

## APLIKASI REAKTOR SISTEM SINAMBUNG DAN TEKNOLOGI MEMBRAN PADA PRODUKSI ENZIM $\alpha$ -AMILASE OLEH *Bacillus subtilis*

Mahyudin AR<sup>1)</sup>, Sumaryanto<sup>2,3)</sup>  
P<sub>3</sub>TB, Dep. TAB, BPPT<sup>1)</sup>; PPKIT BPPT<sup>2)</sup>, FFUP UP<sup>3)</sup>  
Gedung 2 BPPT, Jl. M.H. Thamrin 8 Jakarta Pusat  
Telp: 021-3169530, fax: 021-3169510, E. mail: yudinr@hotmail.com

### Abstract

*$\alpha$ -Amylase enzyme (endoamylase) is produced for hydrolysis of 1,4-glycosidic binding from starch to maltose in food and non food industries. Due to increasing production capacity, continuous of fermentation process and maintaining the enzyme activity can be achieved with CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor), an alternative for batch process replacement. 3,5 l Reactor combined with microfiltration membrane under specific conditions such as : pH, molasses-urea medium, temperature, and agitation are adjusted to 8,37° C, and 250 rpm. The result obtained showed that in 1 vvm aeration *Bacillus subtilis* ATCC 6633 reached an enzyme specific activity of 93 Unit/mg protein during 20 hours fermentation. By continuous fermentation using a medium containing 3 % molasses - 0,6 % urea, these bacteria excrete an enzyme with a specific activity of 60 U/mg protein during 22 hours fermentation. It was shown that a production during 96 hours gave an enzyme production with a specific activity of 90 U/mg protein.*

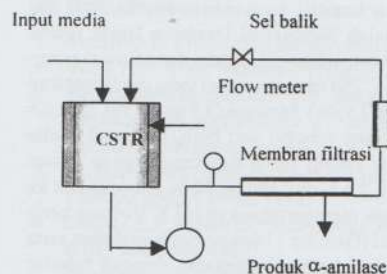
**Keywords:**  $\alpha$ -Amylase, *Bacillus subtilis*, CSTR.

### I. Pendahuluan

Reaktor berpengaduk sinambung dipadukan dengan penggunaan membran sebagai unit filtrasi yang diaplikasikan pada teknologi produksi enzim, merupakan antisipasi pemenuhan kebutuhan enzim di Indonesia dan salah satu proses alternatif pengganti batch (7) dengan tujuan sbb:

1. Mempertahankan populasi mikroba tetap setimbang, mengeluarkan kultur enzim yang siap dipanen dan menggantikannya dengan medium kaya nutrisi dan segera pada laju alir yang tetap.
2. Konsentrasi biomassa dapat dipertahankan pada berbagai macam laju alir.
3. *Secondary metabolite production* selalu dipertahankan simultan dengan pertumbuhan sel
4. Memanen enzim yang diinginkan dengan memisahkannya dari sel-sel agar umur simpan enzim lebih lama dan tidak menimbulkan bau.

Kultur kemostat dan turbidostat adalah 2 macam kultur sinambung dengan cara mengontrol volume bioreaktor agar tetap konstan, yang selanjutnya overflow yang telah melewati membran filtrasi adalah enzim sebagai produk (skema gambar 1).



**Gambar 1:** Skema produksi  $\alpha$ -amilase  
Material balans sel pada bioreaktor :  
Akumulasi sel = sel masuk-sel keluar +  
pertumbuhan sel – kematian sel..... (1).

Over all dari persamaan tersebut menjadi:

$$dX / dt = -DX + \mu X = X(\mu - D) \dots\dots (2)$$

dimana:

D = Dilution rate

$\mu$  = spesifik pertumbuhan maksimum (Jam<sup>-1</sup>)

X = Konsentrasi sel di bioreaktor (Jam<sup>-1</sup>)

Pada kondisi steady state maka  $dX/dt = 0$  sehingga persamaan 2 berubah menjadi  $\mu = D$

Enzim merupakan biokatalis (misalnya  $\alpha$ -amilase) yang secara komersial digunakan di industri pangan, antara lain industri roti, bir, susu bayi, sirop dll, sedangkan pada industri non pangan antara lain di industri tekstil, kertas dan pulp pada proses pemutihan, dan penghilangan kanji. Pemanfaatan enzim tersebut telah memberikan kontribusi pada peningkatan kualitas produk dan proses ramah lingkungan menghasilkan senyawa yang memiliki nilai tambah.

