

**PENGARUH KONSENTRASI INOKULUM DAN INDUSER TERHADAP PRODUKSI
PROTEASE ALKALI *Bacillus* sp. ISOLAT MI.2.3 TERMOFILIK**

Widya Lestari, Anthoni Agustien Dan Yetria Rilda

Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang

E-mail: lied_lestataria@ymail.com

ABSTRACT

The purposes of research is to find the effects of inoculum concentration on increase alkaline protease activity and to find the effect of different of inducer on increase alkaline protease activity. This results showed that MI.2.3 has the highest enzyme activity and the fastest growth curve by applying inoculum concentration at 5%. by casein 1% induction produce enzyme activity of the isolated MI.2.3.

Key words: Alkaline protease, thermophilic, inoculum, inducer, spesific activity enzyme

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum dan induser yang berbeda terhadap peningkatan aktifitas protease alkali. Hasil penelitian diperoleh MI.2.3 memiliki aktifitas enzim tertinggi dan kurva pertumbuhan tercepat. Isolat MI.2.3 memiliki konsentrasi inokulum terbaik 5% dengan dengan induser kasein 1%.

Kata kunci: protease Alkali, termofilik, inokulum, inducer, aktifitas spesifik enzim

PENDAHULUAN

Enzim protease merupakan salah satu enzim yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi di pasaran dunia dan memiliki aplikasi yang sangat luas dengan total penjualan enzim diseluruh dunia mencapai 60% atau bernilai sekitar 600 juta US\$ pertahun (Rao *et al.*, 1998).

Protease alkali merupakan jenis protease yang paling banyak diaplikasikan dalam bidang industri (Akhdiya, 2003). Bakteri merupakan kelompok yang dominan sebagai penghasil protease alkali dengan genus *Bacillus* sebagai sumber yang paling banyak (Fuad *et al.*, 2004). Sehingga perlu dilakukan eksplorasi terhadap bakteri termofilik yang menghasilkan enzim alkali protease dari sumber air panas Sungai Medang Kerinci. Berdasarkan hasil survei yang telah dilakukan, diketahui bahwa suhu kolam air panas berkisar antara 50-78°C dengan kisaran pH 8-8,7, termasuk air panas yang bersifat basa, kaya akan kandungan mineral yang dibutuhkan oleh mikroorganisme termofilik (Cowan, 1992 dan Wahyuntari, 2001).

Salah satu strategi untuk meningkatkan produktivitas enzim dari mikroorganisme termofilik yaitu dengan optimisasi komposisi media (Krahe *et al.*, 1996), serta konsentrasi inokulum faktor yang sangat penting untuk pertumbuhan sel dan pembentukan produksi enzim (Cai *et al.*, 2008). Modifikasi formulasi medium yang sangat diperlukan untuk mendapatkan perolehan hasil yang maksimum (Stanbury and Whitaker, 1987 *dalam* Agustien, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum dan induser terhadap produksi protease alkali *Bacillus* sp. isolat MI.2.3 termofilik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bahan yang digunakan: Casein Hammarsten (Merck), *beef extract* (Merck), pepton (Merck), tripton (Merck), Bovine Serum Albumin (Merck), Reagen Folin ciocalteau's (Merck), Trichloro Acetic Acid (TCA) (Merck), L-Tirosin (Merck), , K₂HPO₄ (Ajax Chemicals), MgSO₄.7H₂O (Merck), CaCl₂.2H₂O (Fisons), NaCl (Merck), akuades steril, Alkohol 98%. Alat yang digunakan: erlenmeyer (Appox BGIF), mikropipet

(Biohit), *autoclave* (Hirayama HV-25), vortex (Ika Genius 3), tabung eppendorf dan inkubator.

Tahapan dalam penelitian ini terdiri dari beberapa perlakuan yaitu konsentrasi inokulum dan variasi induser untuk meningkatkan aktifitas protease alkali.

Isolat bakteri merupakan koleksi Laboratorium Riset Mikrobiologi UNAND yang telah diisolasi dari sumber Air panas Sungai Medang Kerinci Jambi. Isolat MI.2.3 merupakan isolat terbaik dengan ketentuan memiliki nilai aktifitas enzim tertinggi dan profil kurva pertumbuhan tercepat.

