

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produk bioteknologi yang sedang berkembang saat ini adalah enzim. Enzim merupakan molekul kompleks protein yang dihasilkan oleh sel hidup dan kerjanya sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia pada tubuh organisme. Enzim berperan penting dalam memproduksi makanan, pakaian dan bahkan dalam memproduksi bahan bakar untuk kendaraan. Enzim juga berperan penting dalam memerangi pencemaran lingkungan serta pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi tinggi, ekonomis, bersifat spesifik dan tidak beracun sebab enzim merupakan biokatalisator (Li dkk., 2012). Enzim dipengaruhi oleh faktor-faktor yaitu pH, suhu, konsentrasi substrat dan inhibitor, waktu inkubasi, ion logam serta stabilitas termal. Oleh sebab itu setiap enzim mempunyai aktivitas enzim yang berbeda-beda (Susanti & Fidia, 2017). Enzim protease mempunyai pH optimum, suhu, substrat yang sangat beragam tergantung bakteri yang memproduksinya.

Enzim protease menjalankan berbagai macam peranan fungsi dan memiliki aplikasi bioteknologi yang penting. Enzim protease adalah enzim yang berfungsi menghidrolisis protein menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti memecah ikatan peptida dari protein menjadi asam amino yang mudah diabsorpsi (Rezakhani dkk., 2014). Enzim protease juga menjadi salah satu kelompok terbesar dari pemanfaatan enzim pada bidang industri, antara lain pada industri pangan yaitu, industri makanan dan industri farmasi, juga industri non pangan yaitu, industri deterjen, industri kulit, serta proses bioremediasi. Oleh sebab itu, enzim protease adalah salah satu enzim yang memiliki prospek paling baik untuk dikembangkan (Sawant dan Nagendran, 2014; Souza dkk., 2015; Rawat, 2015; Vanitha dkk., 2014; Singh dkk., 2016). Pada aplikasi di bidang industri, Enzim protease melalui reaksi hidrolisisnya, saat ini merupakan salah satu enzim penting yang dipergunakan secara luas, dengan hampir mencapai 65% dari total penjualan enzim di dunia (Huang 2006). Sedangkan di Indonesia sendiri, kebutuhan enzim protease semakin meningkat, tetapi masih bergantung pada produksi impor. Upaya yang dapat

dilakukan untuk mengurangi ketergantungan terhadap impor tersebut yaitu dengan mengupayakan produksi enzim protease dengan mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya yang dimiliki oleh Indonesia (Suhartono, 2000).

Enzim protease pada umumnya dapat dihasilkan dari tanaman, hewan dan mikroorganisme. Namun dalam bidang industri, enzim protease dihasilkan dari mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, sebab enzim yang dihasilkan dari tanaman ataupun hewan mempunyai kelemahan jika digunakan atau diproduksi, hal tersebut disebabkan sel atau jaringan pada organisme yang faktor fisiologinya membutuhkan waktu sangat lama dan adanya inhibitor enzim (Arastu-Kapur dkk., 2008). Dari segi ekonomi, produksi enzim protease oleh mikroorganisme mempunyai keuntungan karena pertumbuhannya yang cepat, dapat tumbuh pada substrat dengan biaya yang relatif rendah, dan kemudahannya untuk direkayasa secara genetik untuk menghasilkan enzim baru dengan sifat yang diubah yang diinginkan untuk berbagai aplikasi (Singh dkk., 2016).

Bacillus merupakan salah satu bakteri penghasil enzim protease ekstraseluler. Berbagai spesies *Bacillus* juga memproduksi enzim protease seperti *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. licheniformis*, *B. macerans*, *B. firmus*, *B. alcalo*, *B. subtilis* (Ghorbel dkk., 2003; Olajuyigbe dkk., 2005; Said dan Likadja, 2012). Mereka tersebar luas di tanah dan air, dan strain tertentu mentolerir kondisi lingkungan yang ekstrim termasuk kondisi yang sangat basa (Singh dkk., 1999). Sektor industri sering menggunakan *Bacillus* sp. untuk produksi berbagai enzim (Pant dkk., 2015). Genus *Bacillus* merupakan sumber penting yang dikomersialkan untuk produksi protease basa (Ferrari dkk., 1993).

Usus serangga menyimpan banyak mikroorganisme, yang memainkan peran penting dalam nutrisi inang, perkembangan, ketahanan terhadap patogen, dan reproduksi (Brand dkk., 1975; Resh dan Cardé, 2003; Moran dkk., 2005). Dibandingkan dengan mamalia, ada kekurangan literatur mengenai fungsi mikroorganisme dalam usus serangga. Demikian pula, sedikit yang membahas kemungkinan bahwa mikroorganisme dapat menghasilkan beberapa enzim pencernaan untuk menyediakan nutrisi penting atau membantu fungsi biokimia

penting terkait dengan konsumsi makanan inang (McKillip dkk., 1997; Broderick dkk., 2004; Xiang dkk., 2006; Gao dkk., 2007; Anand dkk., 2010).

