

Perilaku Kultivasi Isolat Bakteri Termofil Penghasil α -Amilase (Cultivation of Thermophilic Bacteria Isolate of α -Amylase Production)

NUR RICHANA*, GAGAN MAULANA YUSUF, PUJI LESTARI & DJOKO SAID DAMARDJATI

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Jalan Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111

Cultivation of thermophilic bacteria isolate TVII-6 for α -amylase production. Thermophilic bacteria TVII-6 was isolated and selected from the soil sample taken from Dieng volcanic. The specific activity of amylase produced by TVII-6 was 1624.37 U/mg protein. Cassava starch was used as carbon source on enrichment culture and the optimum concentration was 1% with specific activity 2092.23 U/mg protein. Cultivation in a 2-l bioreactor at pH 7.0 and temperature of 50°C, combine with 250 rpm agitation and 1.0 vvm aeration produced the highest α -amylase. The maximum specific growth rate obtained was 0.147/hours. The relationship between product and substrate was linear ($Y=0.129 X + 0.024$). Efficiency of the substrate to produce amylase (Y_{ps}) was 0.129 g protein/g substrate. Relationship between the bacterial growth and substrate was $Y = 0.315 X + 0.013$. Efficiency of the substrate for growing the bacteria (Y_{xs}) was 0.315 g cell/g substrate. Based on the bacterial growth and amylase production, amylase could be considered growth associated, with kinetic parameter of product rate (p) was 0.37g/hr.

Key words: thermophilic bacteria, α -amylase

Indonesia yang kaya akan sumber daya alam hayati banyak menghasilkan bahan-bahan berpati seperti ubi kayu dan sagu. Produksi ubi kayu pada tahun 1998 di Indonesia mencapai 14.7 juta ton (BPS 1998). Tanpa pengolahan lebih lanjut, produk yang melimpah akan memiliki nilai ekonomi yang rendah. Penerapan dan pengembangan proses secara enzimatik pada bahan tersebut dimaksudkan untuk meningkatkan nilai tambah.

Mikroorganisme dalam bioproses berperan untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu melalui kerja enzim. Enzim merupakan katalis biologi yang digunakan oleh makhluk hidup untuk melaksanakan berbagai konversi kimia. Enzim banyak dimanfaatkan dalam dunia industri secara luas, baik industri tekstil, pangan, maupun farmasi. Pada tahun 1996 Indonesia mengimpor enzim sebanyak 2 490 396 kg dengan nilai 12 181 608 US \$ (BPS 1997).

Salah satu jenis enzim yang saat ini sering digunakan ialah amilase. Pada tahun 1994 Indonesia mengimpor amilase sebanyak 14 823 kg (BPS 1995). Amilase dapat digunakan untuk mengkonversi bahan-bahan berpati menjadi monomer yang lebih sederhana dalam bentuk glukosa, dekstrosa, fruktosa, atau maltosa. Penggunaan enzim amilase ini sangat besar dalam industri pangan, farmasi, dan tekstil; namun enzim tersebut masih diimpor. Untuk memproduksi enzim sendiri masih dihadapkan beberapa kendala, yaitu kurangnya kajian teknologi produksi enzim serta tidak tersedianya galur mikrob unggul penghasil amilase, padahal Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya dengan sumber biodiversitas mikrob.

Oleh karena itu, penelitian tentang produksi enzim yang nantinya mengarah pada skala komersial perlu dilakukan.

Isolasi 56 isolat bakteri mesofil dan 37 isolat bakteri termofil dari Taman Nasional Ujung Kulon, Kawah Dieng, dan Tangkuban Perahu (*exotic soil*) telah dilakukan. Beberapa bakteri unggul telah dikaji suhu dan pH optimumnya (Pujoyuwono *et al.* 1997; Lestari *et al.* 1998, dan Richana 1998) dan studi pemantapan teknologi produksi amilase yang meliputi kondisi kultivasi (agitasi, aerasi, dan lama kultivasi) juga telah dilakukan.

