

Variations in Alginate Concentration as a Material for Immobilizing Thermophilic Bacteria on the Characteristics of Beads

Variasi Konsentrasi Alginat sebagai Bahan Imobilisasi Bakteri Termofilik terhadap Karakteristik Beads

Titi Summaati¹, Irdawati^{1*}

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

*Correspondence author : irdawati.amor40@gmail.com

Abstract

Immobilization is a technique for physically confining or placing microbial cells in a certain space, where the cells still maintain catalytic activity. The cell immobilization technique aims to facilitate product purification, increase productivity, make it easier to control cell stability and microbial cells can be used repeatedly. One carrier that is often used as a matrix to trap microorganism cells is alginate. Alginate is a type of polysaccharide obtained through extraction from brown algae. The immobilization technique with alginate cells was chosen because of its non-toxic nature, simple procedure for immobilization and cheap price for industrial applications. Alginate concentration affects the physical and chemical properties of the beads produced, such as size, shape and color of the beads. This study aims to compare variations in alginate concentration as a material for immobilizing thermophilic bacteria on the characteristics of the beads. This research is descriptive research. Beads are made with varying concentrations, namely 2%, 3%, 4%, 5% and 6% alginate. Data in the form of beads characteristics which include size, shape and color of beads. Based on research, the results obtained are that the higher the alginate concentration, the larger the diameter of the beads, the color of the beads will be more intense and the shape of the beads will tend to be round, and the beads will be sturdier, and vice versa.

Key words : *immobilization, alginate, characteristics, thermophilic bacteria, concentration*

Abstrak

Imobilisasi adalah teknik untuk membatasi atau menempatkan sel mikroba secara fisik dalam suatu ruang tertentu, dimana sel-sel tersebut tetap mempertahankan aktivitas katalitik. Teknik imobilisasi sel bertujuan untuk memudahkan pemurnian produk, meningkatkan produktivitas, memudahkan dalam mengontrol kestabilan sel dan sel mikroba dapat digunakan berulang. Salah satu pengemban yang sering digunakan sebagai matriks penjebak sel mikroorganisme adalah alginat. Alginat adalah sejenis polisakarida yang diperoleh melalui ekstraksi dari alga coklat. Teknik imobilisasi dengan sel alginat dipilih karena sifatnya yang tidak beracun, prosedur yang sederhana untuk imobilisasi dan harganya murah untuk diaplikasikan dalam bidang industri. Konsentrasi alginat mempengaruhi sifat fisik dan kimia beads yang dihasilkan seperti ukuran, bentuk dan warna beads. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan variasi konsentrasi alginat sebagai bahan imobilisasi bakteri termofilik terhadap karakteristik beads. Penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Beads dibuat dengan variasi konsentrasi yaitu alginat 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%. Data berupa karakteristik beads yang mencakup ukuran, bentuk dan warna beads. Berdasarkan penelitian didapatkan hasil yaitu semakin tinggi konsentrasi alginat maka diameter beads akan semakin besar, warna beads akan semakin pekat dan bentuk beads cenderung bulat, serta beads akan lebih kokoh, begitupun sebaliknya.

Kata kunci : imobilisasi, alginat, karakteristik, bakteri termofilik, konsentrasi

Pendahuluan

Imobilisasi sel merupakan suatu metode yang menahan pergerakan sel pada suatu ruang. Sel imobil banyak digunakan untuk meningkatkan produksi enzim, asam organik dan alkohol (Rasyid, 2005). Dalam proses imobilisasi, sel-sel umumnya tumbuh di permukaan atau terperangkap dalam suatu struktur, karena banyak mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menempel pada berbagai permukaan alami. Mikroorganisme dapat terikat pada berbagai jenis matriks, seperti tertanam dalam bahan berpori, melekat melalui penyerapan atau adhesi, dihambat oleh suatu penerimaan, atau terikat melalui ikatan kovalen atau ionic (Hassanzadeh *et al.*, 2017).

Imobilisasi sel dapat dilakukan pada berbagai mikroorganisme, salah satunya bakteri termofilik. Bakteri termofilik adalah mikroba yang dapat tumbuh pada suhu 45–80°C (Fifendy, M. *et al.*, 2015). Penelitian Irdawati *et al.*, (2018) mendapatkan 16 isolat bakteri termofilik dari Sumber Air Panas Sapan sungai aro di Kabupaten Solok Selatan. Setelah dilakukan identifikasi, isolat tersebut termasuk dalam genus *Bacillus* sp.

