

PEMILAHAN DAN KARAKTERISASI INHIBITOR PROTEASE DARI MIKROBA LAUT PADA BUNGA KARANG (SPONGE) KEPULAUAN SERIBU

*Tati Nurhayati¹⁾
Maggy T. Suhartono²⁾*

Dalam dasawarsa terakhir ini dilaporkan bahwa semakin jelasnya keterlibatan protease dalam mekanisme molekuler penyakit. Oleh karena itu perhatian terhadap protease sebagai senyawa target obat bagi penyakit asal bakteri, bahkan penyakit degeneratif semakin meningkat. Beberapa obat-obatan mempunyai mekanisme inhibitor protease. Hasil penelitian menunjukkan bahwa simbiosis mikrobial memainkan peranan dalam mempertahankan sponge inangnya. Oleh karena itu diperlukan penelitian dalam rangka menyediakan produk biomedis alamiah (inhibitor enzim) terkarakterisasi dengan baik dan berpotensi komersial tinggi yang berasal dari bakteri yang bersimbiose dengan sponge Laut Pulau Panggang, Kepulauan Seribu.

Tujuan penelitian ini adalah mengeksplorasi bakteri patogen penghasil protease sebagai bakteri uji, mengkarakterisasi protease yang dihasilkan oleh bakteri tersebut, mengeksplorasi dan mengkarakterisasi mikroba yang bersimbiose dengan sponge sebagai penghasil inhibitor protease, memurnikan protease dari *Pseudomonas aeruginosa*, mengidentifikasi mikroba yang bersimbiose dengan sponge sebagai penghasil inhibitor protease, melakukan optimasi media untuk mendapatkan inhibitor protease dengan waktu produksi yang lebih singkat, dengan aktivitas lebih tinggi.

Tahapan penelitian ini terbagi dua, pertama protease dan bakteri patogen dan kedua inhibitor protease. Tahap penelitian protease patogen meliputi screening bakteri patogen penghasil protease dengan menggunakan media luria bertani agar (LA) yang ditambah skim 1,5%, optimasi waktu produksi protease dengan menggunakan media yang sama (pengamatan meliputi pH, optical density, aktivitas protease, serta protein), produksi protease yang dilanjutkan dengan pengendapan ammonium sulfat dengan konsentrasi optimum, pemurnian protease yang mempunyai aktivitas tertinggi, karakterisasi protease (penentuan pH dan suhu optimum, serta logam inhibitor). Tahapan penelitian inhibitor protease meliputi pengumpulan sponge dari laut Pulau Panggang dengan kedalaman (4-12 meter), pemilahan dan pemurnian bakteri dalam medium marine agar, screening bakteri yang potensial sebagai penghasil inhibitor protease menggunakan media dua lapis (lapisan pertama terdiri atas marine agar dan lapisan kedua terdiri atas LA dan skim 1,5%), karakterisasi dan indentifikasi mikroba penghasil inhibitor protease, serta optimasi media agar mendapatkan media yang paling baik untuk menghasilkan inhibitor protease dengan aktivitas yang tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga jenis bakteri patogen (*P.aeruginosa*, *S.aureus*, dan *E. Coli*) menghasilkan protease cukup kuat. Hal ini ditunjukkan oleh indeks proteolitiknya yang cukup besar. Protease yang dihasilkan

¹⁾Ketua Peneliti (Staf Pengajar Departemen THP, FPTK-IPB); ²⁾Anggota Peneliti

oleh ketiga jenis bakteri tersebut diproduksi maksimum pada fase stasioner yaitu setelah diinkubasi selama 48, 16, dan 24 jam; mempunyai pH dan suhu optimum berturut-turut 8 dan 30°C, 7-8 dan 40°C, serta 8 dan 40°C. Aktivitas protease dari *P. aeruginosa* meningkat kuat dengan adanya ion logam Fe^{3+} dan sebaliknya dihambat kuat oleh ion logam Mn^{2+} (5mM) dan Fe^{3+} (1mM), sebaliknya dihambat oleh ion logam Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{3+} (5mM). Aktivitas protease dari *E. coli* meningkat dengan adanya ion logam Co^{2+} , Ba^{2+} (5mM). Namun dihambat oleh Na^+ , K^+ , dan Mn^{2+} . Aktivitas enzim meningkat setelah diendapkan oleh ammonium sulfat pada konsentrasi optimum, yaitu 70% (protease *P. aeruginosa*), dan 60% (protease *E. coli* dan *S. aureus*). Enzim protease *P. aeruginosa* dapat dimurnikan dengan menggunakan sephadex G-100 dengan derajat kemurnian tertinggi 2,42 dan aktivitas spesifik 0,36 U/mg protein.

Berdasarkan hasil screening ada 4 jenis isolat yang potensial sebagai penghasil inhibitor protease, yaitu isolat 6A3, 9A5.1 (*A. baumannii*), 10A6 (*A. Johnsonii*) dan 1A1.2 (*Alpha Proteobacterium*) Ketiga isolat pertama merupakan bakteri gram negatif dan yang terakhir merupakan bakteri gram positif. Isolat 6A3, 9A5.1 dan 10A6 selnya berbentuk bulat, sedangkan 1A12 berbentuk batang. Seluruh isolat tidak ada satupun yang mendegradasi gelatin.

Media yang baik untuk menghasilkan inhibitor protease dalam waktu relatif singkat dan aktivitas inhibitor protease yang tinggi digunakan media special peptone 0,5%, yeast ekstra 0,1%, glukosa 0,1%, NaCl 2%, trace element 0,2% dengan pH awal medium 7 (untuk isolate 9A51), media dengan komposisi special peptone 0,5%, yeast ekstrak 0,1%, glukosa 0,1%, NaCl 2%, trace elemen 0,2% dengan pH awal medium 8 (untuk isolat 1A12), dan media dengan komposisi special peptone 0,5%, yeast ekstrak 0,1%, Glukosa 0,1%, NaCl 2%, trace element 0,2% dengan pH awal medium 7 (isolate 6A3).

Inhibitor protease yang dihasilkan oleh isolate 1A12 mempunyai karakteristik sebagai berikut: suhu optimum 300C, pH optimum 7, mempunyai ketahanan panas hingga 700C, serta stabil hingga 8 jam pada kondisi optimum. Sementara itu inhibitor protease yang dihasilkan oleh isolate 6A3 mempunyai suhu optimum 300C, pH optimum 5, mempunyai ketahanan panas hingga 700C, serta stabil hingga penyimpanan 8 jam pada kondisi optimum.