Kinetika kultivasi dikaji berdasarkan tiga hal utama, yaitu laju pembentukan biomassa (dX/dt), laju penggunaan substrat (dS/dt), dan laju pembentukan produk (dP/dt). Hasil yang didapatkan sangat bermanfaat untuk tujuan optimasi, penentuan strategi penambahan substrat yang optimum dan kajian model dalam industri fermentasi (Judoamidjojo *et al.* 1990, Scragg 1991).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui produksi amilase dengan menggunakan beberapa konsentrasi pati ubi kayu, kondisi kultivasi (agitasi, aerasi, dan lama kultivasi) yang optimum dalam memproduksi amilase dengan menggunakan bakteri termofil indigenos TVII-6, serta untuk mendapatkan parameter kinetika kultivasi sebagai dasar untuk menentukan strategi penambahan substrat yang optimum.

BAHAN DAN METODE

Optimasi Substrat, Kecepatan Agitasi, dan Laju Aerasi. Isolat bakteri penghasil amilase unggul, hasil isolasi dan seleksi Balitbio yaitu isolat bakteri termofil TVII-6 (Damardjati *et al.* 1997) digunakan untuk produksi enzim amilase. Produksi amilase dilakukan pada media cair

* Penulis untuk korespondensi, Tel. 62-251-337975,
Faks. 62-251-338820

dengan komposisi terdiri atas ekstrak khamir 1 g/l, bacto tripton 1 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g/l, MgCl_2 0.1 g/l, CaCl_2 0.2 g/l, KH_2PO_4 0.2 g/l, NaCl 0.2 g/l, K_2HPO_4 0.4 g/l, dan sebagai sumber karbon adalah pati ubi kayu sebanyak 10 g/l. Media diatur pada pH 7.0. Penentuan konsentrasi pati terbaik dilakukan menggunakan labu erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 100 ml. Ulangan dilakukan sebanyak dua kali. Beberapa perlakuan penambahan pati yaitu 1, 2, 3, dan 4%. Penentuan media kultivasi terbaik didasarkan atas hasil analisis yang multi analisis terhadap kandungan protein terlarut, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik, kemudian kultivasi dilakukan dalam bioreaktor-2l. Propagasi dilakukan sebanyak 10% dari volume media dalam bioreaktor dengan komposisi media keduanya sama. Media propagasi dibuat sebanyak 100 ml pada erlemeyer 250 ml. Biakan bakteri TVII-6 diinokulasikan sebanyak dua ose, kemudian diinkubasi pada inkubator goyang dengan suhu 50°C dan kecepatan 175 rpm selama 24 jam, dan diinokulasikan secara aseptik ke dalam media steril bioreaktor.

Produksi enzim amilase dalam bioreaktor Biostat-2l untuk media sebanyak satu liter dilakukan pada kondisi optimum, pH 7.0, dan suhu 50°C selama 48 jam. Pada penelitian tahap ini kecepatan agitasi divariasi pada 150, 200, dan 250 rpm. Laju aerasi divariasi pada 0.4 dan 1.0 vvm (volume udara per volume media per menit). Proses dijalankan secara terkendali dengan penambahan NaOH maupun HCl untuk mengatur pH dan *silicone antifoaming agent* sebagai antibuih yang penambahannya dilakukan secara otomatis. Pemanenan hasil kultivasi dilakukan pada jam ke-0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 36, 40, 44, dan 48. Hasil panen disentrifus (kecepatan 4000 rpm) untuk memisahkan massa sel dengan supernatan yang akan dianalisis. Pengamatan meliputi massa sel, aktivitas enzim, dan kandungan protein terlarut. Aktivitas enzim diukur dengan cara Bernfeld (1955). Dan kadar protein diukur dengan metode Lowry *et al.* (1951) dengan standar bovin serum albumin (BSA) konsentrasi 100-800 ppm. Hasil reaksi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Kombinasi laju aerasi dan kecepatan agitasi digunakan dalam perhitungan parameter kinetika.

Kinetika Kultivasi dalam Bioreaktor Biostat-B. Kultivasi dan prosedur dilakukan pada suhu dan pH optimum dengan kecepatan agitasi dan laju aerasi terbaik dari percobaan terdahulu. Contoh diambil setiap dua jam sekali dari jam ke-0 sampai jam ke-48. Analisis hasil panen ditambah dengan analisis kadar pati sisa.

