

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Enzim adalah protein yang berperan sebagai biokatalisator dalam suatu reaksi. Biokatalisator merupakan suatu zat yang dapat mempercepat proses biokimia dalam sel tanpa ikut terlibat. Enzim bekerja dengan spesifik dan bersifat reversible (bolak-balik). Enzim juga dapat berlaku sebagai pengatur molekuler dalam menentukan aktivitas katalitik dan perubahan energi karena enzim mampu merangkaikan kerja berbagai situs pengikat yang terdapat pada tempat yang terpisah pada molekul enzim tersebut. Beberapa jenis enzim yang banyak ditemui diantaranya adalah enzim amilase, lipase, protease, fosfatase, dan lain-lain. Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme produksinya lebih cepat dan lebih menguntungkan dibandingkan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan (Rori *et al.*, 2020).

Produk berbasis teknologi secara umum dibantu oleh enzim sebagai biokatalisator untuk pemenuhan kebutuhan manusia. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya penggunaan enzim dari tahun ke tahun hingga mencapai 10-15%. Penggunaan enzim di Indonesia mencapai 2.500 ton dengan nilai impor sebesar 200 milyar pada tahun 2017. Peningkatan ini mencapai sekitar 5-7% per tahun dalam kurung waktu 2015 sampai 2020 (Astriany *et al.*, 2022). Salah satu kelompok enzim yang digunakan sangat luas di berbagai bidang industri karena memiliki nilai ekonomis yang tinggi adalah enzim protease (Herasari *et al.*, 2022). Protease sendiri termasuk ke dalam tiga kelompok enzim terbesar dari industri enzim dan mencakup 65% dari total enzim yang diperjualbelikan. Namun, kebutuhan enzim di Indonesia masih belum terpenuhi dengan baik dan masih mengandalkan hasil impor. Enzim telah dipercaya menjadi salah satu katalis yang diminati karena enzim bekerja sangat efisien, asupan input energi yang rendah, dan ramah lingkungan (Singh *et al.*, 2016). Enzim gelatinase termasuk salah satu enzim yang dimanfaatkan dalam sektor industri baik industri farmasi, pangan, dan bioteknologi.

Gelatinase adalah kelompok enzim protease yang termasuk dalam metaloprotein ekstraselular atau metaloproteinase (MMP) yang mampu menghidrolisis gelatin dan senyawa lainnya seperti feromon, kolagen, kasein dan fibrinogen. Enzim gelatinase dapat berasal dari hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme seperti bakteri. Enzim gelatinase yang dihasilkan dari sel hewan memiliki substrat berupa kolagen sedangkan enzim gelatinase yang diproduksi oleh bakteri gelatinolitik menjadikan gelatin sebagai substratnya sehingga enzim gelatinase yang diperoleh dapat dioptimalkan dalam memecah gelatin. Enzim gelatinase berfungsi untuk menguraikan gelatin menjadi senyawa yang dapat melewati membran sel sehingga mampu digunakan oleh organisme. Untuk memproduksi gelatin dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam, hidrolisis basa, dan hidrolisis menggunakan enzim. Metode hidrolisis gelatin menggunakan enzim memiliki keunggulan yaitu gelatin yang dihasilkan akan memiliki kekuatan gel yang lebih tinggi tetapi penggunaan enzim masih jarang dilakukan untuk saat ini dikarenakan biaya yang mahal (Rahmawati & Nurjanah, 2020). Salah satu sumber alternatif yang dapat dilakukan untuk mendapatkan enzim gelatinase adalah dengan memanfaatkan kemampuan bakteri gelatinolitik. Potensi gelatinase dalam memproduksi hidrolisat gelatin semakin meningkatkan permintaan pada enzim ini (Nursyam & Prihanto, 2018). Enzim gelatinase juga mendapat banyak perhatian sebagai target pengembangan obat karena potensinya sebagai penghantar obat-obatan dan senyawa bioaktif (Komari dan Susilo, 2021) dan sebagai bahan dalam pembuatan cangkang kapsul lunak dan keras (Purba *et al.*, 2024). Pada bidang pangan, enzim ini digunakan sebagai pengembang, pembentuk gel, pengental, dan sebagainya. Dengan meningkatnya permintaan akan enzim gelatinase diperlukan penelitian lebih mendalam terkait bakteri potensial yang mampu menghasilkan enzim gelatinase.

