

Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Termostabil

Characterization Of Thermophilic Bacteria Producing Thermostable Protease Enzymes

Hidayatul Anfal¹, D. Andang Arif Wibawa^{1*}, Rizal Maarif Rukmana²

¹Program Studi D4 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta, Jl. Letjend Sutoyo, Mojosongo, Jebres, Surakarta 57127, Telp (0271) 852518, Fax (0271) 853275

²Program Studi D4 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta, Jl. Letjend Sutoyo, Mojosongo, Jebres, Surakarta 57127, Telp (0271) 852518, Fax (0271) 853275

*Corresponding authors: andangbiotekusb@gmail.com

INTISARI

Enzim protease merupakan enzim yang sangat berperan dalam proses hidrolisis untuk memecah ikatan peptida dari protein yang dikonsumsi menjadi asam amino dan oligopeptida yang memudahkan untuk dilakukan absorpsi. Enzim protease memiliki potensi besar dalam bidang industri, enzim yang digunakan bersifat termostabil dan bisa diperoleh dari mikroorganisme termofilik. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakteristik bakteri termofilik sebagai penghasil enzim protease termostabil. Metode yang digunakan adalah analisis *literature review*, pencarian literatur dilakukan dengan mengumpulkan data dari berbagai jurnal atau artikel internasional secara online melalui “Google Scholar”, “Science Direct”, dan “Perpustakaan Nasional” yang mencakup variabel yang akan diteliti yaitu bakteri termofilik sebagai penghasil enzim protease termostabil. Berdasarkan hasil penelitian literatur menunjukkan bahwa bakteri termofilik penghasil protease termostabil yang berasal dari sumber air panas, tanah atau lumpur dari air panas, dan ladang minyak geothermal memiliki karakteristik yang spesifik baik dalam suhu dan pH optimum untuk pertumbuhannya. Bakteri yang ditemukan juga bervariasi dalam jenis, bentuk, sifat Gram dan pembentukan spora. Bakteri termofilik penghasil protease termostabil yang dominan adalah *Bacillus sp.* Enzim protease yang dihasilkan oleh beberapa bakteri juga memiliki karakteristik yang berbeda dalam berat molekul, suhu dan pH optimum untuk aktivitasnya.

Kata kunci : karakteristik, bakteri termofilik, protease termostabil

ABSTRACT

*Protease enzyme is an enzyme that plays an important role in the hydrolysis process to break peptide bonds from proteins consumed into amino acids and oligopeptides that make absorption easier. Protease enzymes have great potential in industry, the enzymes used are thermostable and be obtained from thermophilic microorganisms. This research aims to study the characteristics of thermophilic bacteria as a producer of thermostable protease enzymes. The method used is a literature review analysis, literature search is done by collecting data from various international journals or articles online through “Google Scholar”, “Science Direct” and “National Library” which includes variables to be investigated, namely thermophilic bacteria as an enzyme producer thermostable protease. Based on the results of literature research shows that thermostable protease producing thermophilic bacteria from hot springs, soil or mud from hot spring, and geothermal oil fields have specific characteristics both in optimum temperature and pH for growth. The bacteria found also varied in type, shape, character of Gram and spore formation. The dominant thermophilic protease producing bacteria was *Bacillus sp.* The protease enzymes produced by some bacteria also have different characteristics in the optimum molecular weight, temperature and pH for their activity.*