Salah satu organisme yang banyak didapati pada limbah rumah tangga adalah kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*) (Ni'matuzahroh dkk., 2019). Pada kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*) terdapat bakteri *Bacillus* sp. yang berasosiasi pada ususnya. *Bacillus* sp. yang diisolasi dari usus kecoa mempunyai kemampuan memproduksi enzim protease yang baik salah satu isolat bakterinya adalah EK A19. Enzim protease yang diproduksi *Bacillus* sp. EK A19 pada usus kecoa, membantu pencernaan kecoa. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (Ni'matuzahroh dkk., 2020), juga dilakukan produksi enzim protease dan aktivitas enzim protease pada isolat *Bacillus* sp. EK A19, namun belum sampai pada tahap purifikasi dan karakterisasi, sehingga nilai purifikasi dan karakterisasi enzim protease pada *Bacillus* sp. EK A19 belum diketahui.

Bacillus sp. EK A19 telah diuji kemampuan produksi dan karakterisasi enzim amilase dan selulasenya, namun untuk enzim protease yg dihasilkan bakteri tersebut belum diuji karakterisasinya walaupun memiliki nilai aktivitas enzim yang cukup baik. Pada penelitian ini dilakukan purifikasi dan karakterisasi enzim protease *Bacillus* sp. EK A19 dari usus kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*). Hasil dari data penelitian ini diharapkan dapat dipergunakan sebagai referensi ataupun untuk mendukung penelitian lain yang terkait karakteristik enzim protease *Bacillus* sp. dari isolat lain yang juga diisolasi dari saluran pencernaan hewan khususnya pada usus hewan kecoa. Selain itu masih sedikit jurnal yang meneliti tentang kemampuan dan karakteristik enzim protease *Bacillus* sp. yang diisolasi dari usus hewan kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*) dan juga karena enzim protease banyak dibutuhkan pada berbagai sektor industri, menjadikan penelitian ini cukup penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapa nilai tingkat kemurnian enzim protease *Bacillus* sp. EK A19?

2. Bagaimana pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19?
3. Bagaimana pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19
4. Bagaimana pengaruh variasi ion-ion logam terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dikemukakan, maka tujuan dari penelitian ini:

1. Mengetahui nilai tingkat kemurnian enzim protease *Bacillus* sp. EK A19
2. Mengetahui pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19.
3. Mengetahui pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19.
4. Mengetahui pengaruh variasi ion-ion logam terhadap aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. EK A19.

1.4 Asumsi

Nilai purifikasi (*fold*) menunjukkan berapa kali lipat nilai aktivitas spesifik enzim meningkat setelah aktivitas spesifik enzim setelah dipurifikasi. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat diketahui asumsi bahwa nilai purifikasi (*fold*) lebih besar dari 1 (satu).

Pada suhu tertentu protein akan stabil. Protein akan mengalami denaturasi pada suhu yang tinggi, menyebabkan protein kehilangan fungsinya. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat diketahui asumsi bahwa aktivitas enzim akan bervariasi terhadap suhu.

Protein pada enzim akan berubah strukturnya, yang dapat dipengaruhi oleh pH sehingga konformasi struktur protein berubah. Akibatnya, kemampuan katalitik enzim akan berkurang. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat diketahui asumsi bahwa variasi dari pH akan mempengaruhi aktivitas enzim.

Terdapat lokasi tempat terikatnya kofaktor dan inhibitor pada struktur enzim. Reaksi enzim dapat berjalan lebih cepat apabila suatu kofaktor terikat pada enzim, sedangkan reaksi enzim akan menjadi terhambat apabila suatu inhibitor terikat pada enzim. Ion-ion logam berperan sebagai kofaktor dan inhibitor, dimana ion-ion logam berperan sebagai pemberi atau penerima elektron pada enzim. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat diketahui asumsi bahwa aktivitas enzim akan bervariasi terhadap masing-masing ion logam.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dikemukakan, didapatkan 4 hipotesis.

1. Jika nilai aktivitas spesifik enzim yang telah dipurifikasi lebih tinggi dibanding nilai aktivitas spesifik enzim sebelum dipurifikasi, maka nilai purifikasi (*fold*) yang didapatkan pada enzim yang telah dipurifikasi bernilai lebih dari 1.
2. Jika enzim protease direaksikan dengan berbagai kondisi suhu kemudian nilai aktivitas enzimnya berubah (meningkat, menurun, menghambat, atau merusak enzim), maka variasi suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease.
3. Jika enzim protease direaksikan pada berbagai kondisi pH kemudian nilai aktivitas enzimnya berubah (meningkat, menurun, menghambat, atau merusak enzim), maka variasi pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease.
4. Jika enzim protease direaksikan dengan berbagai ion-ion logam yang berbeda kemudian nilai aktivitas enzimnya berubah (meningkat, menurun, menghambat, atau merusak enzim), maka variasi ion-ion logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim protease dan nilai aktivitas enzim protease

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini ditinjau dari aspek teoritis dan aplikatif:

1. Manfaat secara teoritis, dapat menambah ilmu pengetahuan seputar uji aktivitas, purifikasi dan karakterisasi enzim protease dari mikroorganisme yang diisolasi dari pencernaan kecoa (*Pycnoscelus surinamensis*).
2. Manfaat secara praktis, dapat memberikan informasi tentang proses purifikasi enzim serta karakteristik enzim protease dari *Bacillus* sp. EK A19 yang harapannya dapat berguna untuk penelitian yang terkait dan berguna pada bidang industri.