

Synergism each Isolates of Thermophilic Bacteria SSA₂, SSA₃, SSA₄, and SSAS₆ in Xylanase Production

Sinergisme Antar Isolat Bakteri Termofilik SSA₂, SSA₃, SSA₄, dan SSAS₆ yang Dikonsorsiumkan dalam Produksi Xilanase

Shafa Thalita Azzahra¹, Irdawati*, Dwi Hilda Putri¹, Dezi Handayani¹, Linda Advinda¹

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

*Correspondence author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract

Enzymes are proteins that act as catalysts to speed up chemical reactions by lowering the activation energy. Enzymes and microorganisms can be utilized in the industrial field. The advantages of the application of enzymes in the industrial field, namely the product becomes easily decomposed, requires less energy, and does not produce hazardous waste. One of the potential enzymes in the industrial field is xylanase. Xylanase enzymes can be produced by thermophilic bacteria. The advantage of thermophilic bacteria is that enzymes are more stable and can be stored longer. There is a consortium of bacteria naturally in nature. Consortium has a better ability than pure culture in utilizing the substrate as an energy source. Thermophilic bacteria from Sapan Sungai Aro isolates SSA 2, SSA 3, SSA 4 and SSAS 6 can produce xylanase enzymes. Prior to the consortium, a synergism test was needed to find out if all isolates were synergistic. Furthermore, the synergism test was carried out using the disk diffusion method. The results of the test did not reveal any inhibition zones around the disc paper, so that all SSA 2, SSA 3, SSA 4 and SSAS 6 isolates were synergistic and further tests could be carried out for consortium research.

Key words Consortium, synergism, thermophilic bacteria, xylanase

Abstrak

Enzim adalah protein yang bertindak sebagai katalisator untuk mempercepat reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi. Enzim dan mikroorganisme dapat dimanfaatkan dalam bidang industri. Kelebihan dari aplikasi enzim dalam bidang industri, yaitu produk menjadi mudah terurai, energi yang dibutuhkan lebih sedikit, juga tidak menghasilkan limbah berbahaya. Salah satu enzim yang berpotensi pada bidang industri adalah xilanase. Enzim xilanase dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik. Keunggulan dari bakteri termofilik yaitu enzim lebih stabil dan penyimpanannya dapat lebih lama. Terdapat konsorsium bakteri secara alami di alam. Konsorsium memiliki kemampuan yang lebih baik daripada kultur murni dalam memanfaatkan substrat sebagai sumber energi. Bakteri termofilik dari Sapan Sungai Aro isolat SSA 2, SSA 3, SSA 4 dan SSAS 6 dapat menghasilkan enzim xilanase. Sebelum dilakukan konsorsium dibutuhkan uji sinergisme untuk mengetahui apabila semua isolat sinergis. Selanjutnya dilakukan uji sinergisme menggunakan metode *disk diffusion*. Hasil dari tes tersebut tidak ditemukan adanya zona hambat disekitar kertas cakram, sehingga semua isolat SSA 2, SSA 3, SSA 4 dan SSAS 6 bersifat sinergis dan dapat dilakukan uji lanjutan untuk penelitian konsorsium.

Kata kunci Bakteri termofilik, konsorsium, sinergisme, xilanase

Pendahuluan

Enzim adalah katalisator yang bekerja untuk mempercepat reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi (Al-Maqdi, 2021). Enzim bermanfaat dalam bidang industri, yaitu produk pembersih, kertas, tekstil, pangan dan pakan, serta bioenergi (Yadav, 2019). Keunggulan dari penggunaan enzim di bidang industri adalah menghemat energi. Mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim antara lain ragi, jamur, dan bakteri (Frazzetto, 2003). Salah satu enzim yang berpotensi pada bidang industri adalah xilanase. Enzim tersebut bekerja untuk menghilangkan residu lignin dan hemiselulosa (Shahi, 2016). Enzim xilanase bisa menggunakan limbah pertanian sebagai substratnya (Irdawati, 2020). Pemanfaatan xilanase dapat di berbagai bidang, antara lain makanan dan minuman, industri kertas, produksi gula xilitol, farmasi, dan pakan ternak (Heinen et al., 2017). Xilanase juga dapat dipakai ketika proses bioleaching pulp. Kertas menjadi putih berkat bantuan enzim xilanase. Hal ini berpotensi sebagai substitusi penggunaan klorin pada proses bleaching, karena zat tersebut berbahaya bagi lingkungan (Irdawati, et al. 2022).