Pada tahap ini akan dikembangkan model matematika untuk menjelaskan dinamika sistem yang meliputi perubahan sel, substrat, dan produk selama kultivasi. Model yang digunakan adalah model yang dikembangkan oleh Monod (1949). Kerangka model matematika sebagai berikut:

$$dX/dt = \mu X \text{ (untuk biomassa)}$$

$$\mu = \mu_{\text{maks}} S / (K_s + S) \text{ atau } 1/\mu = (K_s/\mu_{\text{maks}})(1/S) = 1/\mu_{\text{maks}}$$

$$dS/dt = Y_{p/s} dS/dt \text{ (untuk substrat), } dP/dt = Y_{p/x} dX/dt \text{ (untuk protein), } p = p_{\text{maks}} S / (p_s + S) \text{ dengan X: konsentrasi sel (g/l), S: konsentrasi substrat (g/l), P: konsentrasi produk (g/l), t: waktu fermentasi (jam), } \mu: \text{ laju pertumbuhan spesifik (1/jam), } \mu_{\text{maks}}: \text{ laju pertumbuhan spesifik maksimum (1/jam), } k_s: \text{ konstanta (g/L), } p: \text{ laju produksi protein yaitu tetapan pembentukan produk (g protein / g sel jam), } Y_{p/s}: \text{ efisiensi penggunaan substrat untuk membentuk produk, } Y_{x/s}: \text{ efisiensi penggunaan substrat untuk produksi sel, } Y_{p/x}: \text{ efisiensi pembentukan produk oleh biomassa.}$$

Parameter kinetik yang meliputi μ_{maks} , $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$, $Y_{p/x}$, p ditentukan dari data percobaan menggunakan teknik regresi nonlinear.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Konsentrasi Substrat Pati Ubi Kayu. Hasil analisis optimasi konsentrasi substrat pati (1, 2, 3, 4%) menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel 1). Konsentrasi pati lebih tinggi tidak digunakan karena konsentrasi sumber karbon mempunyai batas maksimum, dan jika terlampaui maka laju pertumbuhan akan terhambat. Menurut Judoamidjojo *et al.* (1992) penghambatan akan dimulai pada konsentrasi 5% dengan karbohidrat sebagai sumber karbon.

Tabel 1. Pengamatan hasil kultivasi TII-6 dalam media dengan berbagai tingkat konsentrasi pati

Analisis hasil	Pati 1%	Pati 2%	Pati 3%	Pati 4%
Bobot sel kering (g/l)	0.360	4.498	0.678	0.719
Protein terlarut (mg/ml)	0.206	0.23	0.276	0.291
Aktivitas enzim (U/ml)	431	427.25	434.7	430.25
Aktivitas spesifik (U/mg)	2092.23	1857.61	1575	1478.52

Peningkatan biomassa berbanding lurus dengan ditingkatkannya konsentrasi pati dalam media. Hal ini diduga oleh adanya endapan pati yang belum terombak oleh mikrob ikut terukur dalam pengamatan bobot sel kering.

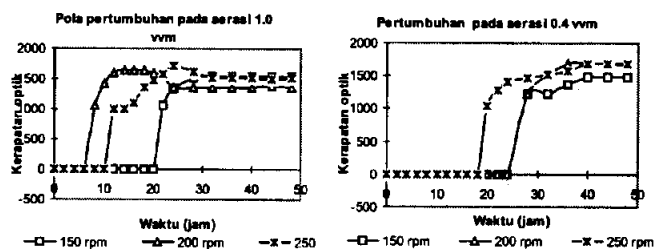
Hal yang sama juga terjadi pada pembentukan protein terlarut dalam media dengan kadar pati 1% (terendah), sedangkan media dengan konsentrasi pati 4% menghasilkan protein terlarut paling tinggi. Meningkatnya konsentrasi pati tidak meningkatkan aktivitas enzim.

Berdasarkan hasil pengamatan protein dan aktivitas enzim ternyata aktivitas spesifik enzim menurun dengan meningkatnya konsentrasi pati. Untuk penelitian berikutnya dipilih media yang menghasilkan aktivitas spesifik tertinggi yaitu media dengan konsentrasi pati 1%. Hasil ini memberikan kesimpulan sama dengan hasil kultivasi sistem curah produksi α -amilase menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* (Yoo *et al.* 1988).

