

## PENGARUH SUMBER KARBON DAN WAKTU INKUBASI PRODUKSI AGEN BIOBLEACHING OLEH *Bacillus subtilis*

Dwi Kameluh Agustina, Devita Sulistiana, Dian Puspita Anggraini

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Islam Balitar

Email: [dkameluhagustina@gmail.com](mailto:dkameluhagustina@gmail.com)

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk produksi agen *biobleaching* berupa enzim hasil produksi *Bacillus subtilis* dengan memberi perlakuan variasi penambahan sumber karbon dan lama waktu inkubasi. Sumber karbon yang digunakan sukrosa, dengan variasi perlakuan (5; 10; 15; 20; dan 25 % (b/v)). Pengamatan waktu inkubasi pada 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 dan 28 dalam satuan jam. Aktivitas enzim tertinggi 7,517 (U/mL), pada perlakuan variasi sukrosa 15% (b/v), sedangkan pada waktu inkubasi 24 jam didapatkan densitas optik optimum pertumbuhan *Bacillus subtilis* yaitu 0,069 (nm).

### Kata Kunci:

karbon  
inkubasi  
biobleaching  
*Bacillus subtilis*

### PENDAHULUAN

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif yang dapat ditemukan di tanah maupun di saluran pencernaan ruminansia dan manusia. Jenis bakteri gram positif seperti *Bacillus subtilis* mempunyai enzim yang berkualitas (Earl *et al*, 2008). Salah satu enzim yang disekresikan oleh *Bacillus subtilis* adalah enzim xilanase. Potensi xilanase dapat dimanfaatkan untuk *bleaching* kertas dan mempunyai dampak positif terhadap lingkungan. Menurut Richana (2002) xilanase adalah kelompok enzim dengan kemampuan untuk memecah xilan menjadi senyawa lebih sederhana baik berupa xilo-oligosakarida maupun xilosa. Xilanase berbentuk protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 dalton. Xilanase aktif pada suhu 55°C dengan pH 9 dengan kestabilan pada suhu 60°C dan pH netral (Richana, 2002). Pada kondisi pH yang tinggi xilanase menjadi pilihan untuk digunakan dalam bidang industri karena dapat larut dengan mudah pada kondisi alkali (Gupta, 2000). Enzim xilanase yang dihasilkan *Bacillus subtilis* mempunyai nilai tambah yaitu beberapa keuntungan secara umum diantaranya menurut Pangesti dkk. (2012) adalah kecepatan tumbuh mikroba tinggi sehingga dapat diproduksi dalam waktu singkat, mudah dikontrol, dan biaya produksi relatif murah. Uji pendahuluan pada isolat *Bacillus* sp. dalam media dengan penambahan xilan menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. memiliki daya xilanolitik yang terlihat dari adanya pembentukan zona jernih pada media kultur (Erika *et al*, 2016).

Produksi xilanase masih belum banyak dikembangkan terutama yang dihasilkan dari *Bacillus subtilis*. Menurut Goswani dan Pathak (2013) faktor utama untuk efisiensi produksi enzim adalah komposisi media dan pemilihan substrat yang mampu menginduksi mikroba untuk menginduksi dan mensekresikan enzim. Sutarma (2000) menambahkan bahwa pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh adanya nutrisi seperti sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral terutama fosfat, selain itu pengaruh terpenting dalam pertumbuhan bakteri adalah sumber karbon (Adnyana *et al*, 2004). Pengaturan kondisi pertumbuhan bakteri melalui waktu inkubasi dapat memaksimalkan produksi enzim *Bacillus subtilis* lebih optimal untuk itu tujuan dari penelitian ini adalah produksi agen *biobleaching*

Diterima:

XX Agustus 2019

Dipresentasikan:

21 September 2019

Disetujui Terbit:

5 Oktober 2019

berupa enzim dari *Bacillus subtilis* dengan memberi perlakuan variasi penambahan sumber karbon dan lama waktu inkubasi.

## METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, neraca analitik, inkubator, shaker inkubator, tabung reaksi, cawan petri, labu erlenmeyer, beaker glass, magnetic stirrer, jarum ose, sentrifuge, mikrotube, tabung reaksi, laminar air flow, autoklaf, bunsen burner, batang pengaduk, kuvet, spektrofotometer, kertas saring, waterbath, kertas pH, pH meter, corong gelas, lemari pendingin, sensi glove, masker dan korek api.

