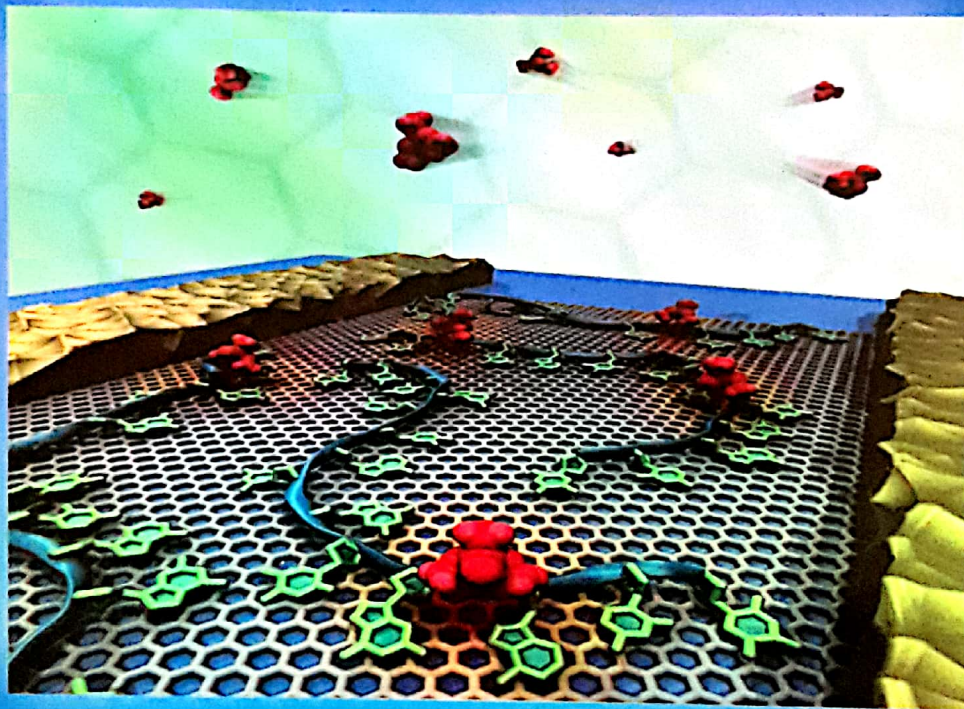


SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA

Padang, 7 Desember 2013



**Penelitian Sains Terapan dan
Pendidikan Dalam Mendukung
Kemandirian Bangsa dan Peningkatan
Mutu Pendidikan**

**HIMPUNAN KIMIA INDONESIA
(HKI) CABANG SUMBAR**

Tim Editorial

- Prof. Dr. Novesar Jamarun
- Prof. Dr. Syukri Arief
- Prof. Dr. Safni
- Prof. Dr. Saryono
- Prof. Dr. Jhon Hendri
- Dr. Djaswir Darwis
- Dr. Mawardi
- Dr. Zulhadjri
- Dr. Budhi Oktavia
- Dr. Ananda Putra
- Dr. Diana Vanda Wellia
- Imelda, MSi.

Panitia Seminar

- Pengarah : Prof. Dr. Novesar Jamarun
Prof. Dr. Ali Amran
Prof. Dr. Edison Munaf
Prof. Dr. Hazli Nurdin
Dr. Adlis Santoni
Andromeda, MSi
Dr. Hardeli
Prof. Dr. Syukri Arief
- Ketua : Dr. Syukri
- Wakil Ketua : Dr. Zulhadjri
Dr. M. Taufik Eka Prasada
- Sekretaris : Dr. Budhi Oktavia
- Wk.Sekretaris : M. Ikhlas Armin, MSc.
- Bendahara : Andromeda, MSi.

Seksi Ilmiah dan Prosiding :

Prof. Dr. Safni, Dr. Mai Efdi, Imelda, MSi., Dr. Ananda Putra, Dr. Diana Vanda Wellia, Dr. Mawardi, Dr. Jon Effendi

Seksi Sekretariat dan Acara:

Olly Norita Tetra, MSi, Sherly Kasuma W.N., MSi, Hary Sanjaya, MSi.

Seksi Humas dan Dokumentasi :

Edi Nasra, MSi, Dr. Indang Dewata, Dr. Upita Septiani, Dra.Asnailis, Fitri Amelia, MSi., Elda Pelita, MSi.