Keywords : characteristics, thermophilic bacteria, thermostable protease



Penerbit: **USB Press**

Jl. Letjend. Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

Email : usbpresssolo@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kaya akan mikroorganisme yang memberikan banyak manfaat untuk manusia. Manfaat utamanya adalah memproduksi bahan-bahan bernilai ekonomis yang dihasilkan oleh mikroorganisme salah satunya yaitu enzim (Runtuboi *et al.*, 2018). Penggunaan enzim di bidang industri dimanfaatkan dalam pembuatan makanan dan minuman, industri tekstil, industri kulit dan kertas, serta setiap produksinya tidak terlepas oleh aktivitas enzim (Oktavia dkk, 2018). Enzim pada bidang industri dapat bereaksi pada suhu tinggi. Enzim termostabil sangat diminati karena penggunaannya dapat mengurangi resiko terjadinya kontaminasi, meningkatkan laju transfer massa dan menuju kearah pembentukan suatu produk (Nanda *et al.*, 2017). Aplikasi enzim di dalam industri bioteknologi menuntut enzim yang tahan terhadap lingkungan ekstrem. Faktor yang dapat merusak enzim adalah suhu, sehingga sangat diperlukan suatu enzim yang mempunyai sifat termostabil. Salah satu enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang bersifat termostabil dan banyak digunakan dalam bidang industri adalah enzim protease (Nur dan Retno, 2014).

Protease atau disebut juga enzim pemecah protein sangat berperan dalam proses hidrolisis untuk memecah ikatan peptida dari protein yang dikonsumsi menjadi asam amino dan oligopeptida yang memudahkan untuk dilakukan absorpsi. Enzim protease digunakan di berbagai bidang terutama bidang medis dan bidang industri. Pemanfaatan enzim protease dibidang medis sebagai terapi misalnya pengobatan tumor, radang, kelainan darah dan menentukan tingkat kekebalan tubuh (Soeka *et al.*, 2011). Protease sebagai salah satu enzim yang memiliki peran aktif dan memberikan manfaat besar dengan jumlah 59% dalam bidang industri yang akan menghasilkan suatu produk berkualitas dengan nilai jual tinggi (Nur dan Retno, 2014). Bidang industri memanfaatkan enzim protease untuk membantu proses industri pangan dan non pangan. Contoh penggunaan enzim protease dalam industri pangan seperti industri bir, daging, pengolahan susu, dan keju. Industri non pangan diantaranya yaitu industri detergen, industri tekstil, industri farmasi dan berperan aktif dalam proses pengolahan limbah (Firliani *et al.*, 2015).

Enzim yang digunakan dalam bidang industri biasanya enzim yang bersifat termostabil dan bisa diperoleh dari mikroorganisme termofil atau hipertermofil (Nur dan Retno, 2014). Bakteri termofilik mampu bertahan hidup pada suhu tinggi dan tumbuh optimal pada suhu 45°C-80°C (Samuel, 2018). Habitat bakteri termofilik berada di lingkungan yang bersuhu tinggi seperti daerah kawah gunung berapi, sumber air panas, erupsi gunung berapi, tanah yang mengalami fermentasi kompos, sedimen laut geotermal (Marwati Arji1, 2018).

Rakhmawati dan Yulianti, (2014) telah berhasil mengisolasi bakteri termofilik dari sampel pasca erupsi Merapi sebagai penghasil enzim amilase dan protease yang dilakukan inkubasi pada suhu 55°C selama 24 jam, dari masing-masing isolat didapatkan 15 isolat yang menghasilkan enzim amilase dan sebanyak 35 isolat mampu menghasilkan enzim protease. Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan *et al* (2017) sampel yang diperoleh berasal dari sumber air panas Semurup, Kabupaten Kerinci, Jambi menghasilkan 120 isolat bakteri termofilik yang telah dilakukan inkubasi 55°C selama 12 jam, 50 isolat diantaranya mampu menghasilkan enzim protease termostabil.

Enzim yang bersifat termostabil dapat diperoleh dari mikroorganisme yang bersifat termofilik. Berdasarkan uraian diatas maka diperlukan pengetahuan karakterisasi bakteri penghasil enzim protease serta aktivitas enzim yang dihasilkan oleh beberapa jenis bakteri termofilik. Penelitian ini dilakukan berdasarkan studi literatur atau *mini review*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan analisis *literature review*, pencarian literatur dilakukan dengan mengumpulkan data dari berbagai jurnal atau artikel internasional dan jurnal non akreditasi secara online melalui situs “Google Scholar”, “Science Direct” dan “Perpustakaan Nasional” masing-masing jurnal