Optimasi Aerasi dan Agitasi. Dalam media kultivasi dengan agitasi 150 rpm dan aerasi 0.4 vvm, fase lag berlangsung relatif lebih lama dibandingkan media kultivasi

lainnya. Fase ini berlangsung pada rentang waktu 0-22 jam. Pada fase ini pertumbuhan berlangsung lambat, semua aktivitas metabolik dan fisiologi untuk mempersiapkan pembelahan sel. Lama fase adaptasi sulit ditentukan dengan tepat karena tidak hanya bergantung pada jumlah sel yang diinokulasikan, tetapi dipengaruhi juga oleh karakter metaboliknya, seperti umur dan keadaan fisiologinya, serta media kultivasi yang dibutuhkan (Scragg 1991).

Pada media kultivasi dengan kecepatan agitasi yang sama (150 rpm), tetapi laju aerasinya ditingkatkan menjadi 1.0 vvm, terlihat adanya perubahan. Pertumbuhan sel terlihat lebih cepat yang ditandai dengan pendeknya fase adaptasi (lag). Fase lag hanya berlangsung dalam rentang waktu 0-18 jam. Artinya, fase eksponensial mulai dicapai setelah jam ke-18. Hal ini membuktikan bahwa dengan menambahkan laju aerasi maka pertumbuhan sel semakin cepat karena ketersediaan O₂ dalam media kultivasi tercukupi sehingga metabolisme sel berlangsung sempurna. Mikrob dengan perlakuan aerasi dan agitasi paling tinggi, 1.0 vvm dan 250 rpm, menunjukkan perubahan yang sangat cepat yaitu fase adaptasi dicapai hanya empat jam. Fase eksponensial dicapai pada jam ke-12 sampai jam ke-22. Hal ini mendekati penelitian Park *et al.* (1995) yang menggunakan isolat *Bacillus brevis* hasil rekombinan yaitu fase eksponensial dicapai pada kultivasi jam ke-10. Namun bila dibandingkan hasil penelitian Kobayashi *et al.* (1992) maksimum pertumbuhan sel *Netronococcus* untuk produksi α -amilase dicapai pada kultivasi jam ke-70.



Gambar 1. Pola pertumbuhan mikrob pada aerasi 0.4 vvm dan 1 vvm dengan kombinasi kecepatan agitasi.

Hasil perhitungan pertumbuhan laju spesifik (μ) dengan perlakuan agitasi dan aerasi yang berbeda dapat dilihat dalam Tabel 2. Meningkatnya laju aerasi dan kecepatan agitasi dapat meningkatkan laju pertumbuhan sel mikrob. Hal ini sesuai dengan pernyataan Judoamidjojo *et al.* (1992) bahwa suatu penurunan oksigen terlarut menyebabkan penurunan dalam laju pertumbuhan spesifik.

Pengamatan terhadap kandungan protein terlarut pada tingkat aerasi dan agitasi yang berbeda memberikan hasil

Tabel 2. Nilai konstanta laju pertumbuhan spesifik, μ (g/l), pada perlakuan aerasi dan agitasi berbeda

0.4 vvm			1.0 vvm		
150 rpm	250 rpm		150 rpm	200 rpm	250 rpm
$\mu=0.068$	$\mu=0.080$	$\mu=0.106$	$\mu=0.120$	$\mu=0.127$	$\mu=0.147$

bahwa keenam media kultivasi dengan perlakuan berbeda mempunyai pola pembentukan protein yang hampir sama. Pada awal fermentasi terlihat kandungan awal protein pada semua media mengalami penurunan akibat dikonsumsi oleh mikrob untuk melangsungkan kehidupannya.

Kandungan protein terlarut tertinggi diperoleh dari media kultivasi dengan kondisi agitasi 250 rpm dan aerasi 1.0 vvm, yaitu sebesar 0.399 mg/ml; sedangkan yang terendah diperoleh dari media kultivasi beragitasi 150 rpm dan aerasi 0.4 vvm, yaitu sebesar 0.212 mg/ml (Tabel 3). Hal ini menyatakan bahwa selisih antara titik puncak tertinggi dengan titik yang paling bawah yang merupakan awal pembentukan protein yang diasumsikan sebagai awal pensекреasian enzim amilase.