Seksi Dana :

Rahmayeni, MS, Dr. Djaswir Darwis, , Dr. Eti Yerizel, Dr.Zulkarnain Chaidir

Seksi Konsumsi :

Marniati Salim, MS, Iryani, MS, Dr. Refilda, Bayharti, MSc., Sri Benti Etika, MSi

Seksi Perlengkapan dan Tempat :

Hazil Anwar, MSi, Yerimadesi, Msi, Deski Beri, MSi, Yulizar Yusuf, MS, Zamzibar Zuki, MP., Refinel, MS.,, Dr. Zilfa, Eli Desni Rahman, M.Si

Seksi Transportasi :

Iswendi, MS, Dr. Afrizal, Bustanul Arifin, MS, Indrawati, MS, Ike Yolanda, MSi

Daftar Isi

Tim Editor dan Panitia Seminar	v
Kata Sambutan Ketua HKI Cabang Sumbar	vii
Kata Pengantar	ix
Daftar Isi	xi
Daftar Acara Seminar	xv
Dinamika Kelarutan <i>Methyl Tymol Blue</i> (MTB) dalam Mikroemulsi Sistem Air, Tween-20 dan Sikloheksana oleh Ali Amran dan Deski Beri	1-6
Studi Kontaminasi Cu dan Zn dalam Sawi dan Kol pada Beberapa Daerah di Sumatera Barat oleh Amrin dan Edi Nasra	7-10
Sintesis Dan Karakterisasi Selulosa Bakterial Berserat Terorientasi Dalam Tabung Silikon oleh Ananda Putra	11-14
Amobilisasi Lipase Hasil Isolasi <i>Darimucor Miehei</i> Dalam Matriks Opp untuk Esterifikasi Laktosa dan Asam Oleat oleh Anna Roosdiana, Rasjad Indra, Diah Mardiana, dan Hary Agustawan	15-19
Preparasi Apatit Lantanum Silikat dengan Metode Hidrotermal Sederhana oleh Atiek Rostika Noviyanti, Solihudin, dan Rukiah	20-24
Profil Hormon Estrogen dan Progesteron Terhadap Tikus (<i>Rattus Norvegicus</i>) Model Kanker Mammae Yang Diinduksi DMBA (7,12-Dimethylbenz(A)Anthracene) oleh Aulia Firmawati, Anna Roosdiana, Dyah Ayu Oktavianie, dan Herawati	25-29
Karakterisasi Zeolit Alam Sebagai Fasa Diam pada Kromatografi Cair oleh Budhi Oktavia, Desy Kurniawati, dan Dasnawati	30-35
Sintesis Secara Enzimatis Alkilamida dari Minyak Inti Buah Ketapang dengan Substrat Urea oleh Dedy Suhendra, Erin Ryantin Gunawan, dan Murniati	36-43
Optimasi Analisis Fe, Co dan Ni Secara Simultan dengan Voltametri Stripping Adsorptif (Adsv) Untuk Penentuan Logam Dalam Konsentrasi Runut oleh Deswati, Hamzar Suyani, Umiati Lockman, dan Hilfi Pardi	44-50
Pengaruh pH dan Variasi Fasa Gerak Terhadap Penentuan Kadar Asam Askorbat Dan Asam Benzoat Menggunakan HPLC oleh Desy Kurniawati, Budhi oktavia, Zul Afkar, dan Edi Nasra	51-57
Pemurnian Menggunakan Teknik Rekayasa Destilasi Penurunan Tekanan Terhadap Karakter Minyak Nilam oleh Diah Mardiana, Bambang Ismuyanto, dan A.S. Dwi Saptati	58-62
Penurunan Kadar Logam dalam Limbah Air Sungai dengan Menggunakan Mineral Alam Indonesia yang Teremban TiO ₂ oleh Diana Rakhmawaty Eddy, Iwan Hastiawan, dan Yusi Deawati	63-70
Synthesis and Application of Sn-Doped TiO ₂ Thin Films Prepared by Peroxo Sol-Gel Method oleh Diana V. Wellia, Tuti Mariana Lim, and Timothy Thatt Yang Tan	71-78
Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan dari Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amaranthus Tricolor L</i>) Sebagai Zat Warna Makanan oleh Djaswir Darwis, Yunazar Manjang, dan Fitri Yoni Yuliza	79-86
Efektivitas Surfaktan Terhadap Transportasi Fenol dalam Teknik Membran Cair Fasa Ruah oleh Djufri Mustafa, Zaharasma Kahar, dan Khairunnisa	87-91