Bakteri yang mampu menghasilkan enzim gelatinase disebut sebagai bakteri gelatinolitik. Bakteri gelatinolitik memanfaatkan gelatin sebagai sumber nutrisinya serta mampu menghidrolisis gelatin. Gen yang bertanggung jawab dalam mengkode gelatin disebut gen *gelE*. Jenis-jenis bakteri yang diketahui merupakan bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase diantaranya adalah *Micrococcus*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium*, *Salmonella*, *Vibriocomma*, dan *Chromobacterium violaceum* (Nursyam *et al.*, 2018). Salah satu mikroorganisme

potensial penghasil enzim gelatinase adalah bakteri gelatinolitik yang terdapat pada ekosistem mangrove. Ekosistem mangrove sendiri menjadi sumber potensial untuk bakteri penghasil enzim protease, amilase, dan selulase (Subagiyo *et al.*, 2017). Ekosistem mangrove memiliki komunitas mikroorganisme endofit yang kaya dikarenakan adaptasi yang dilakukan oleh mikroorganisme tersebut terhadap habitat mangrove yang cukup ekstrem. Ekosistem mangrove berada pada lingkungan dengan salinitas yang bervariasi, tanah yang berlumpur, dan diterjang oleh air laut secara terus-menerus. Kondisi lingkungan yang ekstrem ini menjadi faktor dalam mikroorganisme menghasilkan enzim dan senyawa bioaktif (Pessoa *et al.*, 2017). Mikroorganisme endofit ini bersimbiosis mutualisme tanpa merusak tanaman mangrove sebagai inang. Mikroorganisme endofit khususnya bakteri pada mangrove memiliki keanekaragaman tinggi yang mampu menghasilkan enzim seperti bakteri amilolitik, bakteri selulolitik, dan bakteri gelatinolitik (Yarashima *et al.*, 2024). Enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba diperlukan untuk menguraikan nutrisi yang kompleks menjadi lebih sederhana sehingga dapat ditransportasikan ke dalam sel sebagai nutrisi (Subagiyo *et al.*, 2017). Berat kering dari daun mangrove sendiri mengandung 61% protein yang dapat didegradasi oleh bakteri sebagai sumber nutrisinya. Bakteri endofit daun mangrove juga akan menguraikan serasah-serasah daun mangrove menjadi senyawa kompleks dan sumber nutrisi bagi tanah untuk kesuburan mangrove (Eriri *et al.*, 2024).

Penelitian yang dilakukan oleh Nursyam dan Prihanto (2018), diperoleh hasil analisis mikroorganisme endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizospora mucronata* yang mampu menghasilkan enzim gelatinase tipe MMP-2 yaitu *Enterobacter* sp. dengan menggunakan pendekatan molekuler gen 16s rRNA. Penelitian lain yang mendukung yaitu Prihanto *et al.* (2018) hasil analisis isolat bakteri endofit pada *Sonneratia alba* melalui uji *microbact system* mendapatkan hasil gelatinase yang positif dengan bakteri yang teridentifikasi positif dalam menghidrolisis gelatin adalah *Paenibacillus alvei*. Kedua penelitian tersebut masih menggunakan pendekatan konvensional dimana bakteri terlebih dahulu dikulturkan pada media kultur lalu diuji dengan *microbact system* dan berbasis gen 16s rRNA dimana bakteri yang dapat diuji adalah bakteri yang sesuai dengan media kultur sehingga keberagaman bakteri endofit yang ada pada daun mangrove tidak dapat dieksplorasi secara utuh.