Tabel 3. Data hasil pengujian kadar protein terlarut (g/l) pada penelitian optimasi agitasi dan aerasi

Waktu (Jam)	1 vvm			0.4 vvm		
	150 rpm	200 rpm	250 rpm	150 rpm	200 rpm	250 rpm
0	0.489	0.436	0.351	0.447	0.375	0.385
2	0.488	0.452	0.266	0.439	0.337	0.383
4	0.466	0.46	0.19	0.41	0.335	0.303
6	0.447	0.425	0.216	0.381	0.242	0.251
8	0.435	0.425	0.262	0.351	0.196	0.233
10	0.424	0.414	0.279	0.241	0.21	0.23
12	0.389	0.428	0.316	0.201	0.252	0.21
14	0.285	0.444	0.336	0.177	0.125	0.205
16	0.297	0.456	0.372	0.156	0.126	0.201
18	0.251	0.49	0.413	0.122	0.139	0.181
20	0.231	0.536	0.477	0.121	0.12	0.196
22	0.174	0.536	0.521	0.106	0.116	0.208
24	0.143	0.536	0.59	0.119	0.082	0.38
28	0.158	0.533	0.556	0.176	0.13	0.553
32	0.135	0.533	0.554	0.331	0.289	0.555
36	0.139	0.517	0.553	0.341	0.292	0.557
40	0.255	0.513	0.555	0.361	0.41	0.443
44	0.312	0.533	0.551	0.372	0.464	0.524
48	0.389	0.54	0.556	0.381	0.467	0.528

Pada media kultivasi beragitasi 250 rpm dan aerasi 1.0 vvm, pensекреasian enzim dimulai setelah jam ke-4 yang merupakan awal dari fase eksponensial tersebut. Selanjutnya pada jam ke-28 dan seterusnya terjadi penurunan yang berfluktuasi. Hal tersebut diduga akibat adanya senyawa lain yang dihasilkan oleh mikrob yang dapat menghambat sintesis enzim amilase.

Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit/ml didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang dapat menghasilkan sejumlah μ mol gula pereduksi per menit pada kondisi reaksi 50°C dan pH 7.0 (Bernfeld 1955). Aktivitas enzim tertinggi diperoleh dari media kultivasi beragitasi 250 rpm dan beraerasi 1.0 vvm, yaitu sebesar 631.1 U/ml yang dicapai pada jam ke-28 (Tabel 4.). Pada awal kultivasi (fase lag)

tidak terlihat adanya peningkatan aktivitas enzim yang begitu nyata. Aktivitas amilase meningkat secara bertahap. Peningkatan aktivitas dimulai pada jam ke-4 dan jam ke-16, pada saat itu diduga persediaan komponen utama sumber N mulai menipis, sedangkan jumlah sel bertambah banyak. Untuk mempertahankan aktivitas hidupnya, sel mulai memecah pati (dengan bantuan enzim amilase yang disekresikannya) menjadi komponen yang lebih sederhana sebagai sumber karbon.

Tabel 4. Data hasil pengujian aktivitas amilase (U/ml) pada penelitian optimasi agitasi dan aerasi (g/l)

Waktu (Jam)	1 vvm			0.4 vvm		
	150 rpm	200 rpm	250 rpm	150 rpm	200 rpm	250 rpm
0	12.58	31.27	22.02	5.92	102	170.4
2	12.58	0	18.32	9.62	131	140.8
4	12.58	34.97	20.17	7.77	155	175.95
6	7.03	36.82	0	7.77	388	192.61
8	14.43	35.15	34.97	11.47	507	244.41
10	5.18	46.07	31.27	0.37	511	262.91
12	12.58	44.22	38.67	15.17	542	270.32
14	12.58	44.22	44.22	7.77	549	266.61
16	12.58	47.92	53.47	9.62	568	286.97
18	14.43	55.32	51.62	11.47	583	344.32
20	18.13	57.17	92.33	18.87	594	383.18
22	47.74	57.17	164.48	57.73	523	525.64
24	142.1	114.53	238.49	135.44	411	618.15
28	175.4	164.48	301.4	170.59	412	631.11
32	214.25	240.34	379.11	209.44	366	631.11
36	217.95	281.05	423.51	148.39	279	616.3
40	175.4	284.75	405.01	174.29	372	592.25
44	210.55	292.15	430.91	211.29	326	573.75
48	195.75	282.9	386.51	211.29	344	577.45