Pretreatment Basa Terhadap Tongkol Jagung dan Aplikasinya dalam Produksi Bioetanol oleh Elida Mardiah, Mitra Oktavia, dan Zulkarnain Chaidir	92-97
Karakterisasi Resin Damar dan Zeolit dari Bottom Ash Sebagai Bahan Elektroda Superkapasitor oleh Emriadi, Admin Alif, Afdhal Muttaqin, dan Olly Norita Tetra	98-102
Silika Sekam Padi Sebagai Bahan Pengisi Membran Selulosa Asetat Untuk Pervaporasi Etanol-Air oleh Evy Ernawati, Solihudin, dan Iman Rahayu	103-106
Analisa Mineral Magnetik Dengan Metode Difraksi Sinar -X Pada Endapan Pasir Besi Di Kabupaten Padang Pariaman oleh Fadhilah	107-109
Fotodegradasi Senyawa <i>Methyl Violet</i> Menggunakan Sinar UV 254 nm Dengan Bantuan TiO ₂ /PEG Sebagai Fotokatalis oleh Hary Sanjaya dan Hardeli	110-115
Kajian Kelayakan Kimia Pasir Besi Daerah Padang Pariaman untuk Bahan Baku Semen pada PT. Semen Padang oleh Heri Prabowo, Fadhillah, dan Bambang Heriyadi	116-119
Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol <i>Curcuma Longa</i> L. Pada Tikus Model Diabetes Militus Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Viabilitas Spermatozoa oleh Herlina Pratiwi dan Djoko Winarso	120-124
Studi Spektroskopi <i>Blending</i> Garam Logam Transisi MCl ₂ (M = Mn, Fe, Co, Ni) dengan ZnO oleh Hidayaturrahmat, Eka Mai Sosila Detri, Prieta Rahmanda Putri, Rika Fitri Yeni, Admi, Emdeniz, Yetria Rilda, dan Syukri	125-128
Karakterisasi Berilium Porfirin Sebagai Bahan Dasar Fotodetektor oleh I Gusti Made Sanjaya, Gawang Pamungkas, dan Dian Novita	129-132
Studi Adsorpsi Atom Aluminium pada Permukaan Grafena dengan Metode Am1 dari Paket Hyperchem oleh Imelda, Emdeniz, dan Rikha Septiani Yuda	133-141
Pengaruh Suhu Sintering Terhadap Efektivitas Sintesis Biomaterial Kalsium Hidroksiapatit Dari Limbah Cangkang Kepiting oleh Indah Raya, Andi Ilham, dan M. Syahrul	142-148
Mempelajari Produksi Bioetanol dari Ampas Tebu dengan Pretreatment (NaOH-NH ₄ OH) Secara <i>Simultaneous Sacharification Fermentation Method</i> (SSF) oleh Marniati Salim, Elida Mardiah, dan Melysa Putri	149-152
Karakterisasi Material Alam Tanah Napa Sumatera Barat dengan X-Ray Fluorescence (XRF) oleh Mawardi, Hari Sanjaya, dan Desy Kurniawati	153-156
Aktivitas Antioksidan Kulit Biji Buah Pinang Yaki <i>Areca Vestiara</i> Giseke oleh Max R.J Runtuwene dan Paulina V.J. Yamlean	157-162
Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Termofilik Yang Memperlihatkan Aktivitas Enzim Penghidrolisis Inulin Tipe Exo- Dari Sumber Air Panas Rimbo Panti oleh Minda Azhar, Sumaryati Syukur, Dessy Natalia, Mardaleni Fitri, Vovien Vionica dan Jamsari	163-171
Fitoremediasi: Akumulasi Dan Distribusi Logam Berat Nikel, Cadmium Dan Chromium Dalam Tanaman <i>Ipomea reptana</i> oleh Muliadi, Deasy Liestianty, Yanny, dan Sabir Sumarna	172-176
Pektin Kulit Durian Sebagai Biosorben Logam Berat Pb oleh Nina Arlofa, Shohifah Annur, dan Retno Wulandari	177-180
Pengaruh Konsentrasi Ca(OH) ₂ Terhadap Pembentukan <i>Precipitated Calcium Carbonat</i> oleh Novesar Jamarun dan Ramadanis	181-184
Pembuatan Material Komposit Kitin-Kitosan dari Limbah Kulit Udang oleh Rahmayeni, Yeni Stiadi, dan Refrani Andyta	185-191
Penggunaan Asap Cair Tempurung Kelapa Untuk Mempertahankan Kualitas Daging Ayam Broiler oleh Refilda, Nesa Wani Harahap, dan Indrawati	192-196

