

The Activity Xylanase Enzyme Thermophilic Bacteria SSA 2 in Starter Variation

Aktivitas Enzim Xilanase Bakteri Termofilik SSA 2 pada Variasi Starter

Rahma Elfah¹, Irdawati^{1*}, L Advinda¹, S Alicia Farma¹, S Salvia², S Syamsuardi², A Agustien², Y Rilda² dan Y Yahya³

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

²Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, West Sumatera, Indonesia

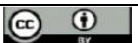
*Corresponding author: Irdawati.amor40@gmail.com

Abstract. Xylanase is extracellular enzyme that hydrolyzes xylan into xylose and xylooligosaccharides. The bacteria that produce the xylanase enzyme, namely SSA 2 isolate from the Sapan River Aro Solok Selatan hot spring, has a temperature of 75°C and a pH of 8 or alkaline. Thermophilic bacteria can produce xylanase enzymes under optimum environmental conditions. Environmental optimization can be done by optimizing media composition, dissolved oxygen content, aeration, agitation, starter concentration, pH and temperature. This study aims to determine the specific activity of the xylanase enzyme at the starter concentration. The starter concentrations used were 2%, 4%, 6%, 8% and 10%. The highest specific activity of the xylanase enzyme was at a starter concentration of 4% (0.916 U/mL) this indicates that a low starter concentration can lead to good microbial growth.

Key words: *Thermophilic Bacteria, Xylanase Enzyme, Starter*

Abstrak. Xilanase adalah enzim ekstraseluler yang menghidrolisis xilan menjadi xilosa dan xilooligosakarida. Bakteri yang menghasilkan enzim xilanase yaitu isolate SSA 2 yang berasal dari Sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan memiliki suhu 75°C dan pH 8 atau bersifat basa. 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. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas spesifik enzim xilanase pada konsentrasi starter. Konsentrasi starter yang digunakan adalah 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Aktivitas spesifik enzim xilanase tertinggi yaitu pada konsentrasi starter 4% (0,916 U/mL) hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang rendah dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba dengan baik.

Kata kunci : *Bakteri Termofilik, Enzim Xilanase, 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. ©2020 by author.

Pendahuluan

Mikroorganisme termofilik yang dapat menghasilkan enzim termostabil adalah bakteri termofilik, bakteri termofilik mampu bertahan hidup pada rentang suhu 50-80°C (Runtuboi *et al.*, 2018). Habitat alami bakteri termofilik tersebar luas diseluruh permukaan bumi, diantaranya pada sumber-sumber air panas, kawah gunung berapi atau daerah vulkanik (Tuntun 2014). 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 SSA2 dipilih karena mempunyai kemampuan yang baik dalam menghasilkan enzim xilanase secara maksimum. terlihat dari tingginya indeks xilanolitik SSA2 yaitu 0,74 dibandingkan dengan isolat lainnya (Irdawati *et al.*, 2018).

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis xilan (hemiselulosa menjadi xilosa dan xilooligosakarida (Susilowati *et al.*, 2012). Xilan adalah rantai panjang monosakarida yang saling berikatan dengan suatu ikatan kimia, apabila dihidrolisis oleh enzim xilanase menghasilkan gula sederhana yaitu xilooligosakarida, xlobiosa dan xilosa. Xilan terikat pada selulosa, pektin, lignin dan polisakarida lainnya dalam angiosperma untuk membentuk dinding sel tanaman. Xilan dengan rantai utama homopolimer unit β -D-xilopiranosil yang terikat melalui ikatan (1-4)- β -glikosidik merupakan heteropolimer yang dihubungkan dengan rantai samping dari gula yang lain, umumnya rantai tunggal dari (4-O-metil)- α -D-asam glukuronat (pada dikotil dan gimnosperma) pada 1 atau lebih α -L-arabinofuranosil pada rumput (Collins *et al.*, 2005).

Aktivitas enzim mencapai nilai maksimal ketika berada disuhu optimum, pada suhu tersebut enzim mampu bekerja secara maksimal dan memiliki konformasi sisi aktif yang lebih stabil (Habibie *et al.*, 2014). Aktivitas enzim semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Kenaikan suhu diatas suhu optimum menyebabkan aktivitas enzim menurun akibat denaturasi, karena sisi aktif enzim terganggu. Penggunaan mikroba sebagai agen penghasil enzim memiliki keuntungan seperti, kecepatan tumbuh mikroba tinggi sehingga memproduksi enzim dalam waktu singkat, mudah dikontrol, dan biaya produksi relatif murah (Pangesti *et al.*, 2012).

Penentuan waktu produksi enzim tertinggi dapat dilihat dari aktivitas xilanase tertinggi. Xilanase tergolong metabolit primer karena dibutuhkan dalam pemecahan sumber karbon xilan yang terdapat pada substrat, sumber karbon sangat penting dalam pertumbuhan bakteri. Hal tersebut menyebabkan bakteri memproduksi xilanase lebih banyak pada saat fase eksponensial karena pada fase tersebut pertumbuhan bakteri sangat cepat. Kondisi pertumbuhan mikroorganisme berhubungan erat dengan aktivitas enzim, aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, konsentrasi sumber karbon, dan konsentrasi enzim (Li *et al.*, 2011).