Peningkatan aktivitas mencapai puncaknya pada jam ke-28 dan setelah itu aktivitas enzim mengalami penurunan. Pada saat yang sama terjadi pula penurunan kecepatan pertumbuhan sel dan pembentukan protein. Selanjutnya aktivitas mengalami penurunan yang berfluktuasi sampai akhir fermentasi, yaitu jam ke-48. Penurunan aktivitas ini disebabkan selama fermentasi berlangsung, komposisi kimia cairan kultivasi mengalami perubahan karena nutrisi terus-menerus dikonsumsi (Said 1987). Akibatnya kondisi lingkungan tidak stabil sehingga pertumbuhan mulai menurun. Penurunan pertumbuhan ini diduga berakibat terhadap penurunan kuantitas enzim yang disekresikan dan akhirnya berpengaruh juga terhadap penurunan aktivitas secara keseluruhan.

Aktivitas enzim paling rendah diperoleh dari media kultivasi beragitasi 150 rpm dan aerasi 0.4 vvm, yaitu sebesar 218 U/ml yang diperoleh pada jam ke-36 waktu inkubasi. Rendahnya aktivitas ini diduga karena pengaruh pasokan atau transfer oksigen ke dalam cairan kultivasi dan

kontak antara substrat dengan mikroba yang minimum. Sedikitnya jumlah oksigen yang terlarut dalam cairan kultivasi diduga berhubungan erat dengan rendahnya agitasi dan aerasi yang digunakan sehingga kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi terhambat. Dengan terhambatnya perkembangan sel (baik massa maupun jumlah) tersebut menyebabkan jumlah enzim yang disekresikan sedikit. Sebagai konsekuensi dari hal tersebut, aktivitas enzim menjadi rendah. Dalam hal ini aktivitas enzim dianggap setara dengan jumlah amilase yang dihasilkan.

Pembentukan amilase selama kultivasi menunjukkan pola pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan sel mikroba TVII-6. Karena amilase terbentuk pada awal metabolisme sel maka produk yang terbentuk merupakan metabolit primer sebagai hasil langsung dari jalur metabolisme katalitik sel. Sintesis metabolit primer dimulai saat menipisnya beberapa zat gizi dalam media pertumbuhannya (misalnya menurunnya ketersediaan zat gizi esensial sumber N).

Pengamatan terhadap proses kultivasi dalam bioreaktor memberikan hasil bahwa kombinasi aerasi dan agitasi yang sesuai dapat mengoptimalkan proses produksi enzim. Dalam penelitian ini kombinasi aerasi 1.0 vvm dengan agitasi 250 rpm merupakan kombinasi yang dapat mengoptimalkan proses metabolisme mikroba dan akan digunakan untuk perhitungan penentuan parameter kinetika selanjutnya.

Penentuan Parameter Kinetika Kultivasi. Kinetika kultivasi berdasarkan laju pembentukan biomassa (dx/dt), laju pembentukan produk (dp/dt), dan laju penggunaan substrat (ds/dt). Parameter-parameter yang dihitung dalam kajian kinetika adalah laju pertumbuhan spesifik ($\mu = \text{jam}^{-1}$), dan tetapan pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan (α).

Dari perhitungan parameter kinetika untuk media kultivasi dengan aerasi 1.0 vvm dan agitasi 250 rpm diperoleh nilai μ sebesar 0.147 jam^{-1} . Grafik perhitungan konversi pertumbuhan produk berdasarkan penggunaan substrat merupakan garis linear dengan persamaan $Y = 0.129x + 0.024$ ($R^2 = 0.9759$). Nilai $Y_{p/s}$ merupakan koefisien hasil yang menggambarkan efisiensi konversi nutrisi menjadi produk (enzim). Dari hasil pengukuran, diperoleh nilai $Y_{p/s}$ sebesar 0.129 (g/g) .

Jumlah produk (enzim) yang dihasilkan per jumlah sel yang tumbuh melalui persamaan $Y = 0.37x + 0.043$ ($R^2 = 0.8875$) diperoleh nilai $Y_{p/x}$ sebesar 0.37 (g/g) . Sedangkan nilai $Y_{x/s}$ yang merupakan efisiensi konversi nutrisi dalam substrat menjadi biomassa ialah sebesar 0.315 (g/g) dengan persamaan $Y = 0.315x - 0.013$ ($R^2 = 0.89$).