Transpor Iodin Melalui Kloroform Dengan Vitamin C Sebagai Fasa Akseptor Dalam Teknik Membran Cair Fasa Ruah oleh Refinel, Imelda, dan Novas vania	197-202	
Isolasi Pektin Jeruk Citrus Sinensis (L.) Osbeck Tersaponifikasi NaOH oleh Retno Wulandari	203-206	
Parameter Sifat Fisika-Kimia Yang Berpengaruh dan Syarat Mutu Pada Minyak Nabati Teresterifikasi Parsial Untuk Motor Diesel Putaran Sedang oleh Roza Adriany	207-211	
Analisis Komponen Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.) Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Larva Udang Laut (<i>Artemia salina</i> L.) oleh Rurini Retnowati, M.Farid Rahman, dan Kristanti Adhitakarya Palupi	212-217	
Studi Komparasi Grafting Co(li)-Asetonitril pada Silika (Amorphous dan Semikristalin) oleh Rycce Sylviana Pratikha, Syukri, Novesar Jamarun, Benny Rio Fernandez, Syukri Arief, Emdeniz, Mai Efdi, dan Admi	218-221	
Degradasi Rhodamin-B Secara Fotolisis Menggunakan Katalis Tio ₂ /Karbon Aktif yang Disintesis dengan Metode <i>Solid State</i> oleh Safni, Upita Septiani, dan Mega Gustiana	222-225	
Preparasi Dan Karakterisasi Nanokomposit Polipropilena/Organobentonit Dengan Maleat Anhidrida Dan Divinyl Benzena Sebagai Kompatibilizer oleh Saharman Gea, Taufik Hidayat, Marpongahtun, dan Basuki Wirjosentono	226-231	
Penggunaan Dedak Padi Sebagai Adsorben Logam Berat (Pb) dengan Aktivator NaOH oleh Shohifah Annur, Retno Wulandari, dan Nina Arlofa	232-236	
Isolasi Flavonoid Dari Daun Tumbuhan Cincau Kepala (<i>Stephania capitata</i> (Blume.) Spreng.) oleh Sri Benti Etika, Yustini Maaruf, dan Zuri Fitria	237-240	
Protease Ekstraseluler dari <i>Pseudomonas Stutzeri</i> A1 oleh Suharti, Aninda, Puji Lestari, Surjani Wonorahardjo, dan Evi Susanti	241-245	✓
Kajian Sifat Fisikokimia Germanikol Sinamat Sebagai Preformulasi Sediaan Krim Tabir Surya oleh Suryati, Henny Lucida, dan Dachriyanus	246-251	
Produksi Xilanase dari <i>Trichoderma Viride</i> Menggunakan Metode Fermentasi Semi-Padat dan Karakterisasinya oleh Sutrisno, Danar Purwonugroho, dan Anna Roosdiana	252-256	✗
Ekstraksi Fraksi Non-Polar dari Biji Alpukat <i>Persea Americana</i> Mill dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri oleh Sutrisno, Siti Marfu'ah, dan Laurent Oktaviana	257-262	✓
Pengaruh Kondisi Reaksi pada Sintesis Zno Melalui Metoda Hidrotermal oleh Syukri Arief, Yosia Fanni, dan Zulhadjri	263-267	
Senyawa Toksik dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pisitan (<i>Lansium Domesticum</i> Corr. Cv <i>Piedjietan</i>) oleh Tri Mayanti, Cicia Firakania, Wawan Hermawan, Hikmat Kasmara, Dadan Sumiarsa, dan Euis Julaeha	268-271	
Uji Pengaruh Pengikat Silang Metilenbisakrilamida (MBA) Terhadap Karakteristik Polimer Superabsorben Kitosan Tercangkok Asam Akrilat (AA) oleh Umi Baroroh Lili Utami dan Azidi Irwan	272-277	
Sintesis Zeolit dari <i>Fly Ash</i> Batubara Pltu Ombilin pada Temperatur Rendah oleh Upita Septiani, Syukri Arief, dan Widya Yuliani Fatiha	278-283	
Karakterisasi Lignin dari Serbuk Gergaji Kayu dengan Metoda Spektrofotometri Uv-Vis dan FTIR oleh Yerimadesi, Emriadi, dan Sribenti Etika	284-289	
Sintesis dan Analisis Kemurnian dari Gypsum Sintetik oleh Yetria Rilda, Syukri Drajat, dan Kennedy	290-294	
Analisis Polimorfisme Pro12ala Gen Ppar- Γ 2 pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau oleh Yuni Ahda, Dewi Rahma Putri, dan Elsa Yuniarti	295-300	