ditelusuri URL atau DOI melalui <https://sci.hub.tw/> dengan kata kunci pencarian “*thermophilic bacteria*”, “*protease thermostable*”, “*protease from geothermal*”, “*protease from hot spring*” dan enzim protease termostabil. Pemilihan literatur yang diambil berdasarkan kriteria jurnal yang sesuai dengan variabel yang diteliti yaitu bakteri termofilik sebagai penghasil enzim protease termostabil. Kriteria jurnal atau artikel disaring berdasarkan judul literatur, abstrak dan kata kunci. jurnal internasional yang digunakan adalah jurnal terakreditasi dan jurnal nasional non akreditasi atau Sinta 4 dan Sinta 5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Karakteristik Bakteri Termofilik

Judul	Karakterisasi Bakteri			Penulis
	Asal Bakteri	Tumbuh Optimum Bakteri	Spesies	
Purification and characterization of an extracellular protease from alkaliphilic and thermophilic <i>Bacillus sp</i> PS719	Sampel tanah dari mata air panas	Suhu : 50°C pH : 9,0	<i>Bacillus sp</i> PS719	Towatana <i>et al.</i> , 1999
Purification and characterization of the highly thermostable proteases from <i>Bacillus stearothermophilus</i> TLS33	Sumber air panas di Chiang Mai, Thailand	Suhu : 65°C pH : 7,2	<i>Bacillus stearothermophilus</i> TLS33	Sookkheo <i>et al.</i> , 2000
Purification and characterization of a protease from thermophilic <i>Bacillus</i> strain HS08	Sampel tanah dari kawah Toulufan, China	Suhu : 46°C pH : 7,2	<i>Bacillus</i> strain HS08	Huang <i>et al.</i> , 2006
Purification and characterization of a thermostable protease from a newly isolated <i>Geobacillus sp</i> YMTC 1049	Sumber air panas di Rehai, Tengchong, Provinsi Yunan, China	Suhu : 65°C pH : 7,5	<i>Geobacillus sp</i> strain YMTC 1049	Zhu <i>et al.</i> , 2007

Purification and partial characterization of a thermostable alkaline protease from <i>Bacillus licheniformis</i> LHSB-08 isolated from hot spring	Sampel tanah dari sumber air panas Nigeria	Suhu : 50°C	<i>Bacillus licheniformis</i> LHSB-08	Olayugigbe dan Kolawole, 2011
Extracellular serine protease produced <i>Thermoactinomyces</i> strains from hot springs and soils of West Anatolia	Sumber air panas Anatolia Barat	Suhu : 50°C pH : 10,5	<i>Thermoactinomyces</i>	Aksoy <i>et al.</i> , 2012
Screening and characterization of the alkaline protease isolated from PLI-1, a strain of <i>Brevibacillus sp</i> collected from Indonesia's hot springs	Tiga wilayah sumber air panas Indonesia (Pantai Cermin, Kaliand, Banyu Wedang)	Suhu : 55°C pH : 7,5	<i>Brevibacillus sp</i>	Wang <i>et al.</i> , 2012
Production, purification and characterization of thermostable metallo-protease from newly isolated <i>Bacillus sp</i> KG5	Sampel lumpur dari air panas Kos (Bingol) Turki	Suhu : 45°C pH : 7,0	<i>Bacillus sp</i> KG5	Ahmetoglu <i>et al.</i> , 2015
Biochemical characterization of a detergent-stable serine alkaline protease from <i>Caldicoprobacter guelmensis</i>	Sumber air panas Terrestrial, Guelma	Suhu : 70°C pH : 7,2	<i>Caldicoprobacter guelmensis</i>	Bouacem <i>et al.</i> , 2015

