

## PRODUCTION OF SPESIFIC XYLANASE ENZYME BY MUDIAK SAPAN HOT WATER THERMOPHILIC BACTERY

\*Irdawati<sup>1</sup>, Muhammad Deedat Ayasy<sup>1</sup>, Azwir Anhar<sup>1</sup>, Linda Advinda, Yusrizal Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia.

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

\*Correspondence author: [irdawati.amor40@gmail.com](mailto:irdawati.amor40@gmail.com)

**ABSTRACT.** Xylanase is an extracellular enzyme capable of hydrolyzing hemicellulose so that it can convert xylan into xylose. Thermostable xylanase enzymes can be produced by thermophilic bacteria. Thermophilic bacteria are used because they have advantages such as the ability to increase enzyme production in adjustable catalytic specifications. Bacteria are not only in a single form but also exist in a mixed form called a consortium. Compared with a single isolate, the performance of the consortium is better. Consortium is a mixture of microbial populations in the form of communities that have cooperative, commensal, and mutualistic relationships. This study aims to look at the cooperation between the consortium isolates and the consortium's ability to produce xylanase enzymes. This research is a descriptive study. The bacterial consortium is fermented in beechwood xylan medium. The results of this study were that MSS 11, MS 18, MS 16 consortium produced the highest xylanase enzyme activity, namely 12,887.

**Keywords:** Thermophilic Bacteria, Xylanase Enzyme, Consortium

**ABSTRAK.** Xilanase merupakan enzim ekstraseuler yang mampu menghidrolisis hemiselulosa sehingga dapat merubah xilan menjadi xilosa. Enzim xilanase termotabil dapat diproduksi oleh bakteri termofilik. Bakteri termofilik digunakan karena dapat memiliki keunggulan seperti aktivitas dan peningkatan spesifikasi katalisis yang dapat diatur. bakteri tidak hanya dalam bentuk tunggal namun juga ada dalam bentuk campuran yang disebut konsorsium. Dibandingkan dengan isolat tunggal, kinerja konsorsium lebih baik. Konsorsium merupakan campuran populasi mikroba dalambentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kerjasama antar isolat konsorsium dan kemampuan konsorsium dalam menghasilkan enzim xilanase. Penelitian ini bersifat deskriptif. Pada penelitian ini, konsorsium bakteri difermentasikan dalam medium beechwood xylan. Hasil penelitian ini adalah konsorsium MSS 11, MS 18, MS 16 menghasilkan aktivitas enzim xilanase spesifik tertinggi yaitu 12,887.

**Kata kunci:** Bakteri Termofilik, Enzim Xylanase, Konsorsium



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. ©2024 by author.

### 1. PENDAHULUAN

Enzim xilanase merupakan salah satu enzim yang saat ini banyak dimanfaatkan dalam dunia perndustrian (Irdawati, 2020). Enzim xilanase merupakan enzim ekstraseuler yang

mampu menghidrolisis hemiselulosa sehingga dapat merubah xilan menjadi xilosa (Sutrisno et al., 2017). Xilan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang jumlahnya sangat melimpah di alam (Irdawati, 2018). Enzim xilanase termostabil dapat diproduksi oleh bakteri termofilik (Irdawati et al., 2016).

Bakteri termofilik adalah bakteri yang mampu bertahan hidup pada suhu yang tinggi berkisar 50°C sampai 80°C (Runtuboi et al., 2018). Keuntungan dari menggunakan bakteri termofilik adalah bakteri termofilik hidup di lingkungan bersuhu tinggi dengan menghasilkan enzim yang termostabil (Asnawi, 2014). Enzim termostabil memiliki keunggulan, seperti aktivitas dan peningkatan spesifikasi katalisis yang dapat diatur, serta berada dalam bentuk yang relatif murni pada biakan cair (Asnawi et al., 2014). Selain itu, enzim termostabil terbukti efektif dan memberikan keuntungan seperti meningkatkan kecepatan reaksi sehingga dapat meminimalkan biaya produksi dan menghemat waktu pengerjaan (Irdawati et al., 2015).

Aktivitas spesifik enzim merupakan unit umum lainnya selain aktivitas enzim karena aktivitas spesifik lebih menunjukkan aktivitas enzim yang bekerja per milligram protein. Aktivitas spesifik mengukur kemurnian dari enzim yaitu jumlah dari produk yang dibentuk oleh enzim pada waktu tertentu dengan kondisi per miligram enzim. (Seftiono, 2017). Dalam menentukan kadar protein enzim xilanase, dapat digunakan metode Lowry (Ardiansyah dkk, 2014).