PROTEASE EKTRASELULER DARI *PSEUDOMONAS STUTZERI A1*

Suharti^{**}, Aninda¹, Puji Lestari^{*}, Surjani Wonorahardjo^{*}, dan Evi Susanti^{*}

^{*}Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang
#email: suharti.fmipa@um.ac.id

Abstrak. Protease ekstraseluler mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena aplikasinya dalam berbagai sektor industri. Untuk mencari sumber alternatif penghasil enzim protease ekstraseluler, sebuah isolat indigen yang diidentifikasi secara fenotif sebagai *Pseudomonas fluorescens* telah diisolasi dari tanah kebun. Analisis genotif menggunakan fragmen gen yang mengkode 16S rRNA menunjukkan mikroba hasil isolasi tersebut mempunyai homologi sebesar 99 % dengan beberapa strain *Pseudomonas Stutzeri*, sehingga isolat tersebut untuk selanjutnya disebut *Pseudomonas Stutzeri A1*. Usaha pemurnian protease ekstraseluler telah dilakukan dengan metode salting out tetapi belum menunjukkan adanya pita protein yang jelas dan yield aktifitasnya terlalu rendah. Sampai saat ini belum ada publikasi tentang pemurnian struktur protease ekstraseluler sari spesies *Pseudomonas stutzeri*. Sebagai landasan pemurnian dan analisis selanjutnya, prediksi ukuran, struktur dan jenis protease dianalisis berdasarkan informasi genomik dari *Pseudomonas stutzeri A1501* yang ada di database yang memiliki kedekatan genotif tertinggi dengan *Ps. Stutzeri A1*. Hasil analisis genom total *Ps. stutzeri A1501* menunjukkan adanya dua gen yang mengkode protease ekstraseluler.

Kata kunci: protease ekstraseluler, stutzeri A1, genom

1. Pendahuluan

Protease adalah enzim yang dapat dijumpai di hampir semua organisme hidup. Dalam dunia industri protease mempunyai peran penting misalnya sebagai bioaktif detergen, penyamakan kulit, pengolahan limbah, pembersihan tangki pada industri pengolahan susu dan industri kesehatan untuk kepentingan diagnostik. *Freedomia Group*, sebuah perusahaan internasional yang menganalisa pasar berbagai komoditas dunia mempredisikan pasar enzim dunia akan mencapai US \$ 8 miliar pada tahun 2015 [1]. Analisis pasar pada tahun 2011 menunjukkan sekitar 60% dari total penjualan enzim secara global di dominasi oleh protease yaitu enzim yang mengkatalisis hidrolisis protease menjadi polipeptida. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa protease dihasilkan oleh mikroba yang hidup di lingkungan tanah, air, and berbagai limbah.