Bakteri termofilik memiliki potensi besar dalam menghasilkan enzim yang termostabil atau tahan terhadap suhu tinggi. Mengisolasi enzim dari mikroorganisme termofilik memiliki beberapa keunggulan, diantaranya peningkatan kecepatan reaksi yang menghasilkan penghematan waktu, energi, dan biaya operasional, serta pengurangan risiko kontaminasi (Irdawati *et al.*, 2015). Pemanfaatan mikroba dalam produksi enzim memiliki hubungan erat dengan penggunaannya dalam berbagai aplikasi industri (Irdawati dan Fifendy, 2011). Salah satu enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik adalah enzim xilanase. Aktivitas xilanase meningkat seiring dengan meningkatnya pH. Pada pH yang lebih tinggi aktivitas menurun. pH optimum dibutuhkan oleh enzim untuk mengaktifkan seluruh enzim yang mengikat substrat sehingga dapat diubah menjadi diproduk. Xilanase dari bakteri alkalofilik menunjukkan aktivitas dekat titik pH netral (Irdawati *et al.*, 2021).

Salah satu cara meningkatkan produktivitas enzim oleh bakteri termofilik adalah dengan menggunakan metode imobilisasi. Hal ini sesuai dengan Riyawati *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa metode imobilisasi sel mikroba dapat memudahkan pemurnian produk, memudahkan dalam mengontrol kestabilan sel, serta meningkatkan produktivitas.

Terdapat beberapa teknik imobilisasi seperti *attachment* (penempelan), *containment* (kurungan), *entrapment* (penangkapan), *carrier binding*, *adsorption technique*, *encapsulation*, *cell coating* dan *self aggregation* (Chen *et al.*, 2007). Teknik mobilisasi sel mikroorganisme paling banyak digunakan adalah teknik penjebakan. Pengemban yang sering digunakan sebagai matriks penjebak sel mikroorganisme adalah poliakrilamid, kolagen, gelatin, agar, alginat dan κ - karagenan (El-Katatny, 2010). Menurut Adinarayana *et al.*, (2005) alginat sebagai bahan pengemban seringkali digunakan dalam proses imobilisasi sel.

Alginat merupakan polisakarida yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut coklat seperti Eklonia, Laminaria, Fucus, Aschophyllum, Macrocytis, Sargassum, Turbinaria dan Neroeytis. Secara kimia, alginat merupakan polimer murni dari asam uronat yang tersusun dalam bentuk rantai linear yang panjang. Di 15 perairan Indonesia banyak ditemukan jenis alga coklat yaitu Turbinaria dan Sargassum (Tambunan *et al.*, 2013). Penggunaan alginat dalam imobilisasi sel karena alginat tidak bersifat beracun bagi sel, memiliki tingkat kompatibilitas yang tinggi, mudah diperoleh, serta merupakan teknik yang sederhana dan ekonomis. Konsentrasi alginat berpengaruh pada ketahanan matrik terhadap kebocoran, kemampuan menjaga viabilitas sel (kemampuan sel tetap bertahan hidup) dan kemampuan mempertahankan biomasa sel (Mubarokah, 2018). Ratnasari (2014) menjelaskan bahwa menggunakan natrium alginat sebagai penjerat sel dengan konsentrasi yang berbeda dapat mempengaruhi pH, suhu dan jumlah *bead*.

Penggunaan Na-alginat dengan konsentrasi di bawah 4% memiliki viskositas yang rendah sehingga *beads* yang dihasilkan mudah hancur atau kurang kokoh dan bentuknya kurang seragam. Dengan demikian kemungkinan tidak dapat digunakan untuk mempertahankan viabilitas sel imobil selama penyimpanan. Sedangkan Na-alginat dengan konsentrasi lebih dari 8%, memiliki viskositas yang tinggi sehingga menyebabkan kesulitan dalam pembentukan *beads* (Saputra *et al.*, 2018). Selain itu, alginat dengan viskositas tinggi akan mengalami degradasi lebih cepat dibandingkan yang memiliki viskositas sedang atau rendah. Alginat rentan terhadap panas, oksigen, ion logam, dan faktor-faktor serupa (Kosman, 2011).

