

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Enzim protease memegang peranan krusial dalam berbagai proses biologis dan bioteknologi. Sebagai enzim pendegradasi, protease berfungsi memecah ikatan peptida pada protein dan terlibat secara esensial dalam proses vital organisme, mulai dari regulasi pencernaan, pematangan hormon, hingga respons imun (Ash & Mishra, 2023). Pada tingkat ekologis, enzim ini juga sangat berperan dalam respons adaptasi tanaman terhadap berbagai jenis stres abiotik (Luciński & Adamiec, 2023). Mengingat fungsinya yang sangat destruktif jika berlebihan, aktivitas enzim protease mutlak harus diregulasi secara ketat oleh senyawa *Protease Inhibitors* (PIs). Inhibitor protease merupakan senyawa bioaktif yang secara spesifik mengikat dan memblokir aktivitas katalitik enzim protease, sehingga mencegah terjadinya hidrolisis protein yang tidak terkendali. Saat ini, inhibitor protease banyak dieksplorasi sebagai agen bioteknologi multifungsi dalam bidang medis (seperti antivirus dan antimikroba), industri, maupun pangan (Srikanth & Chen, 2016).

Seiring dengan meningkatnya kebutuhan inhibitor protease dalam berbagai bidang biologi dan bioteknologis, pencarian sumber alami yang efektif terus dikembangkan. Secara ekologis, tumbuhan diketahui sebagai salah satu penyintesis alami senyawa inhibitor protease, yang difungsikan sebagai mekanisme pertahanan diri terhadap patogen. Hal inilah yang

menjadikan *Plant Protease Inhibitors* (PPIs) atau inhibitor yang berasal dari tumbuhan sebagai kandidat utama untuk merancang senyawa pengendali patologi penyakit (Parisi *et al.*, 2024). Meskipun demikian, pemanfaatan sumber alami dari tanaman secara langsung memiliki beberapa hambatan, seperti ketergantungan musiman, keterbatasan ketersediaan biomassa, dan inefisiensi ekstraksi (Rutkowska *et al.*, 2023).

Oleh karena itu, diperlukan sumber alternatif yang berkelanjutan, salah satunya melalui pemanfaatan mikroorganisme endofit, khususnya kapang. Kapang endofit merupakan jamur yang hidup secara menetap di dalam jaringan tanaman yang aktif dan sehat tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inangnya (Prahesti *et al.*, 2018). Kapang hidup melalui simbiosis mutualisme, di mana kapang memperoleh nutrisi dari tanaman, sementara tanaman memperoleh peningkatan daya saing terhadap stres abiotik dan patogen (Bamisile *et al.*, 2023).

Berdasarkan penelitian terdahulu, interaksi simbiosis mutualisme antara kapang endofit dan tanaman inang menjadi dasar kuat bagi eksplorasi senyawa bioaktif, dimana kapang endofit mampu memproduksi senyawa bioaktif yang aktivitas biologis yang serupa dengan tanaman inangnya, meskipun golongan senyawa kimia spesifik yang diproduksinya berbeda (Wen *et al.* 2022). Secara ilmiah, terdapat beberapa tanaman yang telah terbukti pada penelitian sebelumnya dapat menghasilkan inhibitor protease, antaranya Lamtoro (*Leucaena leucocephala*), Mangga

(*Mangifera indica*), Sengon (*Falcataria moluccana*), Sirsak (*Annona muricata*), dan Talas (*Xanthosoma sagittifolium*).

Pencarian sumber inhibitor protease baru dari kapang endofit merupakan langkah strategis yang peluang eksplorasinya masih sangat luas, terutama di kawasan hutan tropis Indonesia. Salah satu kawasan yang menjanjikan adalah Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Wanadipa milik Universitas Diponegoro. Kawasan ini memiliki keanekaragaman hayati flora yang tinggi, tercermin dari keberadaan 60 jenis vegetasi di berbagai strata, yang berdampingan dengan stabilitas ekologis alami. Tekanan antropogenik di kawasan ini jauh lebih rendah dibandingkan lahan pertanian atau perkotaan. Minimnya paparan bahan kimia sintetis maupun gangguan lingkungan memungkinkan kelestarian komunitas mikrobioma yang murni dan terstruktur. Tingginya variasi tanaman di habitat yang ideal ini secara ekologis mendorong kapang endofit untuk menyintesis profil metabolit sekunder termasuk senyawa inhibitor protease yang berpotensi memiliki keunikan karakter dan efektivitas lebih tinggi dibandingkan isolat dari kawasan yang telah terdegradasi.

Berdasarkan tingginya keanekaragaman hayati tersebut serta konsep simbiosis mutualisme di mana kapang endofit mampu meniru aktivitas biologis inangnya, lima tanaman di kawasan ini (Lamtoro, Mangga, Sengon, Sirsak, dan Talas) dipandang sebagai inang yang sangat potensial. Mengingat hingga saat ini belum terdapat laporan mengenai kapang

endofit asal KHDTK Wanadipa yang berpotensi menghasilkan inhibitor protease, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, serta menguji aktivitas inhibitor protease dari senyawa kapang endofit asal kelima tanaman tersebut. Penemuan isolat dengan aktivitas inhibitor protease yang kuat ini diharapkan dapat membuka peluang pemanfaatannya sebagai agen bioaktif berspektrum luas, sekaligus mendukung inovasi bioteknologi yang berkelanjutan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana hasil isolasi kapang endofit dari jaringan tanaman potensial (lamtoro, mangga, sengon, sirsak, dan talas) asal KHDTK Wanadipa, serta bagaimana karakteristik morfologi dari isolat terpilih berdasarkan hasil *screening*?
- 1.2.2 Apakah isolat yang terpilih berpotensi sebagai penghasil senyawa inhibitor protease?

1.3. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah, didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut:

- 1.3.1. Mengisolasi kapang endofit dari jaringan tanaman potensial (lamtoro, mangga, sengon, sirsak, dan talas) asal KHDTK Wanadipa, serta mengkarakterisasi morfologi dari isolat terpilih berdasarkan hasil *screening*.

1.3.2. Mengetahui potensi isolat terpilih sebagai penghasil senyawa inhibitor protease.

1.4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai biodiversitas kapang endofit dari tanaman potensial di kawasan KHDTK Wanadipa UNDIP serta potensinya sebagai penghasil inhibitor protease. Selain itu, penelitian ini bermanfaat dalam menemukan isolat unggul sebagai agen bioaktif berspektrum luas, sekaligus mendukung inovasi bioteknologi yang berkelanjutan.