Mikroba indigen penghasil protease yang dikarakterisasi secara fenotif sebagai *Pseudomonas fluorescens* telah berhasil diisolasi dari tanah [unpublished data]. Analisis genotif dari *Pseudomonas fluorescens* indigen tersebut menunjukkan homologi sebesar 56 % dengan *Pseudomonas fluorescens* yang ada di bank data dan homologi sebesar 99% dengan *Pseudomonas stutzeri A1501*[2]. Selanjutnya *Pseudomonas fluorescens* indigen tersebut disebut dengan *Pseudomonas stutzeri A1*. Usaha pemurnian protease ekstraseluler dari *Ps. Stutzeri A1* telah dilakukan dengan metode pengendapan menggunakan garam amonium sulfat, akan tetapi hampir 80% aktifitasnya hilang selama proses pemurnian. Usaha untuk mempertahankan aktifitas protease tersebut perlu dilakukan untuk menghindari degradasi enzim antara lain dengan mempelajari jenis protease dari protease ekstra seluler dari *Pseudomonas stutzeri A1* yang bermanfaat untuk pemilihan inhibitory yang sesuai.

Genom *Pseudomonas stutzeri A1501* telah ditentukan urutan asam nukleatnya, dan anotasi dari protein yang dimiliki oleh *Pseudomonas stutzeri A1501* dapat diakses di bank data. Untuk memprediksikan jenis protease ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Pseudomonas stutzeri A1*, genome dari *Pseudomonas stutzeri A1501* telah dianalisis dan dijabarkan dalam makalah ini.

Campuran protease ini mempersulit proses pemurnian, sehingga perlu dipikirkan cara menghindari adanya substrat silang yang berakibat pada degradasi protease. Dengan demikian perlu dipilih salah satu protease yang akan dimurnikan yang berdampak penghilangan protease yang lain.

Analisis bioinformatika protease dari organisme model

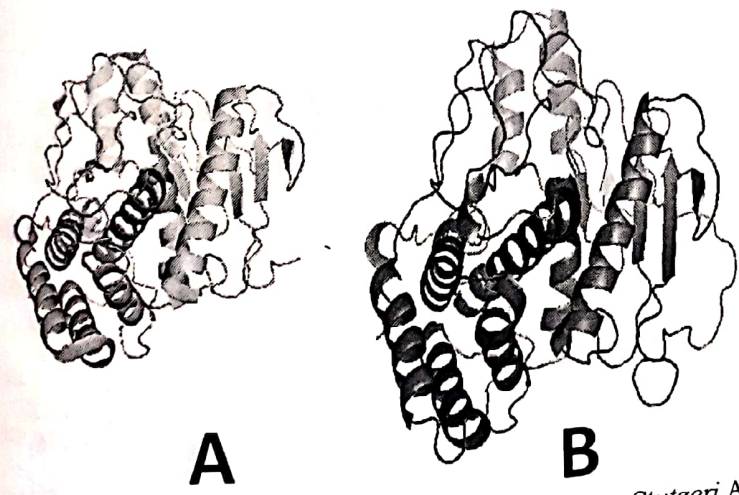
Analisis genom organisme model menunjukkan bahwa *Pseudomonas stutzeri* A1501 diantaranya memiliki dua gen yang mengkode protease ekstraseluler. Kedua gen tersebut terletak pada lokus PST_1806 (NT07PS1872) dengan nomor akses Uniprot A4VKH9 dan PST_4082 (NT07PS4183) dengan nomor akses Uniprot A4VRV4. Lokus PST_1806 dianotasikan sebagai termolisin metaloprotease dan PST_4082 dianotasikan sebagai karboksi-terminal protease. Beberapa protease yang lain selain kedua lokus tersebut diprediksikan sebagai protease intraseluler yang tidak signifikan dengan tujuan analisis genom pada makalah ini.

Produk gen dari lokus PST_1806 adalah protein dengan berat molekul sebesar 38,2 kDa dan pI pada 4,7. Analisis motif pengikatan gugus prostetik menunjukkan protein tersebut memiliki sisi pengikatan ion Zn^{2+} pada residu asam amino 161-170 (VVAHELHGL). Sisi pengikatan tersebut sama dengan sisi pengikatan dari metaloprotease netral dari superfamili protease *metzincins*.

Produk gen dari PST_4082 adalah protein dengan berat molekul sebesar 46,7 kDa dengan pI sebesar 5,9. Walaupun protein tersebut tidak dianotasikan sebagai protein ekstraseluler, analisis urutan asam amino menunjukkan bahwa protein tersebut yang domain transmembran pada ujung N yang bertindak sebagai sinyal peptida, yaitu sinyal yang memerintahkan untuk memindahkan protein keluar membran sel, sehingga dapat diperkirakan bahwa protein tersebut adalah protease ekstraseluler. Analisis motif pengikatan tidak menunjukkan pengikatan logam seperti produk gen PST_1806, tetapi memiliki domain yang dikenal sebagai PDZ domain pada residu asam amino 96-164 yang diperkirakan berfungsi dalam mengarahkan protein secara nonpolar pada sisi C-terminal untuk selanjutnya didegradasi seperti yang ditemukan pada prolil oligopeptidase [11].