Selain ketahanan matrik, konsentrasi alginat juga berpengaruh terhadap karakteristik *beads* yang dihasilkan. Menurut Lotfipour (2012), diameter alginat akan meningkat secara signifikan dengan meningkatnya konsentrasi alginat. Menurut Mubarakah (2018), semakin tinggi konsentrasi alginat warna akan semakin pekat, diameter butiran semakin besar dan bentuk butiran juga semakin kokoh. Saat ini penelitian mengenai karakteristik *beads* alginat masih terbatas. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk membandingkan variasi konsentrasi alginat sebagai bahan imobilisasi bakteri termofilik terhadap karakteristik *beads*.

Bahan dan Metode

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2023 sampai April 2024, di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan digital, *magnetic stirrer*, pipet tetes, *petridish*, *hotplate*, label, jangka sorong dan inkubator *cooling*. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri termofilik SSA4 dan SSAS6, *aquadest*, alkohol 70%, NA Alginat dan CaCl_2 0.2M.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang terbuat dari kaca seperti *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur dan *petri dish*, disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 *Per Square Inchi* (psi) selama 15 menit.

Pembuatan *Beads* Alginat

Disiapkan larutan Na-Alginat dengan berbagai variasi konsentrasi (2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%). Larutan Na-Alginat 2% dibuat dengan mencampurkan 2 gram bubuk Na-Alginat dengan *aquadest* sampai dengan 100 ml. Begitu juga dengan perlakuan konsentrasi lainnya. Setelah itu larutan Na-Alginat berbagai variasi konsentrasi disterilisasi pada *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dicampurkan dengan kultur campuran bakteri termofilik imobil isolat SSA4 dan SSAS6 dengan konsentrasi 6%. Selanjutnya campuran Na-Alginat dan kultur campuran bakteri termofilik imobil isolat SSA4 dan SSAS6 dituang ke dalam *petridish* lalu diambil dengan menggunakan pipet tetes dan diteteskan perlahan ke dalam wadah yang berisi CaCl_2 0,2 M sehingga terbentuk *beads* (butiran) alginat. Butiran alginat disimpan pada suhu 4°C selama 1 jam kemudian dicuci dengan *aquadest* steril sebanyak 3 kali.

Pengamatan Karakteristik *Beads*

Karakteristik *beads* ditentukan berdasarkan bentuk, warna dan diameter yang dihasilkan dari tiap perlakuan. Diameter *beads* diukur menggunakan jangka sorong pada 10 perwakilan *beads* yang dihasilkan tiap konsentrasi. Pada penelitian ini, pengamatan bentuk dan warna *beads* dilakukan secara visual.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

Hasil dan Pembahasan

Hasil dari penelitian variasi konsentrasi alginat sebagai bahan imobilisasi bakteri termofilik terhadap karakteristik *beads* didapatkan data seperti Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik *beads* pada variasi konsentrasi alginat

No	Perlakuan	Rata-rata Diameter <i>Beads</i> (mm)	Bentuk	Warna
1.	Alginat 2%	2,9	irregular	Kuning bening
2.	Alginat 3%	3,2	Cenderung bulat	Kuning bening
3.	Alginat	4,1	Cenderung bulat	kuning

	4%			
4.	Alginat	4,6	Cenderung bulat	kuning
	5%			
5.	Alginat 6%	6	bulat	Kuning pekat

Tabel 1. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi alginat yang digunakan, semakin besar diameter *beads* yang dihasilkan. Menurut Miskiyah (2020)., hal ini disebabkan oleh peningkatan konsentrasi alginat dapat meningkatkan interaksi anion karboksilat alginat dengan kation Ca^{2+} dari $CaCl_2$, sehingga matriks dan diameter *beads* yang terbentuk lebih besar. Konsentrasi yang lebih tinggi mengakibatkan polimer alginat memiliki kemungkinan interaksi yang lebih kuat dan membentuk jaringan yang lebih padat. Oleh karena itu, *beads* yang dihasilkan cenderung memiliki diameter yang lebih besar.