*Bacillus subtilis* adalah amilolitik yang telah lama dipakai pada fermentasi kultur padat terendam dan fermentasi cair yang dikembangkan dimana produk berupa dekstrin atau glukosa. Lebih lanjut pada dijelaskan bahwa enzim produk dari mikroba ini dapat diaplikasikan pada temperatur 50 °C dan pH diantara (8)

Data optimasi aerasi pada sistem batch ditujukan untuk mencari spesifik pertumbuhan maksimum yang akhirnya ditujukan untuk menentukan pada dilution rate berapa (hour retention time) maksimum untuk proses fermentasi sinambung, lebih lanjut stabilitas produksi enzim juga sasaran dari penelitian ini.

**II. Bahan dan Metode.**

**Mikroorganisme:** *B. subtilis* ATCC 6633 koleksi laboratorium Teknologi Bioindustri BPP Teknologi

**Media dan kondisi fermentasi:** Media awal dan regenerasi adalah Sabouraud Dextrose Broth media (Berpeld P). Temperatur pH, agitasi dan aerasi masing-masing 37 °C, 8, 250 rpm dan aerasi yang dioptimalkan (0,50; 0,75; dan 1 vvm). Molases (3,4 atau 5 %), urea 0,6 %, minyak kelapa sebagai anti buih, pH steril media adalah 8 untuk sistem batch dan umpan pada sistem sinambung (HCl 5 N dan NaOH 30 % diumpankan ke fermentor untuk mempertahankan pH 8. Volume kerja CSTR 3350 ml (Gambar 1) dan proses pemekatan serta pemisahan sel terhadap supernatan dengan tubular mikrofiltrasi berukuran 0,2 mikron.

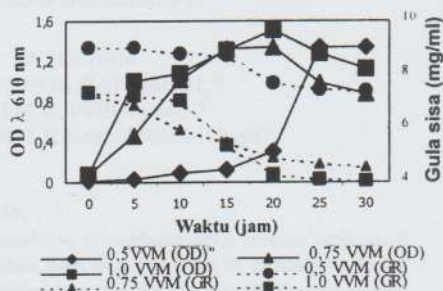
**Analisis:** Kerapatan bakteri diukur dengan spektrofotometer  $\lambda$ 610 nm. (1) Kandungan protein diukur dengan Lowry method (6) Gula reduksi dan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase terukur dengan DNS method (2),

$$\text{Aktivitas enzim (Unit/ml.menit)} = \frac{\text{mg/ml maltosa} \times 1000 \times \text{FP}}{t \times a \times b}$$

Sedangkan aktivitas spesifik  $\alpha$ -amilase (Unit /mg protein) adalah aktivitas enzim dibagi dengan kandungan protein.

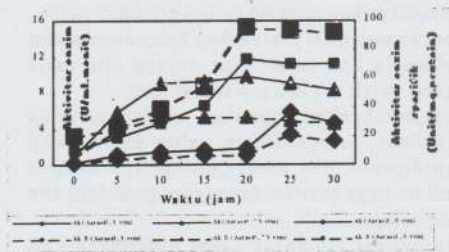
**III. Hasil dan Pembahasan**

**1. Optimasi aerasi pada sistem batch/tutup**



**Gambar 2 :** Kurva pertumbuhan *B. subtilis* pada optimasia erasi diukur pada  $\lambda$  610 nm dan gula sisa hasil fermentasi.

Aerasi 0,5, 0,75, dan 1,0 vvm pada Gambar 2 menunjukkan profil kurva sama, naik dengan bertambahnya waktu dan mencapai kondisi lag fase untuk aerasi 0,5 vvm lebih lama yakni 20 jam atau  $\mu = 0,015 \text{ jam}^{-1}$ . Sedangkan aerasi 1,0 vvm hanya 5 jam, dan  $\mu = 0,2 \text{ jam}^{-1}$  atau 13 kali lebih besar. Gula sisa hasil fermentasi dengan aerasi lebih besar menunjukkan mikroba mengkonsumsi nutrisi untuk pertumbuhan dan metabolisme (5).