Identifikasi bakteri endofit yang mampu menghasilkan enzim gelatinase telah banyak dilakukan dengan metode konvensional seperti kultur bakteri dan uji skrining biokimia. Kultur bakteri memiliki keterbatasan yakni bakteri yang dapat tumbuh adalah bakteri yang memiliki kesesuaian pada media tumbuh dan juga nutrisi yang tersedia sehingga tidak dapat melihat gambaran total dari bakteri yang ada (Kristianti & Amalia, 2023). Alternatif yang dapat digunakan adalah dengan mengidentifikasi keseluruhan genom bakteri dengan pendekatan metagenomik. Pendekatan metagenomik adalah teknik yang dilakukan untuk menganalisa kumpulan bakteri yang terdapat pada sampel daun tumbuhan mangrove agar dapat diidentifikasi sampai tahap spesies. Analisa sekuensing genom yang banyak digunakan dalam pendekatan metagenomik adalah *Next Generation Sequencing* (NGS). NGS memiliki keunggulan diantaranya membutuhkan sejumlah kecil sampel DNA untuk mendapatkan data dalam jumlah yang besar dengan sensitivitas dan spesifisitas yang sangat tinggi (Faisal *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Wangka *et al.* (2020) yang mengkaji mengenai analisis komunitas bakteri pada sedimen laut menggunakan NGS didapat hasil bahwa terdapat berbagai jenis bakteri yang hidup diantaranya berasal dari filum Gemmatimonadetes, Acidobacteria, Chioroflexi, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Cyanobacteria, dan Proteobacteria. Hasil penelitian ini menjadi acuan untuk dapat mengeksplorasi komunitas bakteri endofit pada daun mangrove *Sonneratia alba* dan mengidentifikasi bakteri endofit tersebut sebagai bakteri gelatinolitik. Dengan diketahuinya spesies-spesies bakteri gelatinolitik yang dapat menghasilkan enzim gelatinase peluang untuk dilakukannya riset lebih mendalam terkait potensi enzim gelatinase yang dihasilkan oleh bakteri gelatinolitik semakin tinggi dan diharapkan dapat diaplikasikan dalam berbagai sektor industri.

Berdasarkan uraian diatas, maka penting dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase pada tumbuhan mangrove *Sonneratia alba* dengan pendekatan metagenomik.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat diidentifikasi permasalahan sebagai berikut :

1. Tingkat penggunaan enzim terus meningkat sedangkan produksi enzim di Indonesia masih bergantung pada hasil impor.
2. Keberagaman bakteri gelatinolitik pada tanaman mangrove (*Sonneratia alba*) pada penelitian terdahulu masih menggunakan metode konvensional.
3. Diperlukan informasi mengenai bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri farmasi, pangan dan bioteknologi.

1.3 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam penelitian adalah eksplorasi keberagaman bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase pada daun mangrove (*Sonneratia alba*) dengan pendekatan metagenomik *next generation sequencing*.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini mencakup :

1. Penggunaan daun mangrove (*Sonneratia alba*) yang masih muda ditandai dengan posisi daun terletak di urutan ketiga dari pucuk.
2. Pendekatan metagenomik yang dilakukan adalah dengan analisis NGS (*Next Generation Sequencing*).
3. Bakteri yang dieksplorasi berfokus pada bakteri gelatinolitik yang ada pada daun mangrove (*Sonneratia alba*).
4. Analisis data berupa hasil sekuensing genom dan *heatmap* keberagaman bakteri yang diperoleh dari sampel daun mangrove (*Sonneratia alba*) dengan metode NGS dan bakteri gelatinolitik yang teridentifikasi pada daun mangrove (*Sonneratia alba*).

1.5 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah disebutkan di atas, maka rumusan masalah yang akan dikaji adalah :

1. Bagaimana keanekaragaman bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase pada daun tumbuhan mangrove (*Sonneratia alba*) menggunakan pendekatan metagenomik *next generation sequencing*.

1.6 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengidentifikasi bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase pada daun mangrove (*Sonneratia alba*) menggunakan pendekatan metagenomik *next generation sequencing*.

1.7 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sebagai informasi bagi mahasiswa dan masyarakat mengenai bakteri gelatinolitik penghasil enzim gelatinase pada tumbuhan mangrove (*Sonneratia alba*) yang bermanfaat dalam pengembangan di industri pangan dan bioteknologi.
2. Sebagai sumber informasi bagi mahasiswa maupun peneliti yang ingin mengkaji lebih dalam mengenai potensi enzim gelatinase dalam bidang industri.