Bahan-bahan yang digunakan adalah mikroba *Bacillus subtilis* yang digunakan adalah kultur murni dengan konsentrasi 10% (v/v) dari Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Pepton, Ekstrak Yeast, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, sukrosa, aquadest dan xilan

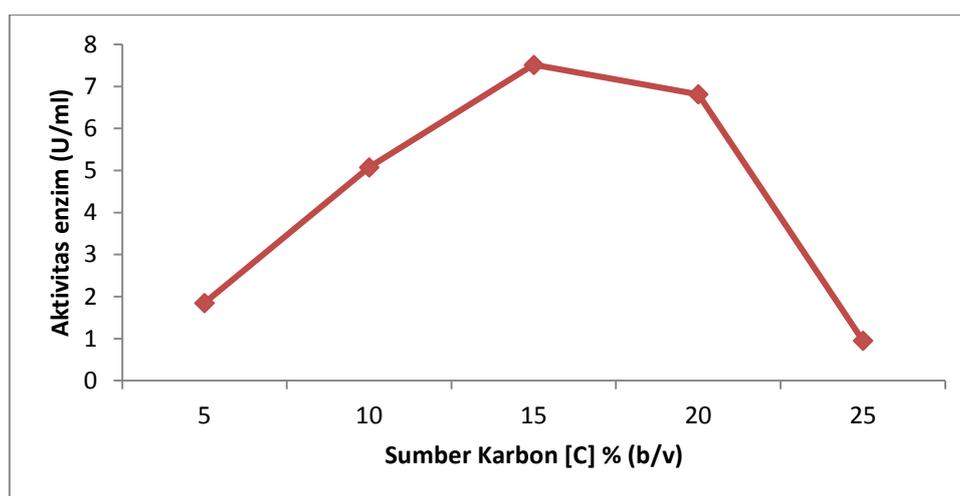
### Pengamatan Pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan Penambahan Sumber Karbon

Media diatur pada pH 7 dengan inkubasi pada kecepatan 250 rpm, suhu 40°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati setiap 2 jam dengan mengukur nilai *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Perlakuan sumber karbon yang diambil dari Sukrosa mulai dari 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v), 20% (b/v) dan 25% (b/v).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penambahan Sumber Karbon Pada Aktivitas Enzim Xilanase

Berdasarkan hasil yang diperoleh aktivitas enzim xilanase dalam penambahan karbon ditunjukkan pada gambar 2 berikut ini:



Gambar 2 : Aktivitas enzim xilanase isolat bakteri *Bacillus subtilis* pada T 40°C berbagai [C].

Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas enzim xilanase pada isolat bakteri *Bacillus subtilis* optimum pada konsentrasi sumber karbon 5% sebesar 1,851 U/ml, sumber karbon 10% sebesar 5,076%, sumber karbon 15% sebesar 7,517 U/ml, sumber karbon 20%

sebesar 6,813 U/ml dan 25% sebesar 0,951 U/ml. Data aktivitas enzim xilanase isolat bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan pada konsentrasi sumber karbon 15% merupakan aktivitas enzim xilanase yang optimal. Hal tersebut disebabkan oleh kebutuhan sumber karbon dari isolat bakteri *Bacillus subtilis* untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* sangatlah cukup. Bertolin *et al.* (2003) menambahkan bahwa sintesis enzim oleh suatu mikroorganisme tergantung dari nutrisi karbon tersedia dan cukup. Konsentrasi pada sukrosa 10% masih belum mencukupi kebutuhan sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* sehingga berdampak pada aktivitas enzim yang belum optimal.

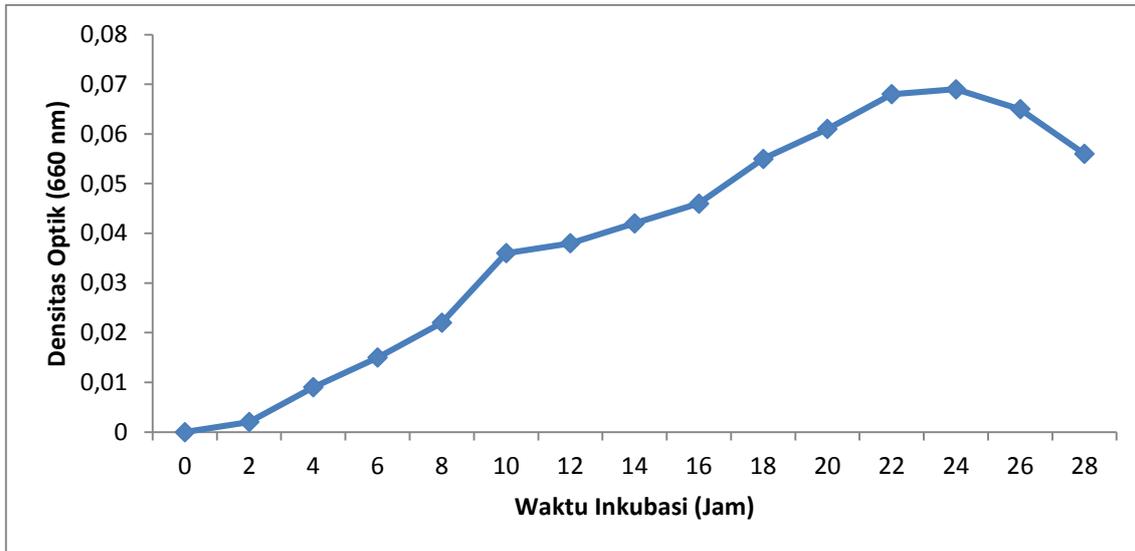
Konsentrasi sukrosa 20% mengalami penurunan aktivitas enzim sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang diberikan melebihi kebutuhan sehingga tekanan osmotik di dalam dan di luar sel bakteri tidak seimbang. Akibat tidak seimbangnya tekanan osmotik maka plasmolisis pada sel bakteri dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri ini tidak optimal sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Brooks, 2005).