Produk gen PST_4082 diidentifikasi memiliki kemiripan dengan termolisin yaitu proteinase netral yang bersifat termostabil yang dihasilkan oleh *Bacillus thermoproteolyticus*. Termolisin membutuhkan sebuah ion Zn^{2+} dan empat buah ion Ca^{2+} untuk stabilitas strukturnya. Termolisin menghidrolisis ikatan peptida yang mengandung asam amino yang bersifat hidrofobik. Termolisin banyak dijumpai secara luas pada banyak spesies *Bacillus*. Produk gen dari lokus PST_4082 memiliki homologi dengan karboksi-terminal protease dari spesies *pseudomonas* lain yang masih belum banyak dipejalari.

Model struktur 3 dimensi (Gambar 2A) dari produk gen lokus PST_1806 dapat diturunkan dengan parameter statistik yang signifikan dari struktur kristal struktur prekursor proteolisin dari *Serratia proteamaculans* yang diperoleh dari defraksi sinar X dengan resolusi 1,82 Å (nomor akses di Protein Data Base : 2VQX) (gambar 2B) [12]. Sedangkan produk gen dari PST_4082 tidak dapat dimodelkan karena keterbatasan *template* yang ada di bank data struktur 3D protein. Protease yang mengandung ion Zn telah dikristalkan dari *Pseudomonas aeruginosa* [13], tetapi struktur 3 dimensinya tidak homolog dengan organisme model *Pseudomonas stutzeri* A1501.



Gambar 2. Model struktur 3 D metaloprotease dari *Ps. Stutzeri* A501 (A) dan struktur 3D dari metaloprotease *template* yang digunakan untuk pemodelan (B).

Berdasarkan analisis tersebut dapat dijelaskan hilangnya aktifitas protease baik dengan penambahan PMSF maupun EDTA. Penambahan EDTA akan menghambat metaloprotease karena sifat kelat dari EDTA akan mengambil ion Zn^{2+} dari metaloprotease. Penambahan PMSF akan menghambat protease lainnya.

Hasil analisis struktur dari produk gen *Pseudomonas stutzeri* A1 tersebut dapat digunakan sebagai landasan pemikiran untuk proses pemurnian dan analisis. Informasi tersebut memberikan petunjuk jenis dan sifat protease ekstraseluler yang dihasilkan. Untuk selanjutnya perlu dipilih salah satu protease yang dimurnikan dengan mengorbankan protease yang lainnya. Dua pilihan dapat direncanakan untuk proses pemurnian. Pertama, Metaloprotease dipilih sebagai sasaran pemurnian. Untuk kepentingan ini maka metaloprotease tidak boleh terdegradasi selama pemurnian. Hal ini bisa dihindari dengan penambahan PMSF untuk menginhibisi aktifitas karboksi-terminal protease. Penambahan logam Zn^{2+} dalam sistem bufer yang digunakan untuk pemurnian kemungkinan dapat merekonstitusi kehilangan logam tersebut selama proses dan meningkatkan aktifitasnya. Kedua, apabila karboksi-terminal protease dipilih sebagai sasaran pemurnian maka EDTA perlu ditambahkan sebagai inhibitor metaloprotease sehingga aktifitasnya dapat dihambat untuk menyelamatkan karboksi-terminal protease dari aktifitas metaloprotease. Secara umum cara konvensional yang digunakan adalah metode coba-coba (*trial and error*). Analisis bioinformatika diharapkan dapat mempersingkat waktu penelitian dan menurunkan biaya. Dengan informasi ini pemilihan media dan suplemen logam dapat direncanakan. Penelitian sebelumnya menunjukkan penambahan logam $CaCl_2$ mampu menginduksi produksi protease beberapa strain *Pseudomonas*[14] tetapi tidak semua strain *Pseudomonas*, kemungkinan besar induksi hanya terjadi pada metaloprotein yang menggunakan Ca^{2+} sebagai kofaktor.