Pengaruh konsentrasi inokulum terhadap aktifitas enzim

Penentuan pengaruh konsentrasi inokulum terhadap aktifitas enzim dilakukan dengan variasi konsentrasi inokulum (0; 0,1; 1; 5 dan 10%) dengan waktu panen 18 jam. Penentuan aktivitas spesifik enzim metode Ward (1984) dalam Sugiono *et al.*, (2008).

Pengaruh jenis induser terhadap aktifitas enzim

Penentuan pengaruh induser terhadap aktifitas enzim dilakukan dengan variasi jenis induser yaitu *beef extract*, pepton, tripton, casein 1%, BSA serta tanpa induser (kontrol). Kemudian dilakukan penentuan aktivitas spesifik enzim metode Ward (1984) dalam Sugiono *et al.*, (2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat MI.2.3 memiliki nilai aktifitas tertinggi yaitu 13,592 U/ml dengan IP 4,5 mm dengan kurva pertumbuhan tercepat selama 18 jam inkubasi. Hasil pengujian pengaruh inokulum terhadap aktifitas spesifik protease alkali ditunjukkan pada Gambar 1.

Gambar 1. menunjukkan bahwa pada konsentrasi inokulum 5% diperoleh nilai aktifitas enzim spesifik tertinggi, yaitu: 0,3 U/mg berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya. Konsentrasi inokulum 0,1%, 1% dan 10% diperoleh nilai aktifitas spesifik enzim masing-masing nya 0,009 U/mg, 0,01 U/mg dan 0,052 U/mg.

Besar kecilnya jumlah inokulum mempengaruhi aktifitas enzim. Menurut Shafee *at al.*, (2005) dan Rahman *et al.*, (2008) bahwa konsentrasi inokulum yang kecil akan menyebabkan jumlah enzim yang disekresikan berkurang sedangkan konsentrasi

inokulum yang lebih besar dapat mengakibatkan oksigen terlarut menjadi berkurang dan terjadinya peningkatan kompetisi akan nutrisi.

Deng *et al.*, (2010) melaporkan didapatkan aktifitas maksimum (167,28 U/ml) dengan konsentrasi inokulum 2% masa inkubasi 24 jam dari *Bacillus calophilus*. Penelitian dari Palsaniya *et al.*, (2012) *Bacillus subtilis* memiliki konsentrasi inokulum terbaik 1 ml dengan aktifitas protease 90 U/ml. Nadeem *et al.*, (2008) konsentrasi inokulum 10% yang diinkubasi selama 24 jam dari *B. subtilis* PCSIR-5 memiliki nilai aktifitas protease optimumnya (107 U/ml).

Produksi aktifitas enzim maksimum harus menjaga keseimbangan antara jumlah inokulum dan ketersediaan substrat (Palsaniya *et al.*, 2012). Peningkatan produksi protease menggunakan konsentrasi inokulum yang sesuai (Shafee *et al.*, 2005).

Hasil pengujian aktifitas spesifik protease terhadap pengaruh induser dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. menunjukkan bahwa pemberian induser kasein (1%) menghasilkan aktifitas spesifik enzim protease tertinggi yaitu 0,738 U/mg berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya. Pemberian induser terbaik untuk menghasilkan aktifitas spesifik protease yaitu dengan pemberian kasein 1%. Menurut Walstra *et al.*, (2006) dalam Purnomo dan Purwanto (2003), kasein merupakan protein susu. Susu merupakan media yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba karena kaya akan kandungan nutrisi. Hal ini disebabkan adanya perbedaan komposisi kimiawi dalam induser tersebut (Samantha *et al.*, 2006).