#### **Kurva Pertumbuhan Bakteri *B. subtilis***

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran nilai *optical density* (OD) setiap dua jam dengan panjang gelombang 660 nm dari kultur bakteri *B. subtilis* untuk mengetahui pertumbuhannya selama 28 jam. Pertumbuhan bakteri *B. subtilis* mengalami peningkatan dengan meningkatnya nilai OD, hal tersebut ditunjukkan dengan semakin keruh suspensi bakteri maka semakin tinggi konsentrasi bakteri yang tumbuh.

Berdasarkan gambar 1 diketahui bahwa bakteri *Bacillus subtilis* memiliki 3 puncak aktivitas xilanase. Fase eksponensial terjadi pada jam ke-22 merupakan puncak saat bakteri memasuki dengan OD 0,068 nm sampai pada titik optimal pada jam ke-24 dengan OD 0,098 nm. Fase eksponensial (log) menurut Willey *et al.* (2011) merupakan fase dalam kurva pertumbuhan selama populasi mikroba tumbuh pada tingkat yang konstan dan maksimum, serta menggandakan secara berkala. Fardiaz (1992) menambahkan bahwa pada fase eksponensial merupakan penggandaan mikroba dengan memperbanyak diri melalui pembelahan diri menjadi dua, yang menyebabkan setiap generasi jumlahnya menjadi dua kali populasi sebelumnya. Fase stasioner jam ke-26 dengan OD 0,065 nm. Reiny (2012) menambahkan bahwa fase stasioner menggambarkan beberapa bakteri yang mati dan zat hasil metabolisme mulai menumpuk pada media pertumbuhan, selain itu menurut Efendi, *et al* (2017) nutrisi dalam media dan cadangan energi dalam sel mulai menipis.

Kurva pertumbuhan bakteri *B. subtilis* disajikan pada Gambar 1 berikut ini:



Gambar 1 : Kurva pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus subtilis* yang diukur selama 28 jam

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah dipaparkan maka kesimpulan dari penelitian ini adalah Sumber karbon yang digunakan sukrosa, dengan variasi perlakuan 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v), 20 % (b/v) dan 25 % (b/v). Aktivitas enzim tertinggi 7,517 (U/mL), pada perlakuan variasi sukrosa 15% (b/v). Pengamatan waktu inkubasi pada 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 dan 28 dalam satuan jam. Densitas optik optimum pertumbuhan *Bacillus subtilis* yaitu 0,069 (nm) pada waktu inkubasi 24 jam.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, Dan Perguruan Tinggi Republik Indonesia sebagai pemberi hibah penelitian dosen pemula tahun 2019, Devita Sulistiana, S.Si., M.Pd. dan Dian Puspita Anggraini, S.Si., M.Si sebagai patner peneliti serta semua pihak yang telah membantu untuk terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Adnyana, GABS, Gunam, IBW, & Anggreni A. A. MD.. Penentuan Suhu dan Sumber Karbon Terbaik pada Pertumbuhan Isolat SBJ8 dalam Iodesulfurisasi Dibenzotiofena. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 4 (4), 43 – 48.
- Bertolin, T.E., W. Schmidell, A.E.Maiorano, J.Casara & J.A.V.Costa. 2003. *Influence of Carbon, Nitrogen and Phosphorous Sources on Glucoamylase Production by Aspergillus Awamori in Solid State Fermentation*. *Z. Naturforsch.* 58, 708--712.
- Brooks GF, Janet SB, Stephen AM. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Dripta Sjabana. Jakarta: Salemba Medika.
- Earl AM, Losick R, & Kolter, R. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 16 (6), 269-275.

- Efendi Y, Yusra & Efendi VO. 2017. Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* Sebagai Sumber Enzim Protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*. 2 (1), 87-94.
- Fardiaz S. 1992. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Gandarillas C, Soto R, Vargas VA. 2012. Xylanase production using barley straw by *Bacillus* sp. LB-4 isolated from laguna Blanca, Potosi-Bolivia. *Rev Boliv Quim*. 29 (1), 63-70.
- Gupta, S., Bhushan, B., & Hoondal, G. S. 2000. Isolation, Purification and Characterization of Xylanase from *Staphylococcus* sp. SG-13 and its Application in Biobleaching of Kraft Pulp. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 325–334.
- Reiny, S.S. 2012. Potensi *Lactobacillus Acidophilus* ATCC 4796 Sebagai Biopreservatif Pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. *Jurnal IJAS*, 2 (2) , 604–613.
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*, 5 (1), 29-36.
- Sutarma. 2000. Kultur Media Bakteri. *Temu Teknis Fungsional non Peneliti*.
- Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. 2011. *Prescott's Microbiology 8th Ed*. New York: McGraw-Hill Education.