4. Kesimpulan

Berdasarkan data inhibisi terhadap protease, *Pseudomonas stutzeri* A1 paling sedikitnya mengandung dua jenis protease yaitu metaloprotease dan serin protease. Analisis bioinformatika berdasarkan genom *Pseudomonas stutzeri* A1501 diduga terdapat dua protease ekstraseluler yaitu metaloprotease dan karboksi-terminal protease. Model 3D dari metaloprotease tersebut memastikan bahwa anotasi metaloprotease kemungkinan besar benar. Homologi sebesar 99 % antara *Pseudomonas stutzeri* A1 dan *Pseudomonas stutzeri* A1501 memungkinkan kesamaan produksi protease ekstraseluler oleh kedua genus tersebut. Dengan demikian kemungkinan besar *Pseudomonas stutzeri* A1 memproduksi metaloprotease ekstraseluler dan karboksi-terminal protease ekstraseluler tipe serin protease. Penambahan EDTA mampu menekan hilangnya aktifitas total lebih baik dibandingkan dengan penambahan PMSF. Dengan demikian akan lebih bijaksanan untuk memurnikan serin protease dibandingngak metaloprotease dari *Pseudomonas stutzeri* A1. Dari faktor biaya EDTA lebih murah dibandingkan dengan PSMF. Pertimbangan untuk tidak memilih pemurnian metaloprotease juga lebih baik karena penambahan ion logam untuk rekonstitusi enzim apabila protease tersebut akan dimanfaatkan untuk industri kemungkinan akan mengganggu di dalam pemanfaatnya

Daftar Pustaka

1. I. The Freedomia Group, <http://www.freedomiagroup.com/World-Enzymes.html>, 2013.
2. A.R. Astrina, E.H. Sanjaya, S. (2013), Analisis urutan gen pengkode 16s rRNA (16s rdna) sebagai acuan identifikasi secara genetika molekuler untuk bakteri indigen *Pseudomonas* sp.
3. J.C.V. Institute (2013), The Comprehensive Microbial Resource.
4. Gomi M., Sonoyama M., M. S. (2004), High performance system for signal peptide prediction: SOSUisignal, *Chem-Bio Info. J.* 4, 142-147.
5. S.I.o. Bioinformatics, (2013), Prosite, Database of protein domains, families and functional sites.
6. S.I.o. Bioinformatics(2013), SWISS-MODEL, <http://swissmodel.expasy.org/>.
7. K. Arnold, L. Bordoli, J. Kopp, T. Schwede, (2006), The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling, *Bioinformatics*, 22, 195-201.
8. L. Bordoli, T. Schwede(2012), Automated protein structure modeling with SWISS-MODEL Workspace and the Protein Model Portal, *Methods Mol Biol.*, 857, 107-136.
9. L. Bordoli, F. Kiefer, K. Arnold, P. Benkert, J. Battey, T. Schwede(2009), Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace, *Nat Protoc.* 4, 1-13.

10. G. James(1978), Inactivation of the protease inhibitor phenylmethylsulfonyl fluoride in buffers, *Analytical Biochemistry*, 86, 574.
11. C.P. Ponting, M.J. Pallen(1999), beta-propeller repeats and a PDZ domain in the tricorn protease: predicted self-compartmentalisation and C-terminal polypeptide-binding strategies of substrate selection, *FEMS Microbiol Lett.*, 179, 447-451.
12. I.V. Demidyuk, T.Y. Gromova, K.M. Polyakov, W.R. Melik-Adamyanyan, I.P. Kuranova, S.V. Kostrov(2010), Crystal structure of the protealysin precursor: insights into propeptide function, *J Biol Chem.*, 285, 2003-2013.
13. H. Miyatake, Y. Hata, T. Fujii, K. Hamada, K. Morihara, Y. Katsube(1995), Crystal structure of the unliganded alkaline protease from *Pseudomonas aeruginosa* IFO3080 and its conformational changes on ligand binding, *J Biochem.*, 118, 474-479.
14. M. Nicodeme, J.P. Grill, G. Humbert, J.L. Gaillard(2005), Extracellular protease activity of different *Pseudomonas* strains: dependence of proteolytic activity on culture conditions, *J Appl Microbiol.*, 99, 641-648.