Joo *et al.*, (2002) melaporkan pemberian kasein 1% meningkatkan produksi enzim sekitar 30% dari *Bacillus horikoshii* dengan nilai aktifitas enzimnya 82,5 U/ml. Serta Ferrero *et al.*, (1996) melaporkan perbedaan tingkatan produksi ketika menggunakan perbedaan komposisi dari sumber karbon dan nitrogen. Oleh karena itu kasein digunakan sebagai induser untuk sintesis enzim.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa produksi protease alkali *Bacillus* sp. isolat MI.2.3 terbaik menggunakan inokulum 5% dengan nilai aktifitas spesifik enzim (0,3 U/mg) dan induser kasein 1% dengan nilai aktifitas spesifik 0,738 U/mg.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Kepala Laboratorium Riset Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas yang telah memberikan fasilitas untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. UNPAD PRESS. Bandung.
- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termostabil. *Buletin Plasma Nutfah* (9): 98-102.
- Cai, C., B. Lou and X. Zheng. 2008. Keratinase production and keratin degradation by mutant strains of *Bacillus subtilis*. *Journal of zhejiang University Science*. 9: 60-67.
- Cowan, D.A. 1992. *Biochemistry and Molecular Biology of the Extremely Thermophilic Archaeobacteria*, in : *Molecular Biology and Biotechnology Extremophiles*. Ed. R.A. Herbert and R.J. Sharp, Blackie & Sons. New York.
- Deng, A., J. Wu, Y. Zhang, G. Zhang and T. Wen. 2010. Purification and characterization of a surfactant-stable high-alkaline protease from *Bacillus* sp. B001. *Bioresource Technology*. 101: 7100-7106.
- Ferrero, M.A., G.R. Castro, C.M. Abate, M.D. Baigori and F. Singeriz. 1996. Thermostable alkaline proteases of *B. licheniformis* MIR 29 : isolation, production and characterization. *Applied Microbiology Biotechnology*. 45 : 327-332.
- Fuad, A.M., R. Rahmawati dan N.R. Mubarik. 2004. Produksi dan karakterisasi persial protease alkali termostabil *Bacillus thermoglusidarius* AF-01. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 9 (1): 29-35. Bogor.
- Joo, H.S., C.G. Kumar, G.C. Park, K.T. Kim, S.R. Paik and C.S.Chang. 2002. Optimization of the production of an extracellular alkaline protease from *Bacillus horikoshii*. *Process Biochemistry* (38): 155-159
- Krahe, M., G. Antranikian and H. Mairul. 1996. Fermentation of extremophilic microorganisms. *FEMS Microbiology Biotechnology*, 18: 271-285
- Nadeem, M., J.I. Qazi, S. Baig and Q.A. Syed. 2008. Effect of medium composition on commercially important alkaline protease production by *B. licheniformis* N-2. *Food Technology Biotechnology*. 46 (4) : 388-394.
- Palsaniya, P., R. Mishra, N. Beejawat, S. Sethi and B.L. Gupta. 2012. Optimization of alkaline protease production from Bacteria isolated from soil. *Microbiology and Biotechnology Research*. 2 (6): 858-865.
- Poernomo, A.T dan D.A. Purwanto. 2003. Uji aktifitas crude enzim proteolitik *Bacillus subtilis* FNCC 0059 hasil fermentasi curah. *Majalah farmasi Airlangga*. 3(3): 103-107

- Rahman, R.N., Z.R.A. Basri and A.B. Salleh. 2003. Thermostable alkaline protease from *Bacillus strearothermophilus* F1: Nutritional factors affecting protease production. *Annals of Microbiology*. 53: 199-210
- Rao, M.B., A.M. Tanksale, M.S. Ghatge and V.V. Deshpande. 1998. Molecular and Biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology*. 62: 597-635
- Sumantha, A., C. Larroche and A. Pandey. 2006. Microbiology and industrial of food-grade proteases: A perspective. *Food Technology Biotechnology* 44 (2): 211–220
- Shafee, N., S.N. Aris, R.N.Z.A. Rahman, M. Basri and A.B. Saleh., 2005. Optimization of environmental and nutritional conditions for the production of alkaline protease by a newly isolated bacterium *Bacillus cereus* strains 146. *Journal Applied Sciences Research*. 1, 1, 1-8.
- Sugiono, R., A.J. Lintang dan R.A. Sabe. 2008. Karakterisasi Protease Bakteri Termofil Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. *Penelitian Perikanan II* (2): 156-162.
- Wahyuntari, B. 2001. *Pemurnian dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler Isolat Prokariot Termofilik Ekstrim dari Tangkuban Perahu*. Disertasi, IPB, Bogor. 1-165.