
Starter Concentration of SSA4 Thermophilic Bacteria in Producing Xylanase

I Irdawati¹, Jannah Khoftiah¹, Dwi Hilda Putri¹, Linda Advinda¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Univeritas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia

*Correspondence author : irdawati.amor40@gmail.com

ABSTRACT. Advances in the field of biotechnology have led to the use of enzymes in industry increasingly. The high public awareness of environmental pollution makes enzyme technology as an alternative to replace various chemical processes. Enzymes can be used in various industrial sectors such as textiles, food, detergents, paper and cosmetics, as well as biofuels. One of the enzymes that is often used is the enzyme xylanase. Thermophilic microorganisms that can produce thermostable enzymes are thermophilic bacteria. One of the important factors affecting the success of the manufacturing process of the production of the xylanase enzyme is the concentration of the starter. The production of the thermophilic bacterial xylanase enzyme SSA 4 produced the highest specific enzyme activity at a concentration of 4% which was 0.137 U/mg. This shows that low starter concentrations can overwhelm microbial growth well. The increase in the concentration of the starter causes the enzyme activity to decrease, this happens.

Keywords: Xylanase, Thermophilic Bacteria, Starter

ABSTRAK. Kemajuan dalam bidang bioteknologi menyebabkan penggunaan enzim dalam industri semakin meningkat. Tingginya kesadaran masyarakat terhadap pencemaran lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi. Enzim dapat digunakan diberbagai sektor industri seperti tekstil, makanan, detergen, kertas dan kosmetik, serta biofuel. Salah satu enzim yang sering digunakan adalah enzim xilanase. Mikroorganisme termofilik yang dapat menghasilkan enzim termostabil adalah bakteri termofilik. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan proses pembuatan produksi enzim xilanase adalah konsentrasi starter. Produksi enzim xilanase bakteri termofilik SSA 4 menghasilkan aktivitas enzim spesifik tertinggi pada konsentrasi 4% yaitu 0,137 U/mg. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang rendah dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba dengan baik. Peningkatan konsentrasi starter menyebabkan aktivitas enzim menjadi menurun, hal ini terjadi karena penipisan nutrisi oleh peningkatan biomassa yang menyebabkan berkurangnya aktivitas metabolisme. Konsentrasi starter yang rendah membutuhkan waktu yang lama bagi sel untuk berkembang biak hingga jumlah sel menjadi cukup untuk memanfaatkan substrat dan menghasilkan enzim.

Kata kunci: Xilanase, Bakteri Termofilik, Starter



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©20..... by author.

1. PENDAHULUAN

Kemajuan dalam bidang bioteknologi menyebabkan penggunaan enzim dalam industri semakin meningkat. Tingginya kesadaran masyarakat terhadap pencemaran lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi (Pandey, 2008). Enzim dapat digunakan diberbagai sektor industri seperti tekstil, makanan, detergen, kertas dan kosmetik, serta biofuel (Kosim, 2010). Salah satu enzim yang sering digunakan adalah enzim xilanase (Purwanti, 2015).

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mempunyai kemampuan menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilo-oligosakarida dan xilosa. Enzim ini terdiri dari endo- β -xyylanase (EC 3. 2. 1. 8) dan β -xylosidases (EC 3. 2. 1. 37). Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui proses fermentasi. Enzim xilanase diperlukan oleh beberapa industri antara lain industri pangan, pakan ternak, pemutih bubuk kertas/pulp, dan biokonversi lignoselulosa untuk bahan bakar (Kumar *et al.*, 2001; Rifaat *et al.*, 2005).

Xilanase mampu memotong ikatan antara xilan pada selulosa yang berikatan dengan lignin, sehingga akan memotong xilan menjadi monomernya dan dapat melepaskan lignin dari selulosa sehingga akan menghasilkan pulp yang berwarna putih dan lebih ramah lingkungan. Selain itu enzim xilanase juga dapat digunakan pada industri tekstil untuk memutihkan kain (Grag *et al.*, 2013).

Proses pemutihan (*bleaching*) merupakan proses penghilangan warna yang ada pada bahan yang disebabkan oleh adanya pigmen-pigmen atau zat lain sehingga menyebabkan warna bahan menjadi putih (Moertinah, 2008). Pigmen-pigmen pada serat kain merupakan senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap yang dapat dioksidasi atau direduksi menjadi senyawa-senyawa sederhana sehingga warna menjadi putih (Suess, 2010).

Mikroorganisme termofilik yang dapat menghasilkan enzim termostabil adalah bakteri termofilik. Bakteri termofilik yang diketahui mampu menghasilkan xilanase termostabil adalah *Bacillus subtilis* (Li, *et al.*, 2012), *Pseudomonas* (Susilowati *et al.*, 2012) dan *Clostridium*. sp. Jamur juga mampu menghasilkan enzim xilanase yaitu *Aspergillus*. sp dan *Trichoderma*. sp. Bakteri termofilik mampu bertahan hidup pada rentang suhu 50-80°C (Runtuboi *et al.*, 2018). Sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan memiliki suhu 75°C dan pH 8 atau bersifat basa). Dari beberapa jenis isolat yang didapatkan, isolat SSA4 dipilih karena mempunyai kemampuan yang cukup baik dalam menghasilkan enzim xilanase secara maksimum. terlihat dari indeks xilanolitik SSA4 yaitu 0,61 (Irdawati *et al.*, 2018).