Purification, characterization of a new thermostable, haloalkaline, solvent stable, and detergent compatible serine protease from <i>Geobacillus toebii</i> strain LBT 77	Pemandian air panas, Tunisia	Suhu : 55°C pH : 9,0	<i>Geobacillus toebii</i> strain LBT 77	Thebti <i>et al.</i> , 2016
Alkaline protease enzyme from <i>B. licheniformis</i> A10 : purification, characterization, effect of surfactans and organic solvent	Pemandian air panas, di Erzurum, Ilica	Suhu : 50°C pH : 8,5	<i>Bacillus licheniformis</i> A10	Yilmaz <i>et al.</i> , 2016
Characterization of a novel protease from <i>Aeribacillus pallidus</i> strain VP3 with potential biotechnological interest	Ladang minyak geothermal di Sfax, Tunisia	Suhu : 78°C pH : 7,6	<i>Aeribacillus pallidus</i> strain VP3	Mechri <i>et al.</i> , 2017
Purification and characterization of alkaline soda-bleach stable from <i>Bacillus sp.</i> APP-07 isolated from Loundromat soil	Sampel tanah di Loundromat, India	Suhu : 55°C pH : 10,5	<i>Bacillus sp.</i> APP-07	Shaikh <i>et al.</i> , 2018
Purification, characterization of extracellular thermotolerant alkaliphilic serine protease secreted from isolated <i>Bacillus sp.</i> DEM07 from a hot spring in Dehloran, Iran	Sumber air panas Dehloran, Iran	Suhu : 45°C pH : 9,0	<i>Bacillus sp.</i> DEM07	Nazari dan Mehrabi, 2019

Heterologous expression and characterization of a novel subtilin-like protease from a thermophilic <i>Thermus thermophilus</i> HB8	Sumber air panas pertambangan, Jepang	Suhu : 85°C pH : 7,5	<i>Thermus thermophilus</i> HB8	Xie <i>et al.</i> , 2019
--	---------------------------------------	-------------------------	------------------------------------	--------------------------

Bakteri termofilik yang dihasilkan oleh beberapa spesies memiliki karakter yang berbeda-beda, diantaranya yaitu *Brevibacillus sp* memiliki sifat Gram positif, bentuk basil pendek, bentuk koloni bulat, buram dengan tepian rapi, permukaan koloni halus (Wang *et al.*, 2012). *Bacillus licheniformis* LHSB-05 memiliki sifat Gram positif, bentuk basil, spora ellipsoidal, koloni berwarna putih krem, berlendir, bergelombang dan uji katalase positif (Olajuyigbe & Kolawole, 2011). *Bacillus sp* strain DEM07 memiliki sifat Gram positif, bentuk basil pendek, membentuk spora dan katalase positif (Nazari dan Mehrabi, 2019). *Bacillus sp* KG5 memiliki sifat Gram positif, bentuk basil, memiliki endospore oval dan sentral, bersifat anaerob fakultatif (Ahmetoglu *et al.*, 2015).

Berdasarkan pencarian literatur terdapat beberapa hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri termofilik mampu menghasilkan enzim protease termostabil. Sampel yang diambil dari beberapa tempat sumber air panas ditemukan 6 spesies bakteri *Bacillus sp*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2012) berhasil mengisolasi bakteri *Brevibacillus sp* yang mampu tumbuh optimum pada suhu 55°C. Penelitian Thebti *et al.* (2012) menunjukkan bahwa bakteri *Geobacillus toebii* strain LBT 77 juga tumbuh optimum pada suhu 55°C. Sedang isolat bakteri *Geobacillus sp* YMTC 1049 pada penelitian Zhu *et al.* (2007) ditemukan dapat tumbuh optimum pada suhu 65°C. Suhu optimal mirip dengan *Bacillus stearothermophilus* TLS33 (Sookkheo *et al.*, 2000). Pertumbuhan bakteri pada suhu optimum lebih rendah yaitu 45°C dihasilkan oleh *Bacillus* DEM07 (Nazari dan Mehrabi, 2019). Selain spesies *Bacillus sp*, sampel yang diambil dari sumber air panas pertambangan Jepang didapatkan isolat bakteri *Thermus thermophilus* HB8 yang tumbuh optimum dan stabil baik pada suhu 85°C dengan aktivitas 50% setelah diinkubasi selama 48 jam (Xie *et al.*, 2019), *Caldicoprobacter guelmensis* hasil isolasi dari sumber air panas Terrestrial, Guelma tumbuh optimum pada suhu 70°C (Bouacem *et al.*, 2015) dan *Thermoactinomyces* hasil isolasi dari sumber air panas Anatolia Barat tumbuh optimum 50°C (Aksoy *et al.*, 2012).