Gambar 1. *Beads* alginat pada variasi konsentrasi

Selain ukuran, konsentrasi alginat juga mempengaruhi bentuk dan warna *beads*. Pada penelitian ini didapatkan hasil bentuk *beads* alginat 2% yaitu irregular atau tak beraturan. Sedangkan pada *beads* alginat konsentrasi lainnya memiliki bentuk yang cenderung bulat. Hal ini karena alginat dengan konsentrasi rendah dapat menghasilkan *beads* yang lebih cair dan kurang stabil secara struktural, sehingga *beads* yang terbentuk tidak teratur. Sedangkan alginat dengan konsentrasi yang tinggi dapat menghasilkan *beads* dengan bentuk yang lebih kaku dan terdefinisi dengan baik. Proses pembentukan gel menyebabkan larutan alginat mengalami peningkatan viskositas dan pembekuan menjadi bentuk bulat saat bertemu dengan larutan kalsium. Sejalan dengan penelitian Dewi (2005), yang menunjukkan bahwa alginat dengan konsentrasi di bawah 4% memiliki viskositas yang rendah sehingga *beads* yang dihasilkan mudah hancur atau kurang kokoh dan bentuknya kurang seragam. Menurut Lotfipour (2012), sifat imobilisasi alginat bergantung pada komposisi asam mannuronic (blok M) dan asam gulurinic (blok G) yang ada pada alginat itu sendiri, bahwa semakin banyak blok G pada bahan baku maka bentuk struktur imobilisasi akan semakin kuat, sebaliknya jika semakin banyak blok M maka sifat imobilisasi akan semakin elastis.

Pada hasil penelitian juga didapatkan perbedaan warna pada *beads* yang dihasilkan, seiring dengan peningkatan konsentrasi alginat, terlihat semakin pekat warna *beads* yang dihasilkan. Konsentrasi alginat yang lebih tinggi cenderung menghasilkan jaringan gel yang lebih padat dan teratur dalam *beads*. Hal ini dapat mengurangi pergerakan dan dispersi pigmen atau zat warna yang mungkin ada dalam larutan. Sehingga pigmen atau zat warna lebih cenderung terkonsentrasi di dalam jaringan gel alginat, yang menghasilkan warna yang lebih pekat. *Beads* yang dihasilkan dari larutan alginat yang lebih kental mungkin memiliki kemampuan pemantulan yang lebih baik, yang dapat meningkatkan intensitas warna secara keseluruhan. Ketika cahaya memantul dari permukaan *beads*, struktur yang lebih padat dan homogen dapat menghasilkan pantulan yang lebih kuat dan warna yang lebih pekat. Konsentrasi alginat yang berbeda dapat memengaruhi kemampuan larutan untuk mengikat atau menahan pigmen atau zat warna lainnya. Selain itu, konsentrasi alginat juga dapat mempengaruhi tingkat transparansi atau opasitas *beads* yang dihasilkan (Novianti *et al.*, 2021).

Dalam proses imobilisasi sel mikroba, sel-sel umumnya tumbuh di permukaan atau terperangkap dalam suatu struktur, karena banyak mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menempel pada

berbagai permukaan alami. Mikroorganisme dapat terikat pada berbagai jenis matriks, seperti tertanam dalam bahan berpori, melekat melalui penyerapan atau adhesi, dihambat oleh suatu penerimaan, atau terikat melalui ikatan kovalen atau ionic (Hassanzadeh *et al.*, 2017). Jika dibandingkan dengan sel bebas, sel imobil memiliki kelebihan yaitu dapat digunakan berulang kali.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian, didapatkan bahwa konsentrasi alginat mempengaruhi sifat fisik dan kimia *beads* yang dihasilkan. Alginat adalah polisakarida yang dapat membentuk gel ketika direaksikan dengan kalsium. Semakin tinggi konsentrasi alginat maka diameter *beads* akan semakin besar, warna *beads* akan semakin pekat dan bentuk *beads* cenderung bulat, begitupun sebaliknya.