Bakteri termofilik dapat memproduksi enzim xilanase dalam kondisi lingkungan yang optimum. Optimasi lingkungan dapat dilakukan dengan optimalisasi komposisi media, kandungan oksigen terlarut, aerasi, agitasi, konsentrasi starter, pH dan temperatur. Faktor penting yang

mempengaruhi keberhasilan proses pembuatan produksi enzim adalah konsentrasi starter dan agitasi (Bai *et al.*, 2011).

Starter merupakan bahan tambahan yang digunakan pada tahap awal proses fermentasi. Starter adalah biakan mikroba tertentu yang ditumbuhkan dalam medium (Kusumaningati *et al.*, 2013).

2. METODE

Penelitian yang dilakukan adalah deskriptif yang dilaksanakan dari bulan Desember 2021 – Januari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang

2.1 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate bakteri SSA4 Sapan Sungai Aro Solok Selatan (Irdawati *et al.*, 2018) dari laboratorium Mikrobiologi, kain kafan, kain kasa, kapas, aquades, tissue, alkohol 70%, Medium Nutrien Agar (NA), xilan, Dinitrosalicylic Acid (DNS), Medium Beechwood Xilan, ekstrak jerami 0,3%, Peptone Bacteriological, Yeast Extract, K₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O dan CaCl₂ 0,2 M.

2.2 Regenerasi Bakteri

Regenerasi bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni SSA4 ke dalam medium NA miring. Kultur bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 50°C selama 24 jam.

2.3 Persiapan Starter

Inokulum dipersiapkan dengan menginokulasi 3 ose bakteri SSA4 dalam medium agar miring, ke dalam medium Beechwood Xilan 25 ml pada erlenmeyer 100 ml. Setelah itu inokulum diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm. Sebanyak 10% (v/v) dari inokulum yang telah dipersiapkan tersebut, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium Beechwood Xilan, diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm. Inokulum siap dijadikan starter untuk perlakuan.

2.4 Pengaruh Konsentrasi Starter Bakteri Termofilik Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase

Konsentrasi starter 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% dibuat dengan cara menginokulasikan dari inokulum di atas dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang sudah berisi 20 ml medium produksi enzim (Beechwood Xilan yang ditambah Ekstrak Jerami 0,3%) dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya masing – masing perlakuan, difermentasi pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm menggunakan shaker incubator, selama masa panan yang telah ditentukan sebelumnya yaitu 6 jam. Setelah itu mengukur aktivitas enzim dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

2.5 Uji Aktivitas Enzim

Sebanyak 1 ml sample disentrifuge, lalu piashkan antara pelet dan supernatan. Setelah itu campurkan 0,25 ml sampel dan 0,5 ml xylan dalam buffer phosfat (pH 8,5) dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 0,5 ml Dinitrosalicylic Acid (DNS) dan diinkubasi pada suhu 90°C selama 15 menit. Mengukur absorbansi panjang gelombang 540 nm untuk menentukan aktivitas enzim.

2.6 Uji Aktivitas Enzim Spesifik

Aktivitas spesifik enzim xilanase (U/mg) merupakan rasio dari aktivitas enzim xilanase (U/ml) terhadap kadar protein (mg/ml) (Sugiyono *et al.*, 2003).

2.7 Analisis Data

Data hasil aktivitas spesifik enzim xilanase pada variasi konsentrasi starter ditampilkan dalam bentuk tabel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim adalah unit enzim per mg protein yang ada didalam sampel. Unit Satuan Internasional (SI) berupa 1 mol s⁻¹ untuk tiap unitnya. Aktivitas spesifik mengukur kemurnian produk per miligram enzim yang terbentuk. Aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu pada konsentrasi starter 4% (0,137 U/mg). Menurut (Sepahy *et al.*, 2011) produksi xilanase meningkat karena ada keseimbangan biomassa mikroba dan nutrisi yang tersedia untuk menghasilkan produksi enzim yang optimal. Konsentrasi starter yang rendah membutuhkan waktu yang lama bagi sel untuk berkembang biak hingga jumlah sel menjadi cukup untuk memanfaatkan substrat dan menghasilkan enzim.

Penelitian (Gozde *et al.*, 2018) mendapatkan hasil produksi enzim xilanase meningkat ketika menggunakan cangkang kemiri sebagai sumber karbon dengan agitasi 125 rpm pH 7 dengan konsentrasi starter 4% menghasilkan aktivitas xilanasen 1.793 U/mg menggunakan *Bacillus subtilis*.