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. Starter merupakan bahan tambahan yang digunakan pada tahapan awal proses. Konsentrasi Starter adalah perbedaan jumlah biakan mikroba tertentu yang ditumbuhkan didalam medium dan digunakan pada tahapan awal proses fermentasi. Konsentrasi starter menentukan aktivitas enzim yang optimal karena adanya keseimbangan antara inokulum dan ketersediaan nutrisi didalam substrat (Kusumaningati *et al.*, 2013).

Peningkatan konsentrasi starter dapat mengurangi produksi enzim xilanase dalam proses fermentasi. Pada saat fermentasi antara biomassa bakteri yang berproliferasi dan nutrisi yang tersedia harus seimbang, sehingga akan menghasilkan produksi enzim xilanase yang optimum. Konsentrasi starter yang rendah dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba dengan baik, sementara peningkatan konsentrasi starter dapat menyebabkan poliferasi yang cepat pada biomassa mikroba (Irfan *et al.*, 2016).

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate bakteri SSA2 Sapan Sungai Aro Solok Selatan (Irdawati *et al.*, 2018) dari Laboratorium Mikrobiologi, limbah kertas bertinta, Medium Nutrien Agar (NA), *Gellum gum*, xylan, *Dinitrosalicylic Acid* (DNS), Medium *Beechwood Xilan*, ekstrak jerami 0,3%, *Peptone Bacteriological*, *Yeast Extract*, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, H_2SO_4 , $Na_2S_2O_3$, $KMNO_4$, Amilum 1%, Alkohol 70% KI 10%, aquades, tissue, kain kassa dan kapas.

Regenerasi Bakteri

Regenerasi bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni SSA2 ke dalam medium NA miring. Kultur bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 50°C selama 24 jam.

Persiapan Starter

Inokulum dipersiapkan dengan menginokulasi 3 ose bakteri SSA2 dalam medium agar miring, ke dalam medium *BeechwoodXilan* 25 ml pada *erlenmeyer* 100 ml. Setelah itu inokulum diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan *shaker* 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 *BeechwoodXilan*, diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan *shakerincubator* dengan kecepatan 150 rpm. Inokulum siap dijadikan starter untuk perlakuan.

Pengaruh Konsentrasi Starter Bakteri Termofilik Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase

Konsentrasi starter 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% dibuat dengan cara menginokulasikan dari inokulum diatas dan dimasukkan kedalam *Erlenmeyer* yang sudah berisi 20 ml medium produksi enzim (*BeechwoodXilan* yang ditambah Ekstrak Jerami 0.3%). dan melakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya masing - masing perlakuan, difermentasi pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm menggunakan *shaker*, selama masa panen yang telah ditentukan sebelumnya yaitu selama 6 jam. Setelah itu mengukur aktivitas enzim dengan menggunakan spektrofometer dengan panjang gelombang 540 nm.

Uji Aktivitas Enzim

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

Uji Kadar Protein

Sebanyak 1 ml sampel disentrifuge, lalu pisahkan antara pelet dan supernatant. Setelah itu campurkan 0,1 ml sampel dan 0,5 reagen D , lalu divortex pada suhu 50°C selama 10 menit. Kemudian menambahkan 0,05 ml Folin ciocalteau sebanyak 1N dan diamkan selama 30 menit. Mengukuran absorbansi pada panjang gelombang 750 nm untuk menentukan aktivitas protein .Kadar protein enzim ditentukan dengan membandingkan hasil absorbansi dengan kurva standar bovine serum albumin (BSA) (Sugiyono.,*et al*, 2003).

