsentrasi efektif enzim menurun dan kecepatan reaksi pun menurun (Ischak *et al.*,2017).

Struktur ion enzim sangat dipengaruhi oleh pH di sekitarnya. Enzim dapat memiliki muatan ion positif, muatan ion negatif, atau muatan ganda (zwitterion). Oleh karena itu, perubahan dalam pH lingkungan akan mempengaruhi sejauh mana bagian aktif enzim efektif dalam membentuk kompleks enzim substrat (Ischak *et al.*,2017). Penelitian yang telah dilakukan oleh Riaz *et al.* (2023) bakteri *Bacillus sp.* AI-5, pH dan suhu optimum untuk produksi maksimum protease ditemukan pada pH

5 setelah 24 jam inkubasi. Namun, bakteri laut yang diisolasi dalam penelitian Jayadev & Lekshmi (2016) menunjukkan aktivitas protease optimum pada pH 9.

Konsentrasi inokulum, kadar salinitas dan kecepatan agitasi adalah faktor lain yang memengaruhi produksi protease selain suhu dan pH. AL-Harbi (2017) menemukan bahwa bakteri *Bacillus* sp. NASK P6 memiliki aktivitas protease terbaik ketika ditambahkan 1% konsentrasi inokulum. Di sisi lain, dalam penelitian yang dilakukan oleh Lestari *et al.* (2013), isolat *Bacillus* sp. MI.2.3 menghasilkan protease alkali terbaik dengan inokulum 5%. Salinitas ekosistem mangrove di wilayah mandeh pesisir selatan berkisar antara 25 dan 32 ppt (Junaidi *et al.*, 2022).

Penelitian Zainuddin *et al.* (2022) menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus firmus* memiliki tingkat protease tertinggi pada salinitas media 30 ppt. Zainuddin *et al.* (2022) melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus firmus* memiliki laju pertumbuhan dan aktivitas protease tertinggi pada kondisi kultur inkubasi 30°C dan kecepatan agitasi 150 rpm. Di sisi lain, Junianto *et al.* (2009) menemukan bahwa bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1 memiliki aktivitas protease tertinggi pada kecepatan 250 rpm.

Sejumlah penelitian sebelumnya telah melakukan identifikasi bakteri endofit yang menghasilkan enzim protease secara biomolekuler. Zainuddin *et al.* (2017) berhasil mengidentifikasi isolat *Bacillus aquimaris* melalui analisis sekuens 16S rRNA. Isolat ini berasal dari lingkungan ekosistem mangrove di Karimunjawa. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Ntabo *et al.* (2018) melibatkan 42 isolat bakteri yang dibiakkan dan diisolasi dari daun dan akar enam tanaman

mangrove yang ditemukan di Mida Creek dan Gazi Bay, wilayah pesisir Kenya. Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa sekitar 95% dari isolat-isolat tersebut mampu menghasilkan protease. Melalui analisis molekuler menggunakan sekuens gen 16S rRNA, diketahui bahwa isolat-isolat ini memiliki hubungan dekat dengan spesies-spesies seperti *Bacillus*, *Streptomyces*, *Myroides*, dan *Staphylococcus*.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan koleksi isolat bakteri endofitik penghasil protease dari Laboratorium Bioteknologi yang diisolasi dari tanaman mangrove *Sonneratia* sp. dari kawasan mandeh, Pesisir Selatan dengan kode isolat EUA-136. Dwitaviani (2023), menyatakan bahwa isolat EUA-136 optimum pada penambahan maltosa 1,5% dan KNO₃ 1% mengalami peningkatan 0.073 U/ml menjadi 0,740 U/ mL setelah dioptimasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keadaan optimum serta jenis dari isolat bakteri endofitik EUA-136 penghasil protease yang diidentifikasi secara molekuler dengan analisis sekuens 16S rRNA. Optimasi dan identifikasi molekuler dilakukan untuk mengenalkan potensi dari bakteri endofitik dari tanaman mangrove *Sonneratia* sp. di kawasan mandeh, Pesisir selatan. Berdasarkan uraian diatas maka akan dilakukan penelitian mengenai “Optimasi dan Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri endofitik EUA-136 dari *Sonneratia* sp. Penghasil Protease”.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Berapakah suhu, pH, inokulum, salinitas serta agitasi optimum terhadap isolat bakteri endofitik EUA-136 dalam memproduksi protease dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM)?
2. Apakah jenis isolat bakteri endofitik EUA-136 penghasil protease melalui analisis sekuens 16S rRNA?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Menganalisis suhu, pH, inokulum, salinitas, serta agitasi optimum terhadap isolat bakteri endofitik EUA-136 dalam memproduksi protease menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM).
2. Mengidentifikasi jenis isolat bakteri endofitik EUA-136 penghasil protease dengan identifikasi molekuler melalui analisis sekuens 16S rRNA.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai optimasi suhu, pH, inokulum, salinitas dan agitasi serta identifikasi molekuler isolat bakteri endofitik EUA-136 penghasil protease.