Xilanase diproduksi oleh mikroorganisme, salah satunya bakteri (Gilbert, 1993). Bakteri termofilik menjadi perhatian bagi sektor industri dalam produksi enzim xilanase, karena kemampuannya yang bisa mentoleransi suhu dan pH ekstrim (Basit, 2018). Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang dapat hidup pada suhu tinggi (Elnasser,

2006). Bakteri termofilik baik untuk produksi enzim termostabil atau enzim yang tahan terhadap suhu tinggi. Keunggulan dari enzim termostabil adalah memperkecil terjadinya kontaminasi sehingga waktu penyimpanannya bisa lebih lama (Mahestri, 2021). Habitat dari bakteri termofilik adalah letusan hidrotermal, sumber air panas, dan timbunan kompos (Nuritasari, 2017). Terdapat penelitian yang dilakukan di Sumber Air Panas Mudik Sapan, Kabupaten Solok Selatan, ditemukan 19 isolat bakteri termofilik yang mampu memproduksi enzim xilanase (Irdawati, 2016). Aktivitas xilanase bakteri termofilik yang terbaik adalah dengan masa inkubasi selama 6 jam (Irdawati, 2018). Selain itu, pada Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro di Kabupaten Solok Selatan, juga ditemukan 16 isolat bakteri termofilik. Setelah diidentifikasi, isolat tersebut merupakan *Bacillus* sp. Aktifitas xilanolitiknya diuji secara monokultur. Terdapat 4 isolat dengan indeks xilanolitik tertinggi, antara lain SSA 2, SSA 4, SSA 3 dan SSAS 6 (Irdawati, 2018). Konsorsium bakteri ditemukan berlimpah di alam (Padmaperuma, 2020). Menurut Deng (2016), konsorsium dapat menghasilkan enzim xilanase dengan kemampuan hidrolisis yang lebih tinggi. Hal itu disebabkan oleh kerja bakteri yang saling melengkapi.

Konsorsium memiliki kemampuan yang lebih baik daripada kultur murni dalam memanfaatkan substrat sebagai sumber energi (Dhillona, 2011). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas konsorsium bakteri dalam degradasi lignoselulosa lebih tinggi daripada monokultur, karena masing – masing strain saling bekerjasama (Kato, 2004). Hal ini dijelaskan oleh penelitian Deng & Wang (2016) bahwa bakteri konsorsium memiliki aktivitas metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur murni, menunjukkan adanya persaingan dalam konsumsi nutrisi, sehingga menyebabkan penurunan rendemen gula fermentasi selama inkubasi kokultur. Menurut Sarkar & Chourasia (2017), untuk menyiapkan konsorsium mikroba yang sukses, kultur bakteri harus sinergis satu sama lain agar bisa menghasilkan enzim yang diperlukan.

Bakteri yang sinergis tidak saling mengganggu satu sama lainnya, melainkan saling menguntungkan serta berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama (Asri & Zulaika, 2016). Sebelum menjalankan penelitian konsorsium lebih lanjut, perlu dilakukan uji sinergisme antar isolat bakteri agar dapat mengetahui apakah isolat bakteri tersebut dapat bekerja sama. Maka dari itu, tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui isolat bakteri termofilik SSA2, SSA3, SSA4, dan SSAS6 yang sinergis.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah : tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, batang pengaduk, gelas ukur, erlenmeyer, bunsen, kompor listrik, timbangan digital, *vortex*, mikropipet, jarum ose, *autoclave*, pinset, kamera, dan alat-alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah : Isolat bakteri termofilik SSA2, SSA3, SSA4, SSAS6, *paper disk*, label, aquades, *nutrient agar*, *tips*, plastik pembungkus, BaCl₂ dan H₂SO₄.

Medium Nutrient Agar

Nutrient agar sebanyak 6 gram dilarutkan oleh 300mL aquades menggunakan batang pengaduk hingga homogen. Kemudian disterilisasi oleh *autoclave* selama 15 menit pada suhu 120°C.

Larutan Mc Farland

Larutan Mc Farland adalah peyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Larutan Mc Farland yang digunakan adalah skala 1 dibuat dengan mencampurkan larutan 1,175% BaCl₂ dan larutan 1% H₂SO₄.