Tabel 1. Aktivitas enzim Spesifik variasi konsentrasi starter

Aktivitas Enzim Spesifik U/mg	
Starter	Rata - rata
2%	0,100
4%	0,137
6%	0,084
8%	0,081
10%	0,071

Berdasarkan hasil penelitian (Wesje *et al.*, 2011) peningkatan jumlah sel dalam inokulum menyebabkan terjadinya profilerasi dan sintesis biomassa yang cepat. Penelitian (Nagar *et al.*, 2010) mengatakan mengatakan konsentrasi starter 5% menyebabkan penurunan hasil

enzim karena, tingginya jumlah mikroba yang membatasi aktivitas mikroba. Peningkatan konsentrasi starter menyebabkan aktivitas enzim menjadi menurun, hal ini terjadi karena penipisan nutrisi oleh peningkatan biomassa yang menyebabkan berkurangnya aktivitas metabolisme.

4. KESIMPULAN

Produksi enzim xylanase bakteri termofilik SSA 4 menghasilkan aktivitas enzim spesifik tertinggi pada konsentrasi 4% yaitu 0,137 U/mg. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang rendah dapat menyabakan pertumbuhan mikroba dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan artikel. Terimakasih kepada pembimbing yang telah membimbing dalam pelaksanaan penelitian serta memberikan ide dan saran dalam penulisan artikel ini. Terimakasih kepada semua pihak yang telah ikut serta berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril maupun materil demi lancarnya penelitian dan penulisan artikel.

REFERENSI

- Bai, H., M, Irfan., Yan, W., Hui, W., Xiaori, H. 2013. Immobilization of *Trichoderma viride* for endoglucanase and xylanase production and its application in enzymatic hydrolysis. *Bothalia Journal*. 43(11).
- Garg, G., Dhiman, S. S., Gautam, R., Mahajan, R., Patra, K. A., Sharma, J. 2013. Bioscouring of Jute Fabric by Cellulase-Free-Alkali-Thermostable Xylanase From *Bacillus pumilus* ASH. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.08.002>
- Gozde Oren Yardimci dan Deniz Cekmecelioglu.(2018). Assessment and optimization of xylanase production using cocultures of *Bacillus subtilis* and *Kluyveromyces marxianus*. *Journal Biotech*. Department of Food Engineering. Middle East Technical University, Ankara, Turkey.
- Irdawati, Syamsuardi, S., Agustien, A., & Rilda, Y. 2018. Screening of Thermophilic Bacteria Produce Xylanase from Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/335/1/012021>.
- Kumar, R. and R. Nusinov. 2001. *Review: How do Thermophilic Protein Deal with Heat*. *Cell Molecular LS*. Vol. 58 : 1216-1233.
- Kusumaningati A. Mutiara,S. Nurhatika dan A.Muhibidin. (2013). Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi Pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(2) :218-225.
- Kosim, M., & Putra, R. S. 2010. Pengaruh Suhu Pada Protease Dari *Bacillus subtilis*. *Prosiding Skripsi Semester Genap*.
- Li S., X. Yang, S. Yang, M. Zhu, and X. Wang. 2012. Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. Vol 1, No. 2.
- Moertinah, S., 2008. Peluang-Peluang Produksi Bersih Pada Industri Tekstil Finishing Bleaching (Studi Kasus Pabrik Tekstil Finishing Bleaching PT. DamaiteX). *Thesis*. Ilmu Lingkungan Hidup Universitas Diponegoro

- Pandey, & Singhanian, R. R., 2008. Production and Application of Industrial Enzymes. *Chem Digest*. 21: 82-91
- Purwanti, A. C. T. 2015. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase Dari *Trichoderma viride* yang Ditumbuhkan Pada Media Tongkol Jagung. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Rifaat, H.M., Z. A. Nagieb and Y.M, Ahmed. 2005. Production of Xylanase by *Streptomyces* Species And Their Bleaching Effect on Rice Straw Pulp. *Journal Applied Ecology And Environment Research*. 4(1): 151-160.
- Runtuboi, P.Y.D., Tri, G., Maria, S., and Nadyan.L.Pakpahan.2018.Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Provinsi Papua. *Jurnal Biologi Papua*. 10(2): 68-73. ISSN: 2086-3314.
- Sepahy, A, A., Ghazi, S..2011. Cost-Effective Production and Optimization of Alkaline Xylanase by Indigenous *Bacillus mojavensis* AG137 Fermented on Agricultural Waste. *Research Article*. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University. Volume 2011, Article ID 593624, 9 pages doi:10.4061/2011/593624.
- Suess, H. U.,. 2010. *Pulp Bleaching today*. De Gruyter: Berlin/New York
- Sugiyono, A. J., Lintang, R. A dan Sabe. (2003). Penapisan dan Karakterisasi Protease Bakteri Termofilik Asal Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah, Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado
- Susilowati, P. E., Spto, R. Desi, K. Rahmawati, R. Sumarlin dan Ardiansyah. 2012. Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai Sulawesi Tenggara Menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(3): 199-204. ISSN 1410-9379.
- Wejse PL, Ingvorsen K dan Mortensen KK.(2011).Xylanase production by a novel halophilic bacterium increased 20-fold by response surface methodology. *Enz Microb Technol* 32: 721–727.