Data literature hasil penelitian menunjukkan sampel yang digunakan untuk isolasi bakteri termofilik diantaranya menggunakan sampel tanah dan lumpur yang diambil dari beberapa tempat sumber air panas. Suhu pertumbuhan optimum yang berbeda ditemukan 5 spesies bakteri *Bacillus sp*, yang tumbuh optimal pada kisaran suhu 45°C-50°C. Selain tanah, lumpur dan sumber air panas yang digunakan sebagai sumber penghasil bakteri termofilik, *Aeribacillus pallidus* strain VP3 berhasil diisolasi dari ladang minyak geothermal di Sfax, Tunisia yang mampu tumbuh optimal pada suhu 78°C (Mechri *et al.*, 2017).

Suhu menjadi salah satu faktor penting dalam kehidupan mikroba. Suhu pertumbuhan mikroba dikenal dengan suhu minimum, suhu optimum dan suhu maksimum. Suhu minimum adalah suhu terendah untuk proses tumbuh mikroba. Suhu optimum adalah suhu yang paling baik digunakan sebagai kehidupan mikroba. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi yang masih menghasilkan mikroba (Rahayu, 2014). Berdasarkan suhu optimum pertumbuhan bakteri, secara umum dibedakan menjadi 4 macam yaitu, psikrofil (-3-20°C), mesofil (13-45°C), termofil (45-65°C), ekstrem termofil (65-85°C), dan hipetermofil (>85°C). Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang dihasilkan merupakan bakteri termofilik

yang mampu tumbuh dan bertahan hidup pada kisaran suhu 45°C-85°C. Bakteri termofilik mengandung protein yang mampu bertahan pada suhu panas dan tahan terhadap denaturasi sehingga lebih mudah menyesuaikan kondisi lingkungan yang mempunyai suhu ekstrim (Firliani *et al.*, 2015)

Tabel 2. Karakterisasi Enzim Protease Termostabil

Bakteri Termofilik	Aktivitas Optimum Protease		Berat Molekul	Penulis
	Suhu	pH		
<i>Bacillus sp</i> PS719	75°C	9,0	42 kDa	Towatana <i>et al.</i> , 1999
<i>Bacillus stearothermophilus</i> TLS33	S : 70°C N : 85°C B : 90°C	S : 8,5 N : 7,5 B : 7,0	S : 36 kDa N : 53 kDa B : 71 kDa	Sookkheo <i>et al.</i> , 2000
<i>Bacillus</i> strain HS08	65°C	7,5	30,9 kDa	Huang <i>et al.</i> , 2006
<i>Geobacillus sp</i> strain YMTC 1049	85°C	7,5	59,2 kDa	Zhu <i>et al.</i> , 2007
<i>Bacillus licheniformis</i> LHSB-05	50°C	9,0	16 kDa	Olajuyigbe & Kolawole, 2011
<i>Thermoactinomyces</i>	60°C	11	28 kDa	Aksoy <i>et al.</i> , 2012
<i>Brevibacillus sp</i>	70°C	8,0-9,0	56 kDa	Wang <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus sp</i> KG5	40-45°C	7,0	48 kDa	Ahmetoglu <i>et al.</i> , 2015
<i>Caldicoprobacter guelmensis</i>	70°C	10	55 kDa	Bouacem <i>et al.</i> , 2015
<i>Geobacillus toebii</i> strain LBT 77	50°C	8,0	30 kDa	Thebti <i>et al.</i> , 2015