Uji Sinergisme

Uji sinergisme menggunakan metode *disk diffusion* yang dilakukan dengan cara: mengambil 1 mL suspensi bakteri termofilik SSA2, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi akuades steril dan sesuaikan kepadatan populasinya dengan skala 1 Mc Farland's (populasi 3x10⁸ sel/mL). 1 mL suspensi bakteri termofilik SSA2 (skala 1 McFarland's) dimasukkan ke dalam petri steril. Selanjutnya dituangkan dengan medium NA, dihomogenkan dengan cara memutar petri seperti angka delapan dan biarkan sampai medium dingin. Selanjutnya diambil 4 lembar kertas cakram steril, diletakkan di dalam cawan petri steril kemudian ditetesi dengan 0,1 mL bakteri termofilik SSA3 (skala 1 McFarland's) dan didiamkan beberapa saat. Selanjutnya cakram tersebut diletakkan di tengah medium yang telah diinokulasi suspensi bakteri termofilik SSA2 dan inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 60°C. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk kombinasi isolat bakteri termofilik SSA lainnya. Isolat yang sinergis ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambatan yang terbentuk, sedangkan isolat yang tidak sinergis ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk di sekitar kertas cakram (Jovanita & Advinda, 2022 modifikasi).

Hasil dan Pembahasan

Konsorsium mikroba ditemukan berlimpah di alam, misalnya, di usus mamalia, makanan, tanah, ekosistem perairan, dan limbah biologis (Padmaperuma, 2020). Konsorsium dapat menghasilkan enzim xilanase dengan kemampuan hidrolisis yang lebih tinggi. Hal itu disebabkan oleh kerja bakteri yang saling melengkapi (Deng, 2016). Adanya sinergisme atau

sinergisme dari dua bakteri atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya bakteri tersebut dapat bekerjasama dengan baik (Elfiati, 2005). Isolat bakteri yang mempunyai hubungan akan berasosiasi, sehingga lebih berhasil mendegradasi senyawa kimia dibandingkan isolat tunggal. Hubungan antar bakteri sinergis dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, akan tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi (Okoh, 2006).

Hasil inkubasi selama 24 jam, masing-masing isolat yang bersinergikan tidak membentuk zona bening atau zona hambat. Dapat dilihat dari tabel 1 bahwa hasil uji sinergisme, kombinasi isolat bakteri SSA 2 dengan SSA 3, SSA 2 dengan SSA 4, SSA 2 dengan SSAS 6, SSA 3 dengan SSA 4, SSA 3 dengan SSA 4, SSA 3 dengan SSAS 6, dan SSA 4 dengan SSAS 6 bersifat sinergis. Dapat dilihat dari tidak adanya aktivitas antagonisme yang terjadi antar isolat bakteri, hal ini dapat ditandai dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk (Putra, 2011).

Tabel 1. Hasil Uji Sinergisme Bakteri Termofilik SSA

Isolat	SSA 2	SSA 3	SSA 4	SSAS 6
SSA 2		+	+	+
SSA 3	+		+	+
SSA 4	+	+		+
SSAS 6	+	+	+	

Keterangan: (+) sinergis, (), bukan pasangan konsorsium

Bakteri yang sama pada genus maupun spesies dapat berbagi sumber nutrisi yang sama, bahkan akan saling berinteraksi dan bersinergi. 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 (Bailey, 2006). Terdapat beberapa faktor yang diduga menjadi mekanisme dari sinergisme bakteri, antara lain : salah satu anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik, salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut (Deng, 2016).

Penyiapan konsorsium dapat dikatakan berhasil jika bakteri dalam konsorsium tersebut mampu tumbuh bersama dengan bakteri yang lain tanpa saling menghambat aktivitas bakteri (Hibbing, 2010). Hasil uji sinergisme bakteri termofilik isolat SSA 2 dengan SSA 3, SSA 2 dengan SSA 4, SSA 2 dengan SSAS 6, SSA 3 dengan SSA 4, SSA 3 dengan SSA 4, SSA 3 dengan SSAS 6, dan SSA 4 dengan SSAS 6 bersifat sinergis, sehingga dapat dilanjutkan dengan penelitian lanjutan mengenai konsorsium menggunakan isolat tersebut.

Ucapan Terima Kasih

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kelancaran terhadap penulis. Terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan artikel ini. Terima kasih kepada semua pihak yang ikut berpartisipasi memberikan bantuan kepada penulis demi kelancaran penelitian dan penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Al-Maqdi, K. A, Bilal, M.; Alzamly, A.; Iqbal, H.M.N.; Shah, I.; Ashraf, S.S. 2021. Enzyme-Loaded Flower-Shaped Nanomaterials: A Versatile Platform with Biosensing, Biocatalytic, and Environmental Promise. *Nanomaterials*. 1460. <https://doi.org/10.3390/nano11061460>
- Asri AC & Zulaika E. 2016. Sinergisme Antar Isolat Azotobacter yang Dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*.5(2): 2337-3520.
- Basit, A. Junquan L., Kashif R., Wei J. and Huiqiang L. 2018. Thermophilic Xylanases: From Bench to Bottle. *Critical Reviews in Biotechnology*. Taylor & Francis Group.
- D. Elfiati, Peranan mikroba pelarut fosfat terhadap pertumbuhan tanaman, Medan: USU (2005).
- Deng, Y.-J., Wang, S.Y., 2016. Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *J. Microbiol.* 54 (1), 23-30