Di alam bakteri tidak hanya dalam bentuk tunggal namun juga ada dalam bentuk campuran yang disebut konsorsium. Dibandingkan dengan isolat tunggal, kinerja konsorsium lebih baik (Zhang, 2022). Konsorsium merupakan campuran populasi mikroba dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua bakteri atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya bakteri tersebut dapat bekerjasama dengan baik. Bakteri dengan genus atau spesies yang sama dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama, sehingga dapat saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya (Asri dan Zulaika, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk melihat kerjasama antar isolat konsorsium dan kemampuan konsorsium dalam menghasilkan enzim xylanase.

## **2. METODE**

Metode penelitian dapat berupa analisis suatu teori, metode percobaan atau metodologi pendekatan yang dilakukan dalam penelitian. Dalam beberapa cabang keilmuan, bagian Metode Penelitian ini dapat diganti dengan Pemodelan yang dilakukan dalam penelitian atau asumsi-asumsi yang dilakukan.

### **2.1 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan yaitu isolat bakteri Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolat konsorsium bakteri termofilik MS (Mudiak Sapan) yaitu isolat MS18, MSS11, MSS15, dan MS16 (koleksi Dr. Irdawati, M.Si, 2016) dari laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNP, kain kasa, kapas, aquades, tissue, alkohol 70%, Medium Nutrien Agar (NA), Xilan, Dinitrosalicylic Acid (DNS), Medium Beechwood ekstrak jerami 0,3%, Peptone Bacteriological, Yeast Extract, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O dan CaCl<sub>2</sub> 0,2 M, HCl, NaOCl, Etanol 95%.

### **2.2 Aktivasi Isolat Konsorsium Penghasil Enzim Xilanase**

Inokulum dipersiapkan dengan menginokulasi 5 ose dari masing-masing isolat tunggal bakteri MS18, MSS11, MSS15 dan MS16 dalam medium agar miring lalu dimasukkan ke dalam medium Beechwood ekstrak jerami 40 ml pada 4 buah erlenmeyer ukuran 100 ml yang telah diberi label. Setelah itu, inokulum diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, kerapatan optik atau Optical Density (OD) keempat isolat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 625 nm dengan absorbansi 0,08 - 0,1 (setara dengan Mc Farland 0,5) dan siap untuk diinokulasikan dalam produksi xylanase (Septiani, 2017).

### **2.3 Produksi Xylanase dari Konsorsium Bakteri Termofilik**

Konsorsium trikultur yang akan diteliti dilakukan dengan pengambilan starter isolat tunggal yang sudah diaktivasi (absorbansi 0,8 - 0,1) sebanyak 5 ml sebagai inokulum trikultur dengan rasio 1:1:1 dengan jumlah inokulum 10% yaitu MS 18, MSS 11, dan MS 16; MS 18, MSS 15, dan MS 16 dengan kontrol monokultur masing-masing isolat yang telah diaktivasi dan dilakukan secara triplo. Lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml yang berisi 45 ml medium beechwood ekstrak xilan kemudian diinkubasi dengan suhu 60 derajat celsius selama 55 jam menggunakan shaker inkubator dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, diukur aktivitas enzim xilanase menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm..

### **2.4 Pembuatan Kurva Standar Xilosa**

Jumlah gula pereduksi yang dibebaskan ditentukan menggunakan kurva standar xilosa. Satu unit aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk

membebasakan 1  $\mu\text{mol}$  xilosa per menit dibawah kondisi pengujian. Blanko yang digunakan pada saat pengujian adalah akuades. Substrat dinonaktifkan dengan pemanasan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Larutan standar xilosa dibuat pada kisaran 20, 40, 60, 80, dan 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . masing-masing larutan standar sebanyak 0,5 mL dicampur dengan 0,5 mL akuades, kemudian ditambah 1 mL pereaksi DNS. Tabung dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit, selanjutnya didinginkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

### **2.5 Pengukuran Aktivitas Enzim Xilanase**

Sebanyak 1 ml sampel di sentrifuge, lalu pelet dan supernatannya dipisahkan. Setelah itu 0,25 ml sampel dan 0,5 ml xylan dicampurkan ke dalam buffer fosfat (pH 8,5) dan diinkubasi pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Kemudian 0,5 ml Dinitrosalicylic Acid (DNS) ditambahkan dan diinkubasi pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Setelah itu, absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan aktivitas enzim.

### **2.6 Pengujian Kadar Protein**

Sebanyak 1 ml sampel disentrifugasi. Supernatan dan peletnya kemudian dipisahkan. Setelah itu, campuran 0,1 ml supernatan dan 0,5 ml reagen D divortex dan dimasukkan ke dalam penangas air dalam suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Lalu, ditambahkan 0,05 ml folin dan didiamkan selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 750 nm. Kemudian, hasil absorbansi dibandingkan dengan kurva standar bovine serum albumin (BSA).

