

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang dan Permasalahan

Salah satu upaya untuk meningkatkan kecepatan, ketepatan, dan efisiensi proses di dalam industri kimia adalah melibatkan enzim sebagai biokatalisator. Enzim dapat mempercepat reaksi kimia secara selektif, spesifik dan efisien (X. Huang dkk., 2020)(Fryszkowska dan Devine, 2020)(Woodley, 2020)(de María dkk., 2019)(Woodley, 2019). Namun dalam industri terkadang memaksa enzim bekerja pada lingkungan yang ekstrim, seperti lingkungan dengan kadar garam yang tinggi. Industri pembuatan kecap, terasi, dan sosis termasuk industri yang membutuhkan enzim yang mampu bekerja pada kondisi lingkungan kadar garam tinggi. (Naveed dkk., 2021)(Gao dkk., 2018)(Gao dkk., 2019). Penggunaan enzim pada industri makanan bertujuan untuk meningkatkan nutrisi, rasa, dan kualitas umum lainnya (Yao dkk., 2023). Enzim yang mampu bekerja dan stabil pada kadar garam tinggi (halostabil) sering ditemukan pada mikroorganisme yang telah beradaptasi dan hidup di lingkungan hipersalin atau kondisi garam yang tinggi (Naveed dkk., 2021)(Gao dkk., 2018)(Gao dkk., 2019).

Mikroorganisme halofilik merupakan golongan mikroba alami dari ekosistem hipersalin, yang tersebar luas di seluruh dunia. Mereka membutuhkan ion natrium untuk pertumbuhan dan metabolisme mereka. Jadi, berdasarkan kebutuhan optimal NaCl untuk pertumbuhan, tiga kategori yang digunakan untuk mengklasifikasikan halofilnya, yaitu ringan (1-3%), sedang (3-15%), dan berat (15-30%). Berbeda dengan organisme halotoleran, halofil obligat membutuhkan konsentrasi NaCl lebih tinggi dari 3% NaCl atau di atas air laut, dengan sekitar 3,5% NaCl. Parameter toleransi dan kebutuhan garam tergantung pada suhu, pH, dan media pertumbuhan. Ciri umum mikroorganisme halofilik adalah kebutuhan nutrisi yang rendah dan toleran terhadap konsentrasi garam yang tinggi dengan kapasitas untuk menyeimbangkan tekanan osmotik lingkungan (Corral dkk., 2020).

Bakteri halofilik merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim hidrolitik, seperti protease, yang dapat mempercepat reaksi hidrolisis protein menjadi oligopeptida yang lebih sederhana dan asam amino penyusunnya. Enzim halostabil dapat toleran dalam konsentrasi garam yang tinggi karena sebagian besar asam amino penyusun enzim halostabil adalah asam amino yang bersifat asam (Oren, 2002), yaitu seperti asam aspartat dan asam glutamat yang mempunyai rantai samping gugus karboksil (-COOH) (Budiharjo dkk., 2017).

Protease mewakili lebih dari 60% dari total industri enzim dunia. Enzim ini mudah untuk ditemukan diberbagai makhluk hidup seperti pada tumbuhan, hewan, dan mikroba. Protease menghidrolisis ikatan peptida dari polipeptida menjadi peptida yang lebih sederhana, bahkan menjadi bentuk asam amino penyusunnya (Razzaq dkk., 2019). Protease yang dihasilkan oleh bakteri halofilik memiliki peluang aplikasi dalam berbagai bidang industri karena diharapkan protease yang dihasilkan memiliki toleransi terhadap kadar garam tinggi, sehingga tidak kehilangan aktivitasnya (Kalwasińska dkk., 2018).

Isolasi protease dari bakteri halofilik telah dilakukan selama beberapa dekade terakhir. Pada tahun 2016, telah dilakukan isolasi protease dari bakteri *Bacillus sp.* Mk22 yang dapat bekerja pada secara optimal pada lingkungan dengan kadar NaCl 12%, pH 8, dan suhu 45°C (Ashokkumar dkk., 2016). Hal ini menunjukkan potensi dari bakteri halofilik dalam menghasilkan protease yang dapat bekerja dalam lingkungan hipersalin. Kadar garam yang terdapat pada lingkungan hidup bakteri halofilik dapat mempengaruhi enzim yang dihasilkan. Hal itu terjadi karena kation dari garam akan menempel pada muatan negatif gugus asam pada permukaan protease halofilik untuk menjaga stabilitas struktur enzim dan adanya efek *shielding* atau perlindungan dari pengaruh lingkungan (Oren, 2002).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi, kemampuan, dan karakteristik protease halostabil yang diperoleh dari bakteri halofilik *Bacillus calusii* J1G-0%B. Untuk dapat mengetahui hal tersebut dilakukan uji potensi isolasi protease halostabil pada bakteri halofilik *Bacillus calusii* J1G-0%B dalam

kondisi lingkungan tumbuh pada kadar NaCl 5%. Protease ekstraseluler yang diisolasi akan dikarakterisasi pH, suhu, dan kadar NaCl optimal, serta nilai V_{maks} dan K_M , stabilitas termal dan pH, dan juga penentuan jenis metaloprotease melalui uji kuantitatif dengan metode Lowry dan Kunitz. Data yang diperoleh dapat menjadi awal untuk penelitian lebih lanjut mengenai potensi penggunaan protease halostabil di berbagai sektor industri, seperti industri makanan dan pengelolaan limbah.

I.2 Rumusan Masalah

Masalah penelitian yang dibahas dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut, dengan mempertimbangkan latar belakang yang disebutkan di atas:

1. Apakah bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B memiliki potensi dalam menghasilkan protease ekstraseluler?
2. Bagaimana cara memproduksi dan memurnikan protease dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B?
3. Bagaimana karakteristik protease halostabil yang berasal dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B?
4. Apakah protease halostabil yang dihasilkan bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B termasuk dalam jenis metaloprotease?

I.3 Tujuan Penelitian

Berikut ini adalah tujuan dari penelitian ini:

1. Menentukan potensi protease dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B.
2. Memproduksi dan memurnikan protease dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B.
3. Menentukan karakteristik protease dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B.
4. Menentukan protease halostabil metaloprotease dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B.

I.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan kontribusi ilmiah yang signifikan dan memperluas pemahaman ilmiah, khususnya dalam bidang kimia

mengenai potensi bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B dalam menghasilkan protease pada kondisi lingkungan dengan kadar garam NaCl 5%, cara memfermentasi dan pemurnikan parsial enzim, serta karakteristik protease halostabil yang dihasilkan. Serta, sebagai sumber referensi tambahan untuk penelitian di masa depan dalam aplikasi protease halostabil di berbagai bidang industri, temuan penelitian ini diharapkan dapat memberikan beberapa manfaat.

.