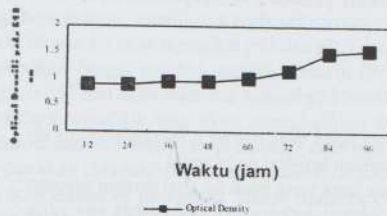
**Gambar 3 :** Pengaruh waktu terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh *B. subtilis* ATCC 6633

Dengan bertambahnya waktu maka pada Gambar 3 aktivitas enzim makin bertambah besar seiring dengan besarnya suplai dari udara.. Pada aerasi 0,5, 0,75, dan 1,0 vvm aktivitas enzim dari jam ke jam akan meningkat sebagaimana halnya dengan kerapatan bakteri dan aktivitas maksimum produksi  $\alpha$ -amilase pada jam ke 10 – 20. Dinaikkannya aerasi 2 kali lebih besar dari 0,5 ke 1,0 vvm, mengakibatkan aktivitas enzim juga naik 2 kali

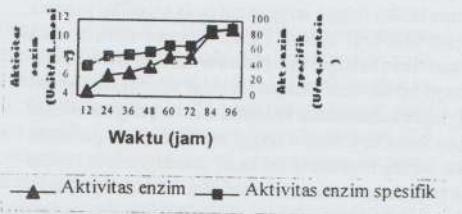
lebih besar yakni dari 5,8 U/ml. menit menjadi 11,7 Unit/ml. menit, demikian pula halnya dengan perubahan aktivitas pada aerasi 0,75 vvm.

### 2. Uji Stabilitas Produksi enzim dengan dilution rate atau HRT tetap

Dengan laju alir (0,152 l/jam) atau waktu tinggal yang tetap (22 jam) sehingga didapatkan dilution rate 0,048 jam<sup>-1</sup>. Kondisi ini sudah mencapai steady state pada aerasi 1.0 vvm Selama proses fermentasi 4 hari nampak pada Gambar 4. Tujuan dari penelitian ini melihat kestabilan produksi  $\alpha$ -amilase sinambung. Dengan pengumpulan medium steril molases-urea. Kondisi steady state dapat tercapai bilamana pengukuran kerapatan bakteri konstan pada hari yang sama.



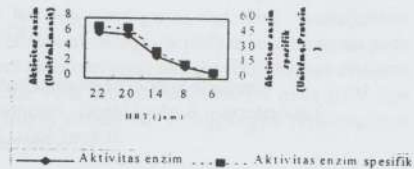
Gambar 4: Uji OD Pada Stabilitas Produksi enzim dilaju alir konstan



Gambar 5. Stabilitas aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi selama 4 hari fermentasi.

Selama fermentasi 4 hari kerapatan bakteri dikatakan konstan, bahkan relatif naik dilihat dari efektivitas mikrofiltrasi pada Gambar 5. sistem sinambung baik aktivitas enzim dan aktivitas spesifik naik dengan makin lamanya proses fermentasi aktivitas enzim naik 3 kali lebih besar hal ini disebabkan makin efektifnya mikroba pada proses metabolisme pembentukan enzim.

### 3. Uji produksi $\alpha$ -amilase Pada waktu tinggal (HRT) atau dilution rate yang berbeda.



Gambar 6: Hubungan antara perubahan waktu tinggal dengan aktivitas produksi enzim  $\alpha$ -amilase

Laju alir dibuat bervariasi dari 0,152-0,558 l/jam (waktu tinggal 22-6 jam) atau dengan dilution rate 0,048-0,167 jam<sup>-1</sup>.

Gambar 6 menunjukkan bahwa, sistem sinambung dengan laju alir atau HRT yang berubah-ubah, maka bila laju alir atau dilution rate ditambah maka kedua aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase akan turun, bahkan oada HRT 6 jam enzim yang dihasilkan hanya mempunyai aktivitas mendekati nol. Kondisi seperti ini dapat dikatakan "washout" yakni sel-sel mikroba terikut seluruhnya ke effluent (4).

### IV. Daftar Pustaka

1. Aunstrup K. Production of microbial enzyme. 2<sup>nd</sup> ed. Vol. I. New York: Academic Press; 1979.
2. Buchanan RE, Gibbons NE. Bergey's manual of determination bacteriology. 11<sup>th</sup> ed. Baltimore: The William and Wilkins Company; 1974.
3. Berfeld P. Amylases methods in Enzymology. New York: Academic Press; 1955.
4. Casida LE Jr. Industrial microbiology. New York: John Wiley and Sons; 1969.
5. Hardjasasmita P. Ikhtisar biokimia dasar A. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1991.
6. Lowry, Nira J. Protein measurement with the Folin reagent. California: Lange Medical Publications; 1951.
7. Scragg AH. Bioreactors in Biotechnology A Practical Approach. New York : John Wiley and Sons; 1991.
8. Wiseman A. Hand book of Enzym biotechnology. 2<sup>nd</sup> ed. New York : Ellis Hoorwood Limited John Wiley; 1985.

Ucapan terima kasih :

Penulis mengucapkan terima kasih kepada sdr. Lara Oktaviana, mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Pancasila atas bantuan dan kerjasamanya dalam penelitian ini