

ABSTRAK

Farida Rachmadian Aulia. 24020120130096. **Bioprospeksi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Haloalkalifilik dari Gunung Lumpur Kesongo sebagai Penghasil Enzim Protease.** Di bawah bimbingan oleh Anto Budiharjo dan Hermin Pancasakti Kusumaningrum.

Ekstremofil merupakan mikroorganisme yang dapat bertahan di lingkungan ekstrem dan menghasilkan enzim ekstremozim, seperti protease, yang memiliki stabilitas tinggi dan aplikatif dalam bioteknologi. Salah satu bakteri ekstremofil adalah bakteri haloalkalifilik yang mampu hidup di salinitas dan pH tinggi. Fenomena geotermal seperti Gunung Lumpur Kesongo di Blora, Jawa Tengah, menyimpan potensi besar sebagai sumber isolat bakteri haloalkalifilik penghasil enzim protease. Potensi ini mendasari dilakukannya bioprospeksi, yaitu proses eksplorasi keanekaragaman hayati guna menemukan sumber daya biologis baru yang memiliki nilai sosial dan ekonomi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengetahui karakteristik, menskrining bakteri proteolitik haloalkalifilik, mengetahui kondisi suhu dan pH untuk aktivitas protease isolat terbaik, serta mengidentifikasi secara molekuler isolat bakteri proteolitik haloalkalifilik terbaik dari Gunung Lumpur Kesongo. Metode yang dilakukan diawali dengan pengambilan sampel lumpur dari dua titik menggunakan media Luria Bertani (LB) modifikasi. Aktivitas proteolitik ditentukan dengan skrining menggunakan media *Skim Milk Agar*, diikuti dengan optimasi suhu dan pH. Identifikasi molekuler dilakukan melalui amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan PCR, diikuti elektroforesis, dan analisis filogenetik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 17 dari 35 isolat bakteri yang diperoleh menunjukkan tingkat aktivitas proteolitik yang berbeda-beda. Isolat BK4 merupakan isolat terbaik dengan hasil rerata Indeks Proteolitik 1,66. Hasil uji optimasi menunjukkan produksi enzim protease oleh isolat BK4 optimal pada pH 11 dan 37°C. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa bakteri proteolitik terbaik yaitu BK4 identik dengan *Halomonas salifodinae* BC7 dengan tingkat homologi mencapai 99,06%.

Kata Kunci: *Bioprospeksi, Bakteri Haloalkalifilik, Enzim Protease, Gunung Lumpur Kesongo.*

ABSTRACT

Farida Rachmadian Aulia. 24020120130096. **Bioprospecting and Molecular Identification of Haloalkaliphilic Bacteria from Kesongo Mud Volcano as Protease Enzyme Producers.** Under the supervision of Anto Budiharjo and Hermin Pancasakti Kusumaningrum.

Extremophiles are microorganisms capable of surviving in extreme environments and producing extremozymes, such as proteases, which exhibit high stability and hold significant potential for biotechnological applications. One example of extremophilic bacteria is haloalkaliphilic bacteria, which can thrive under high salinity and alkaline pH conditions. Geothermal phenomena such as the Kesongo Mud Volcano in Blora, Central Java, offer substantial potential as a source of haloalkaliphilic bacterial isolates producing protease enzymes. This potential underlies the implementation of bioprospecting, which involves exploring biodiversity to discover new biological resources with social and economic value. This study aims to isolate, characterize, and screen proteolytic haloalkaliphilic bacteria, determine the optimal temperature and pH for protease activity of the best isolate, and identify the best proteolytic haloalkaliphilic bacterial isolate molecularly from the Kesongo Mud Volcano. The methodology began with sampling mud from two points using modified Luria Bertani (LB) media. Proteolytic activity was assessed using *Skim Milk Agar* media, followed by temperature and pH optimization. Molecular identification was conducted through the amplification of the 16S rRNA gene using PCR, followed by electrophoresis and phylogenetic analysis. The results showed that 17 out of 35 bacterial isolates exhibited varying levels of proteolytic activity. Isolate BK4 was identified as the best isolate, with an average proteolytic index of 1.66. Optimization tests revealed that protease production by BK4 was optimal at pH 11 and 37°C. Molecular identification indicated that the best proteolytic bacterium, BK4, is identical to *Halomonas salifodinae* BC7, with a homology level of 99.06%.

Keyword: *Bioprospection, Haloalkaliphilic Bacteria, Protease Enzyme, Kesongo Mud Volcano.*