Berdasarkan pola pembentukannya, enzim amilase merupakan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan sel atau pembentukan produknya terjadi pada saat fase pertumbuhan. Oleh karena itu, nilai p dapat disetarakan dengan nilai konversi pembentukan berdasarkan pertumbuhan biomassa ($Y_{p/x}$) yaitu 0.37 .

Parameter kinetik dari percobaan ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai parameter kinetika kultivasi dalam bioreaktor dua liter dengan laju aerasi 1.0 vvm dan kecepatan agitasi 250 rpm

Parameter kinetika	Nilai parameter kinetika
μ	0.147/jam
μ_{maks}	0.147/jam
X_{maks}	1.230 (g/l)
Yp/s	0.129 (g/g)
Yp/x	0.370 (g/g)
Yp/s	0.315 (g/g)
P	0.370

DAFTAR PUSTAKA

- Bernfeld, P. 1955. Amylases α - and β , hlm. 149-155. Di dalam: S. P. Colowick & N.O. Kaplan (ed.), *Methods in Enzymology and Related of Biochemistry*. New York: Acad. Press.
- Biro Pusat Statistik. 1995. *Statistika Industri Besar dan Sedang Indonesia*. Statistical Year Book of Indonesia, Jakarta.
- Biro Pusat Statistik. 1997. *Statistik Indonesia*. Statistical Year Book of Indonesia, Jakarta.
- Biro Pusat Statistik. 1998. *Statistik Indonesia*. Statistical Year Book of Indonesia, Jakarta.
- Damardjati, D.S., U. Murdiyatmo, N. Richana, Pujoyuwono, N. Azizah, D. Andriani, P. Lestina & D. Kusdiningsih. 1997. Kloning gen-gen amilase dari isolat bakteri indigenous untuk proses biokonversi bahan berpati. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Judoamidjojo, R.M., A.A. Darwis & E.G. Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press, Jakarta.
- Judoamidjojo, R.M., A.A. Darwis & E.G. Sa'id. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press, Jakarta.
- Lestari, P., N. Richana, U. Murdiyatmo & D.S. Damardjati. 1998. Karakterisasi α -amilase dari Isolat Bakteri Termofilik TII-12. Prosiding PIT-PERMI, Lampung.
- Kobayashi T, H. Kanai, T. Hayashi, T. Akiba, R. Akaboshi & K. Horikoshi. 1992. Haloalkaliphilic maltotriose forming α -amilase from the archaeobacterium *Natronococcus* sp. strain Ah-36. *J. Bacteriol.* 174:3439-3444.
- Lowry, O.H., N.P.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biochem.* 193:265-275.
- Monod, J. 1949. The Growth of Bacterial Cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* 3:371-374.
- Park Y.S., T. Dohjima & M. Okabe. 1995. Enhanced α -amilase production in recombinant *Bacillus brevis* by Fed-batch culture with amino acid control. *J. Biotechnol Bioengin.* 49: 36-44.
- Pujoyuwono, M., D. Trinovia, N. Richana, D.S. Damardjati & U. Murdiyatmo. 1997. Karakterisasi Enzim Amilase dari Beberapa Strain Bakteri Indigenous Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan, Denpasar, Bali.
- Richana, N., N. Yusri, N. Azizah, D.S. Damardjati & U. Murdiyatmo. 1998. Produksi Amilase oleh Isolat Bakteri Termofilik Indigenous. Seminar Hasil Penelitian Bioteknologi. Balitbio, Bogor.
- Sa'id, E.G. 1987. *Bioindustri*. PT. Mediyatama Sartana Perkasa, Jakarta.
- Scragg, A.H. 1991. *Bioreactors in Biotechnology*. A Practical Approach. Ellis Horwood Limited.
- Stredansky, M., R. Svore, E. Sturdik & K. Dercove. 1993. Repeated Batch α -Amylase Production in Aqueous Two-Phase System With *Bacillus* Strain. *J. Biotechnol.* 27:181-190.
- Yoo, Y.J., T.W. Cadman, J. Hong & R.T. Hatch. 1988. Kinetics of α -Amylase Synthesis from *Bacillus anyloliquefaciens*. *J. Biotechnol Bioeng.* 31:357 - 365.