### **2.7 Pengukuran Aktivitas Enzim Spesifik**

Dalam mengukur nilai aktivitas enzim spesifik, nilai aktivitas enzim xilanase dibagi dengan kadar protein yang telah ditentukan. Satuan dari aktivitas spesifik enzim adalah unit/mg.

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **3.1 Aktivasi dan Fermentasi Isolat Konsorsium Trikultur Bakteri Termofilik**

Aktivitas enzim spesifik setara dengan rata-rata dari reaksi dikali dengan volume reaksi dibagi dengan berat dari enzim. SI unit nya adalah katal  $\text{Kg}^{-1}$ , tapi unit yang lebih praktis adalah  $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ .

Aktivitas spesifik enzim = Total Aktivitas / Total Protein (U/mg)

Aktivitas Total (U) = volume enzim (ml) x aktivitas (U/ml)

Total protein (mg) = volume enzim (ml) x kadar protein (mg/ml) (Seftiono, 2017).

Tabel 2 Aktivitas Spesifik Enzim Xilanase pada Konsorsium dan Monokultur yang berbeda.

No	Perlakuan	Aktivitas Enzim Spesifik (unit/mg)
1	MS 18	1,698
2	MSS 15	2,664
3	MS 16	2,387
4	MSS 11	2,129
5	MS 18, MSS 15, MS 16	2,590
6	MSS 11, MS 18, MS 16	12, 887

Dari hasil penelitian pada tabel 2, diketahui bahwa MSS 15 menghasilkan aktivitas enzim paling tinggi yaitu sebesar 0,2664 diikuti oleh MS 16 dengan aktivitas enzim sebesar 2,387. Kemudian konsorsium MSS 11, MS 18 dan MS 16 menghasilkan kadar aktivitas enzim paling tinggi dibandingkan konsorsium lainnya dengan aktivitas enzim 12, 887. Dalam hal ini, masing-masing perlakuan yang ada di konsorsium meningkat 5 – 7x lipat dibandingkan ketika mereka masih dalam bentuk monokultur. MSS 15 yang memiliki hasil monokultur paling tinggi, yaitu 2,664 dikonsorsiumkan dengan MS 18 dan MS 16. Konsorsium MSS 15, MS 18 dan MS 16 menghasilkan aktivitas enzim spesifik yang rendah dibandingkan konsorsium lainnya, yaitu sebesar 2,590.

Konsorsium bakteri baik yang terbentuk secara alamiah maupun buatan memiliki kelebihan yaitu memiliki fungsi metabolisme yang saling melengkapi dalam suatu ekosistem (Asri dan Zulaika, 2016). Hal ini sejalan dengan pendapat Vu (2022) yang menyatakan bahwa konsorsium trikultur mampu memproduksi enzim xylanase yang lebih tinggi dibandingkan monokultur. Penelitian mengenai konsorsium sudah dilakukan oleh Murugan et al (2015), di mana 2 strain bakteri yaitu *A. xylinum* and *C. uda* yang diinokulasikan menghasilkan aktivitas enzim xilanase 6,9x lebih tinggi dibandingkan monokultur.

Berdasarkan penelitian Zhang (2016), konsorsium mikroba yang terdiri dari bakteri *Bacillus* dan *Clostridium* menunjukkan peningkatan aktivitas dan produksi xilanase ekstraseluler, dan kemampuan degradasi lignoselulosa yang lebih tinggi daripada masing-masing biakan dalam bentuk monokultur. Berdasarkan penelitian Mohapatra et al. (2020), aktivitas xilanase yang dihasilkan oleh *B. paranthracis* dan *B. nitratireducens* masing-masing adalah 5,2 U/ml dan 9,2 U/ml dengan aktivitas xilanase tertinggi dalam konsorsium sebesar 11,53 U/ml.

#### 4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa formulasi isolat konsorsium bikultur yang optimum dalam menghasilkan xylanase adalah MSS 11, MS 18, MS 16 dengan aktivitas enzim spesifik sebesar 12,887 unit/mg.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Ibu Dr. Irdawati, M. Si, selaku Kepala Laboratorium Mikrobiologi yang telah memberikan izin dan dukungan fasilitas untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi. Terimakasih juga kami ucapkan kepada Ibu Elva Rahmi, S. Pd. yang telah membantu secara teknis dalam pelaksanaan penelitian ini