<i>Bacillus licheniformis</i> A10	70°C	9,0	40,55 kDa	Yilmaz <i>et al.</i> , 2016
<i>Aeribacillus pallidus</i> VP3	60°C	10	29 kDa	Mechri <i>et al.</i> , 2017
<i>Bacillus sp</i> APP-09	55°C	10,5	33 kDa	Shaikh <i>et al.</i> , 2018
<i>Bacillus sp</i> DEM07	50°C	10	27,5 kDa	Nazari dan Mehrabi, 2019
<i>Thermus thermophilus</i> HB8	75°C	7,5	35 kDa	Xie <i>et al.</i> , 2019

Karakteristik enzim protease termostabil dari berbagai strain bakteri termofilik memiliki suhu optimum, pH optimum dan berat molekul protease yang berbeda. Berdasarkan penelitian literatur yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri termofilik mampu menghasilkan enzim protease yang aktif pada kisaran suhu optimum 45°C-90°C dan stabil pada pH 7,0-11. Sookkheo *et al.* (2000) menunjukkan aktivitas optimum protease yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus stearothermophilus* TLS33 memiliki suhu optimum tertinggi yaitu 90°C dan pH optimum 7,5 (Protease B), Suhu optimal mirip dengan protease dari *Geobacillus sp* YMTC 1049 yang aktif pada suhu 85°C.

Beberapa literature menunjukkan bahwa bakteri termofilik aktif pada pH netral dan alkali. Protease netral yang dihasilkan dari genus *Bacillus sp* sangat potensial dalam bidang industri karena enzim hemat biaya serta penggunaan substrat murah seperti laktosa dan ekstrak ragi (Ahmetoglu *et al.*, 2015). Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Sandhya *et al.*, 2005 dalam Ahmetoglu *et al.*, 2015 bahwa pentingnya penggunaan protease netral dalam proses industri makanan karena mereka memiliki fungsi spesifik dapat mengurangi kepahitan protein pada makanan dengan menghidrolisis ikatan asam amino hidrofob pada pH netral. Protease alkali yang dihasilkan oleh bakteri *Caldicoprobacter guelmensis* menunjukkan tingkat aktivitas dan stabilitas yang tinggi pada kisaran suhu dan pH yang luas sangat dibutuhkan di industri deterjen (Bouacem *et al.*, 2015). Penelitian yang sama dilakukan oleh Yilmaz *et al.* (2016) bahwa protease yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* A10 merupakan protease yang aktif pada pH basa yang memiliki keuntungan besar dalam penggunaannya terutama untuk formulasi deterjen serta penerapan dibidang bitekologi lainnya.

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama adalah suhu dan pH (derajat keasaman). Setiap enzim memerlukan suhu dan pH optimum yang berbeda-beda karena enzim merupakan protein yang dapat mengalami perubahan pada bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar suhu dan pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya mengalami kerusakan (Kosim, 2010 dalam Soeka dan Sulistiani, 2014).

Data literatur menunjukkan bahwa setiap spesies bakteri menghasilkan berat molekul protease yang berbeda-beda. Elektroforesis dilakukan untuk memperkirakan berat molekul atau untuk mengetahui

kandungan protein secara kualitatif (Yilmaz *et al.*, 2016). Penelitian oleh Sookkheo *et al.* (2000) menunjukkan tiga protease termostabil baru yang ditunjukkan dengan kode S,N,B yang dimurnikan dari kultur *Bacillus stearothermophilus* TLS33. Tiga protease tersebut dimurnikan menggunakan kromatografi afinitas lisin dan menunjukkan bahwa protease S memiliki berat molekul terendah (36 kDa). Berat molekul protease N (53 kDa) dan protease B (71 kDa), kedua protease tersebut diklasifikasikan sebagai metalloprotease Zn_{21} netral termostabil dan digolongkan kedalam protease yang mirip dengan thermolysin.