Pengukuran aktivitas spesifik enzim

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

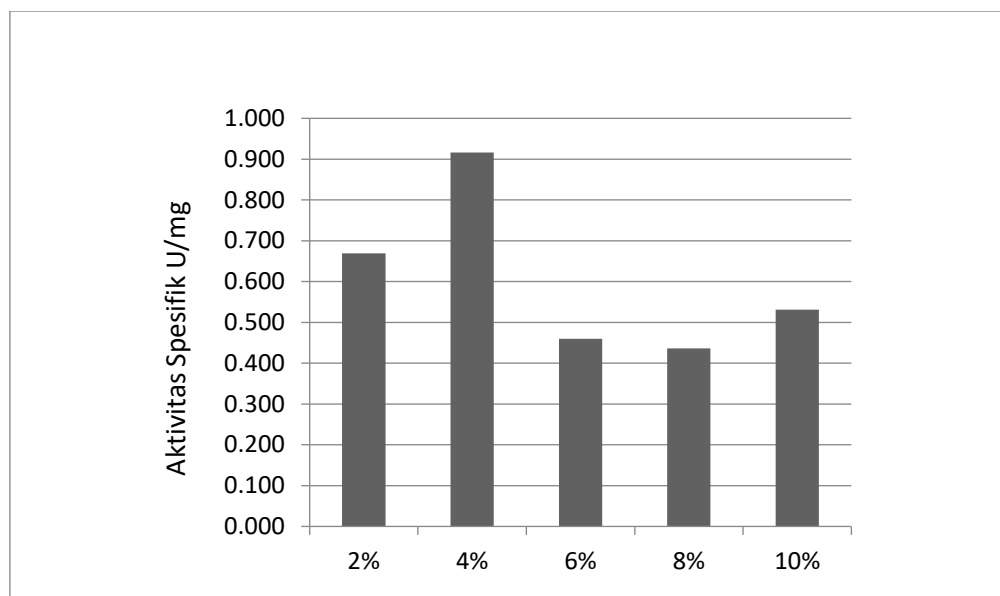
Analisis Data

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

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim adalah unit enzim per mg protein yang ada didalam sampel. Satuan internasional (SI) unitnya adalah katal dengansatuan 1 mol s⁻¹ untuk tiap unitnya. Aktivitas spesifik mengukur kemurnian produk per milligram enzim yang dibentuk oleh enzim pada waktu tertentu .Aktivitas enzim paling tinggi yaitu pada konsentrasi starter 4%(0,916 U/mL) hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang rendah dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba dengan baik.(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.

Berdasarkan penelitian (Gozdeet *al*,2018) produksi enzim xilanase meningkat ketika menggunakan cangkang kemiri sebagai sumber karbon dengan agitasi 125 rpm pH 7 dengan konsentrasi starter 4% menghasilkan aktivitas xilanase 1.793 U/mg menggunakan *Bacillus subtilis*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hoi (2016) dengan menggunakan *Bacillus subtilis*aktivitas enzim spesifik untuk xilanase yang diinkubasi selama 48 jam adalah Konsentrasi 4% yaitu 1.486 U/mg .Penentuan konsentrasi starter optimum aktivitas enzim sangat diperlukan dalam penerapan enzim karena konsetarasi starter yang tinggi menyebabkan menipisnya ketersediaan nutrisi didalam medium untuk mikroorganisme, sehingga adanya penurunan hasil xilanase.



Gambar.1 Aktivitas enzim variasi konsentrasi starter

Berdasarkan hasil penelitian (Wesje *et al.*,2011) Peningkatan jumlah sel dalam inokulum menyebabkan terjadinya proliferasi dan sintesis biomassa yang cepat. Ketika konsentrasi starter ditingkatkan dari 5 menjadi 10% terjadi penurunan aktivitas enzim. Penelitian (Nagar *et al.*, 2010) 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.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan aktivitas spesifik enzim xylanase yang berasal dari isolat SSA 2 bakteri termofilik pada konsentrasi starter 4% sebesar (0,916 U/mL) hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi starter yang rendah dapat menyebabkan 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 ini. Terimakasih kepada pembimbing yang telah membimbing dalam pelaksanaan penelitian serta memberikan ide dan saran dalam penulisan artikel. Terimakasih kepada semua pihak yang telah ikut serta berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril maupun materil demi lancarnya penelitian dan penulisan artikel.

Daftar Pustaka

- Collins, T., Charles, G dan Georges, F. (2005). Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*. 29:3-23.
- Gozde Oren Yardimci dan Deniz Cekmecioglu.(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.
- Habibie, F.M., A. K. Wardani dan M. Nurcholis. (2014). Isolasi dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Lapindo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 8(1) Hal: 231-238.
- Hoi ing Ho. (2016). Batch submerged fermentation in shake culture and bioreactor: influence of different agricultural residuals as the substrate on the optimization of xylanase production by *Bacillus subtilis* and *Aspergillus brasiliensis*. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*. Department of Applied Sciences, UCSI University, Malaysia.

- Irdawati, Syamsuardi, S., Agustien, A dan Rilda, Y. (2018). Screening of Thermophilic Bacteria Produce Xylanase from Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. IOP Conference Series: *Materials Science and Engineering*.
- Irfan, M., Asghar, U., Nadeem, M., Nelofer, R dan Syed, Q. (2016). Optimization of process parameters for xylanase production by *Bacillus* sp. in submerged fermentation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(2), pp.139-147.
- 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.
- Li M, Liao X, Zhang D, Du G dan Chen J. (2011). Yeast extract promotes cell growth and induces production of polyvinyl; alcohol-degrading enzymes. *Enz Research*. 2011(1):1-8.
- Nagar S, Gupta V. KKumar, D, L dan Kuhad, R. C. (2010). Production and optimization of cellulase-free, alkali-stable xylanase by *Bacillus pumilus* SV85S in submerged fermentation. In *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 37, 2010, p. 71-83.
- Pangesti, N. W. I., Artini P dan Estu R. N. (2012). Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Jurnal Bioteknologi*. Vol. 9, No. 2, 41-48. Hal : 9-19.
- Runtuboi, P.Y.D, Tri Gunaedi, Maria Simonapendi dan 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 Abbas Akhavan, Ghazi Shokoofeh dan Sepahy Maryam Akhavan. (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.
- 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.
- Tuntun, Maria dan Misbahul Huda. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*. Volume 3, No. 1, Maret 2014.
- 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.