- Dhillona, G. S, Harinder S. O, Surinder K. 2011. Value-addition of agricultural wastes for augmented cellulase and xylanase production through solid-state tray fermentation employing mixed-culture of fungi. *Industrial Crops and Products*. Elsevier.
- Frazzetto, G. 2003. White Biotechnology. EMBO reports. *European Molecular Biology Organization*. VOL 4. NO. 9
- Gilbert, H. J., & Hazlewood, G. P. (1993). Bacterial Cellulases and Xylanases. *Journal General Microbiology*: 139, 187-194.
- Heinen, P. R., et al. 2017. GH11 xylanase from *Aspergillus tamarii* Kita: Purification by one-step chromatography and xylooligosaccharides hydrolysis monitored in real-time by mass spectrometry. *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier.
- Irdawati., Ilsa Septia Putri. 2018. The Thermophilic Bacterial Growth Curve. *Bioscience*. Volume 2 Number 2. ISSN: Print 1412-9760 – Online 2541-5948.
- Irdawati., Nur Shofiatun Nisa, Dwi Hilda Putri., Dezi Hadayani., Y. Yusrizal. 2022. Potensi Xilanase Bakteri Termofilik Sebagai Pemutih Kain Ramah Lingkungan. *Serambi Biologi*. Vol. 7. e-ISSN: 2722-2829
- Irdawati., S. Syamsuardi., A. Agustien and Y. Rilda. 2018. Screening Of Thermophilic Bacteria Produce From Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. *Materials Science and Engineering*
- Irdawati. Sofiyana. 2020. Optimization of Agricultural Waste Substrate as an Alternative Medium for Xylan in Producing Xylanase Enzymes by Thermophilic Bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing. doi:10.1088/1742-6596/1940/1/012052
- Irdawati., Syamsuardi., Anthoni, A., Yetria R., Heffi, A. 2016. Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xilanase Alkali dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi* 2, 19,25, dan 26 November, Bengkulu
- Jovanita, Lati. L. Advinda. 2022. Uji Kompatibilitas Pseudomonad Fluoresen yang Diisolasi dari Rizosfir Tanaman. *Serambi Biologi*. Vol.7 No.1 pp.65-69 2022.
- Kato, S., Haruta, S., Cui, Z.J., Ishii, M., Igarashi, Y., 2004. Effective cellulose degradation by a mixed-culture system composed of a cellulolytic *Clostridium* and aerobic non-cellulolytic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 51, 133–142.
- Mahestri, L., Esti H., Agus S. 2021. Isolasi dan Penapisan Bakteri Termofilik Pemecah Amilum dan Protein dari Sumber Air Panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*.
- M. J. Bailey, A. K. Lilley, T. M. Timms-Wilson, dan T. M. Spencer-Phillips. 2006. *Microbial ecology of aerial plant surface*. United Kingdom: CABInternational.
- Nuritasari, D. Purbowatiningrum Ria Sarjono, Agustina L.N. A. 2017. Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedongsongo dengan Media Pengaya MB (Minimal Broth) dan TS (Taoge Sukrosa) serta Identifikasi Fenotip dan Genotip. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. ISSN: 1410-8917
- Okoh AI. 2006. Biodegradation Alternative in the Clean Up of Petroleum Hydrocarbon Pollutants. *Biotechnol and Molecular Biology*. 1(2): 38-50.
- Padmaperuma, G. Thomas O. Butler, Faqih A.B, Ahmad S., Wasayf J. Almalki, S.V. 2020. Microbial consortia: Concept and application in fruit crop management. *Fruit Crops Diagnosis and Management of Nutrient Constraints*. Elsevier.
- Putra C. 2011. Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan Aktinomiset sebagai Agens Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pemacu Pertumbuhan Padi. *Jurnal Fitopatologi*. 10(1): 160-169
- Shahi, N. 2016. Xilanase : A promising enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. USA. ISSN : 0975-7384
- Y. Deng, dan S. Y. Wang. 2016. Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *J Microbiol*. Vol. 54.
- Yadav, A. 2019. Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi. Volume 3. *Perspective for Sustainable Environments*. Springer Nature : Switzerland