Pemanfaatan enzim protease dibidang medis dapat digunakan sebagai terapi misalnya pengobatan tumor, kanker, radang, kelainan darah dan menentukan tingkat kekebalan tubuh (Soeka *et al.*, 2011). Balachandran *et al.* (2012) menunjukkan protease termostabil yang dihasilkan oleh bakteri *Actinomyces* memiliki suhu optimum 50°C dan pH optimum 8-9. Sebanyak 46 koloni yang didapatkan hanya diperoleh dua isolat murni yang memiliki efek sitotoksik (menghambat atau menghentikan pertumbuhan sel kanker), isolat yang ditunjuk adalah isolat ERIA-31 dan isolat ERIA-33. Protease dari isolat ERIA-31 dan ERIA-33 menunjukkan sitotoksik yang signifikan pada garis sel kanker A549 (garis sel epitel adenokarsinoma paru-paru pada manusia). Protease dari isolat ERIA-31 menunjukkan sitotoksitas maksimum terhadap sel kanker pada konsentrasi 30 μ g/mL, dan protease dari isolat ERIA-33 menunjukkan adanya sitotoksitas terhadap sel kanker pada konsentrasi 55,07 μ g/mL.

KESIMPULAN

Berdasarkan pencarian studi literature terdapat beberapa hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri termofilik penghasil protease termostabil yang berasal dari sumber air panas, tanah atau lumpur dari air panas, dan ladang minyak geothermal memiliki karakteristik yang spesifik baik dalam suhu maupun pH optimum untuk pertumbuhannya. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri termofilik berkisar antara 45°C-85°C, sedangkan pH optimum bakteri termofilik berkisar antara 7,0-10,5. Bakteri yang ditemukan juga bervariasi dalam jenis, bentuk, sifat Gram dan pembentukan spora. Bakteri termofilik penghasil protease termostabil yang dominan adalah *Bacillus sp.* Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri-bakteri tersebut juga memiliki karakteristik yang berbeda, aktivitas maksimum enzim protease bervariasi pada suhu 45°C-90°C dan stabil pada pH 7,0-11.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmetoglu, N., Bekler, F. M., Acer, O., Guven, R. G., & Guven, K. 2015. Production, purification and characterisation of thermostable metallo-protease from newly isolated bacillus sp KG5. *EurAsian Journal of BioSciences*, 9 January, 1–11. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2015.9.0.1>
- Aksoy, S. C., Uzel, A., & Hames Kocabas, E. E. 2012. Extracellular serine proteases produced by *Thermoactinomyces* strains from hot springs and soils of West Anatolia. *Annals of Microbiology*, 62(2), 483–492. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0280-z>
- Anna Rakhmawati, Evi Yulianti, Eli Rohaeti. 2014. Seleksi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Amilase Dan Protease. *J. Sains Dasar*, 3.
- Balachandran, C., Duraipandian, V., & Ignacimuthu, S. 2012. Purification and characterization of protease enzyme from actinomycetes and its cytotoxic effect on cancer cell line (A549). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1 SUPPL.),S392–S400. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60195-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60195-6)
- Bouacem, K., Bouanane-Darenfed, A., Laribi-Habchi, H., Elhoul, M. Ben, Hmida-Sayari, A., Hacene, H.,Bejar, S. 2015. Biochemical characterization of a detergent-stable serine alkaline protease from *Caldicoprobacter guelmensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.011>
- Firliani, W., Agustien, A., & Febria, A. 2015. Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral Characterization of Thermophilic Bacteria in Producing Neutral Protease Enzymes. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(1), 9–14.