#### REFERENSI

- Annamalai, N., Thavasi, R., Jayalakshmi, S., and Balasubramanian, T. 2009. Thermostable and alkaline tolerant xylanase production by *Bacillus subtilis* isolated from marine environment. *Indian Journal of Biotechnology*. 8: 291–297.
- Ardiansyah, Y. T., Mulyani, N. S., & Sarjono, P. R. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Xilanase dari *Bacillus Subtilis* pada Media Nutrient Broth dengan Penambahan Xilan Hasil Isolasi Jerami Padi. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(3), 95-99.
- Asri, Anindya Citra dan Enny Zulaika. 2016. Sinergisme Antar Isolat *Azotobacter* yang Di konsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol.5, No.2, (2016) 2337-3520.
- Asnawi, I., Natsir, H., & Hariani, N. 2014. Eksplorasi mikroba penghasil enzim lipolitik pada sumber air panas Lemo Susu, Pinrang. Sulawesi Selatan: *1st International Conference On Science*
- Asri, Anindya Citra dan Enny Zulaika. 2016. Sinergisme Antar Isolat *Azotobacter* yang Di konsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol.5, No.2, (2016) 2337-3520.
- Doern, C. D. (2014). When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *Journal of clinical microbiology*, 52(12), 4124-4128.
- Hapsah, W., Dini, I. R., & Siregar, J. A. (2017). Compatibility Tests of Potential Cellulolytic Bacteria and Growth Optimization in Several Organic Materials. *International Journal of Science and Applied Technology*, 2(2).
- Irdawati, I., Sofiyana, A., Advinda, L., Fiffendy, M., Salvia, S., Syamsuardi, S., ... & Yahya, Y. (2021). Optimization of Agricultural Waste Substrate as an Alternative Medium for Xylan in Producing Xylanase Enzymes by Thermophilic Bacteria. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1940, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.
- Irdawati., Mades, F., dan Nofri, Y. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta*. 1: 73-81.

- Irdawati, I., Putri, I. S., Syamsuardi, A. A., & Rilda, Y. (2018). The Thermophilic Bacterial Growth Curve. *Bioscience*, 2(2), 58-64.
- Irdawati, Syamsuardi, Agustien, A., & Rilda, Y. 2016. Xylanase enzyme stability and biochemical characteristics thermoxyylanolytic bacteria from mudiak sapan hot springs at Solok Selatan district. *Der Pharmacia Lettre*,(8). 254-261.
- Irdawati, I., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Alberida, H. (2016). Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xylanase Alkali dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi 2*, 19.
- Kumar, K. H., & Jagadeesh, K. S. (2016). Microbial consortia-mediated plant defense against phytopathogens and growth benefits. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2(4), 395-403.
- Runtuboi, P.Y.D, Tri Gunaedi, Maria Simonapendi, 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.
- Mohapatra, S., Jena, S., Jena, P. K., Badhai, J., Acharya, A. N., & Thatoi, H. 2020. Partial Consolidated Bioprocessing of Pretreated Pennisetum sp by Anaerobic Thermophiles for Enhanced Bioethanol Production. *Chemosphere*, 256, 127126.
- Murugan, P., Jampala, P., Ramanujam, S., Uppuluri, K.B., 2015. Production of xylanase from a mixed culture system of *Acetobacter xylinum* and *Cellulomonas uda* in submerged fermentation. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia* 12, 1615–1622.
- Seftiono, H. (2017). Penentuan aktivitas enzim mananase dari berbagai mikroorganisme di Indonesia dan peranannya dalam bidang pangan: Kajian Pustaka. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 11(1), 14-20.
- Tabacchioni, S., Passato, S., Ambrosino, P., Huang, L., Caldara, M., Cantale, C., ... & Bevivino, A. (2021). Identification of beneficial microbial consortia and bioactive compounds with potential as plant biostimulants for a sustainable agriculture. *Microorganisms*, 9(2), 426.
- Tuntun, Maria dan Misbahul Huda. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analis Kesehatan: Volume 3, No. 1, Maret 2014*
- Vu, V., Farkas, C., Riyad, O., Bujna, E., Kilin, A., Sipiczki, G., & Nguyen, Q. D. (2022). Enhancement of the enzymatic hydrolysis efficiency of wheat bran using the *Bacillus* strains and their consortium. *Bioresource Technology*, 343, 126092.
- Zhang, D., Wang, Y., Zheng, D., Guo, P., Cheng, W., & Cui, Z. 2016. New Combination Of Xylanolytic Bacteria Isolated From The Lignocellulose Degradation Microbial Consortium XDC-2 With Enhanced Xylanase Activity. *Bioresource Technology*, 221, 686-690.
- Zhang, T., & Zhang, H. 2022. Microbial Consortia Are Needed to Degrade Soil Pollutants. *Microorganisms*, 10(2), 261.