Daftar Pustaka

- Adinarayana, K., Jyothi, B., Dan Ellaiah, P. 2005. Production Of Alkaline Protease With Immobilized Cells Of Bacillus Subtilis PE-11 In Various Matrices By Entrapment Technique. *AAPS Pharmscitech*, 6, E391-E397.
- Chen, J. P., Dan Lin, Y. S. 2007. Decolorization Of Azo Dye By Immobilized Pseudomonas Luteola Entrapped In Alginate-Silicate Sol-Gel Beads. *Process Biochemistry*, 42(6), 934-942.
- El-Katatny, M. H. 2010. Enzyme production and nitrogen fixation by free, immobilized and coimmobilized inoculants of Trichoderma harzianum and Azospirillum brasilense and their possible role in growth promotion of tomato. *Food Technology and Biotechnology*, 48(2), 161-174.
- Fifendy, M., Irdawati, I., & Yenti, N. (2015). Penapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari sumber air panas sapan sungai aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 1, 73-81.
- Hassanzadeh, A.M., Khiabani, M.S., Sadrnia, M., Divband, B., Rahmanpour, O., Jabbari, V., Gholizadeh, P., Dan Kafil, H.S. 2017. Immobilization And Microencapsulation Of Lactobacillus Caseii And Lactobacillus Plantarum Using Zeolite Base And Evaluating Their Viability In Gastroesophageal-Intes-Tine Simulated. *Ars Pharm*, 58 (4): 163-170.
- Irdawati, Arini, N., Putri, R. M. E., Fadila, S. N., Dan Namidya, S. K. 2021. Tinjauan Literatur: Imobilisasi Sel Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xylanase. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 2, Pp. 1217-1225).
- Irdawati, I., Dan Fifendy, M. 2011. *Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Amilase Dari Sumber Air Panas Rimbo Panti*, Pasaman.
- Irdawati, Mades Fifendy, Nofri Yenti. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 1, 73-81.
- Irdawati, I., Syamsuardi, S., Agustien, A., Dan Rilda, Y. 2018. Screening Of Thermophilic Bacteria Produce Xylanase From Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. In *IOP Conference Series: Materials Science And Engineering*. Vol. 335(1), P. 012021. IOP Publishing.
- Kosman, R. 2011. Pemurnian Natrium Alginat Dari Sargassum Duplicatum JG Agardh, Turbinaria Decurrens (Bory) Dan Turbinaria Ornata (Turner) J. Argardh Asal Perairan Ternate, Maluku Utara. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 15(1), 30-34.
- Lotfipour, Farzaneh. Mirzaeei, S And Maghsoodi, M. 2012. Evaluation Of The Effect Of CaCl2 And Alginate Concentrations And Hardening Time On The Characteristics Of Lactobacillus Acidophilus Loaded Alginate Beads Using Response Surface Analysis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2 :71-78.
- Mubarokah, I. 2018. Pengaruh Konsentrasi Alginat Terhadap Karakteristik Sel Pseudomonas Fluorescens Terimobilisasi Untuk Produksi Biodiesel. *Disertasi*. Universitas Brawijaya).

- Novianti, A. K., Nugrahani, P., & Moeljani, I. R. (2021, May). Pengaruh Konsentrasi Alginat Terhadap Viabilitas Tss (True Shallot Seed) Enkapsulasi Secara In Vitro. *In Seminar Nasional Agroteknologi UPN "Veteran" Jawa Timur* (pp. 109-115).
- Rasyid, A. 2005. *Beberapa Catatan Tentang Alginat*. Oseana, 30(1), 9-14.
- Ratnasari, N., Netty, K dan Indah K. 2014. Pengaruh Konsentrasi Natrium Alginat Sebagai Penjerat Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Dan Lama Penyimpanan Terhadap Jumlah Sel Yang Terlepas dan Karakter Carrier. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*. 13(2): 81-86.
- Riwayati, I., Indah H dan Laeli, K. 2012. Teknologi Imobilisasi Sel Mikroorganisme Pada Produksi Enzim Lipase. *Prosiding SNST*. Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Saputra, I. M. Y., Antara, N. S., Dan Gunam, I. B. W. 2018. Pengaruh Konsentrasi Na-Alginat Dan Ukuran *Beads* Terhadap Stabilitas *Beads* Dan Aktivitas Sel *Agrobacterium tumefaciens* Lsu20 Immobil Dalam Biodesulfurisasi Dibenzothiofena. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* I ISSN, 6(2), 169-177.
- Sutrisno, Anna, R. Sasangka, P, dan Intan. P. S. 2017. Penentuan Kondisi Optimum Imobilisasi Xilanase dari *Trichoderma viride* Pada Matrik Zeolit Teraktivasi Asam. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 2(2): 97-92. ISSN 2503-4146.
- Tambunan, A., P., M., Rudyansyah, Harlia. 2013. Pengaruh Konsentrasi Na₂CO₃ Terhadap Rendamen Natrium Alginat Dari *Sargassum cristaefolium* Asal Perairan Lemukutan. *Jkk*. 2(2): 112 - 117.