- Huang, G., Ying, T., Huo, P., & Jiang, J. 2006. Purification and characterization of a protease from Thermophilic bacillus strain HS08. *African Journal of Biotechnology*, 5(24), 2433-2438. <https://doi.org/10.5897/AJB06.451>
- Mechri, S., Ben Elhoul Berrouina, M., Omrane Benmrads, M., Zarai Jaouadi, N., Rekik, H., Moujehed, E., Jaouadi, B. 2017. Characterization of a novel protease from *Aeribacillus pallidus* strain VP3 with potential biotechnological interest. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 221-232. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.112>
- Nanda, P. T., Siregar, S. A., & Kurniawan, R. 2017. *Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termotabil Air Panas Kerinci*. 2(1).
- Nazari, L., & Mehrabi, M. 2019. Purification and characterization of an extracellular thermotolerant alkaliphilic serine protease secreted from newly isolated *Bacillus* sp. DEM07 from a hot spring in Dehloran, Iran. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18 Februari, 101053. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019/1001053>
- Nur, Y., & Retno, P. 2014. *Proteolytic Microorganisms Activity Isolated From Hot Spring*. 3(3), 183-188.
- Oktavia, Yulia dkk. 2018. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri *Stolephorus* sp. *Jurnal Ilmu Teknologi Kelautan Tropis*, 719-725.
- Olajuyigbe, F. M., & Kolawole, A. O. 2011. Purification and partial characterization of a thermostable alkaline protease from *Bacillus licheniformis* LHSB-05 isolated from hot spring. *African Journal of Biotechnology*, 10(55), 11703-11710. <https://doi.org/10.5897/AJB11.717>
- Runtuboi, D. Y. P., Gunaedi, T. R. I., Simonapendi, M., & Pakpahan, N. N. L. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Provinsi Papua. 10(2), 68-73. <https://doi.org/10.31957/jpb.474>
- Samuel, S. S. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik, Produser Enzim, Dari Danau Linow, Sulawesi Utara. *Jurnal Murni Dan Terapan Mikrobiologi*, 544.
- Shaikh, I. K., Dixit, P. P., & Shaikh, T. M. 2018. Purification and characterization alkaline soda-bleach stable protease from *Bacillus* sp. APP-07 isolated from Laundromat soil. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.07.003>
- Soeka, Y., Rahayu, S., Setianingrum, N., & Naiola, E. 2011. Kemampuan *Bacillus Licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 21(2), 89-95. <https://doi.org/10.22435/mpk.v21i2Jun.109>
- Sookkheo, B., Sinchaikul, S., Phutrakul, S., & Chen, S. T. 2000. Purification and characterization of the highly thermostable proteases from *Bacillus stearothermophilus* TLS33. *Protein Expression and Purification*, 20(2), 142-151. <https://doi.org/10.1006/prep.2000.1282>
- Towatana, N. H., Painupong, A., & Suntinanalert, P. 1999. Purification and Characterization of an Extracellular Protease From Alkaliphilic and Thermophilic *Bacillus* sp. PS719. *Journal of Biosciences and Bioengineering*, 12(2), 581-587.
- Thebti, W., Riahi, Y., & Belhadj, O. 2016. Purification and Characterization of a New Thermostable, Haloalkaline, Solvent Stable, and Detergent Compatible Serine Protease from *Geobacillus toebii* Strain LBT 77. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9178962>
- Wang, S., Lin, X., Huang, X., Zheng, L., & Zilda, D. S. 2012. Screening and characterization of the alkaline protease isolated from PLI-1, a strain of *Brevibacillus* sp. collected from Indonesia's hot springs. *Journal of Ocean University of China*, 11(2), 213-218. <https://doi.org/10.1007/s11802-012-1845-6>
- Xie, G., Shao, Z., Zong, L., Li, X., Cong, D., & Huo, R. 2019. Heterologous expression and characterization of a novel subtilisin-like protease from a thermophilic *Thermus thermophilus* HB8. *International Journal of Biological Macromolecules*, 138, 528-535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.101>
- Yilmaz, B., Baltaci, M.O., Sisecioglu, M & Adiguel, A. 2015. Thermotolerant alkaline protease enzyme from *Bacillus licheniformis* A10: Purification, Characterization, effect of surfactans and organic solvents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 4(12),1-7. <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2015.1118687>
- Zhu, W., Cha, D., Cheng, G., Peng, Q., & Shen, P. (2007). Purification and characterization of a thermostable protease from a newly isolated *Geobacillus* sp. YMTC 1049. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6), 1592-1597. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.11.007>