

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



A. *BEGONIA APICATA* (ciri khas buah buni tdk berbulu)



B. *BEGONIA FLACCA* (ciri khas batang menjalar)



C. *B. HIPIDISSIMA* (ciri khas daun berwarna hijau kebiruan)



D. *B. WATUWILAN* (ciri khas pada perbungaan memiliki sekitar 30 buah tiap perbungaan)



E. *B. APICATA VARIETAS* (ciri khas perawakan, bung dan buah berbulu)



F. *B. MEKONGGAENSA* (ciri khas bunga jantan dan betina terpisah pada dua individu berbeda)

Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Tukirin Partomihardjo

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id

ksama_p2biologi@yahoo.com

herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depan: *Keanekaragaman Begonia Kawasan G. Watuwila dan G. Mekongga, Sulawesi Tenggara*, sesuai makalah di halaman 33. Deden Girmansyah-Koleksi Pusat Penelitian Biologi-LIPI.



ISSN 0126-1754

Volume 10, Nomor 1, April 2010

Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

In Memoriam
Dr Anggoro Hadi Prasetyo



Dr Anggoro Hadi Prasetyo yang merupakan staf pegawai Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, telah menghadap Yang Maha Kuasa pada hari Sabtu tanggal 20 Pebruari 2010, setelah dirawat selama 4 hari di RS PMI Bogor dan RS Ciptomangunkusumo, Jakarta, karena Leukaemia Akut yang dideritanya. Almarhum adalah seorang ahli taksonomi rayap yang mendapatkan gelar PhD dari Queen Mary University of London. Almarhum meninggalkan seorang istri Dr Marlina Ardiyani, yang bekerja di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dan dua orang anak laki laki (M Ammar Zaky dan M Zuhdi Ali) dan dua anak perempuan (Anisa Zahra dan Aisyah Zafrina Aini).

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.

Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. Hasil dipisahkan dari Pembahasan.
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta Cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal

Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
 - b. Buku

Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:

Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku

Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogar@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptari*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johannis P Mogeia (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Endang Tri Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryono (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Hertono Dwi Ariyadhi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
10(1)-April 2010

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Didik Widyatmoko - *Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor*
Dr. Heddy Julistiono - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Herman Daryono - *Pusat Penelitian Hutan Badan Litbang Kehutanan*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Kusumadewi Sri Yulita - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Marlina Ardiyani - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Sarjiya Antonius - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Tukirin Partomihardjo - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Prof. Dr. Cece Sumantri- *Institut Pertanian Bogor*
Dr. Satya Nugraha - *Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI*
Dr. Subowo - *Balai Besar Sumber Daya Lahan Pertanian*
Dr. Tatiek Chikmawati - *Institut Pertanian Bogor*

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

UJI AKTIFITAS ENZIM SELULASE DAN LIGNINASE DARI BEBERAPA JAMUR DAN POTENSINYA SEBAGAI PENDUKUNG PERTUMBUHAN TANAMAN TERONG (<i>Solarium melongena</i>) [The Test of Cellulase and Ligninase Enzymes from Some Fungi as Plant Growth Promoter for Eggplant] YB Subawo.....	1
PENGARUH PEMBERIAN JERAMI PADITERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN PADI (<i>Oryza Sativa</i>) DITANAH SULFAT MASAM [The Effect of Rice Straw Application on The Growth of Rice (<i>Oryza Sativa</i>) in Acid Sulphate Soils] Arifin Fahmi.....	7
PERUBAHAN KADAR KOLESTEROL SERUM PADA TIKUS SETELAH MENGONSUMSI MALTOOLIGOSAKARIDA YANG DISINTESIS SECARA ENZIMATIK MENGGUNAKAN AMILASE <i>Bacillus licheniformis</i> BL1 [The Change of Serum Cholesterol Level in Rats after Consuming Maltooligosaccharide Synthesized by Enzimatic Reaction of <i>Bacillus licheniformis</i> BL1 Amylase] Achmad Dinoto, Rita Dwi Rahayu dan Aryani S. Satyaningtijas.....	15
KERAGAMAN GENETIK, HERITABILITAS DAN KORELASI BEBERAPA KARAKTER AGRONOMI PADA GALUR F2 HASIL PERSILANGAN KACANG HIJAU (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek) [Genetic Variability, Heritability and Correlation of some Agronomic Characters in the F2 of Varietal crosses of Mungbean (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek)] Lukman Hakim.....	23
KEANEKARAGAMAN <i>Begonia</i> (BEGONIACEAE) DARI KAWASAN GUNUNG WATUWILA DAN MEKONGGA, SULAWESI TENGGARA [Diversity of <i>Begonia</i> (Begoniaceae) from Mt. Mekongga and Mt. Watuwila Area, South East Sulawesi] Deden Girmansyah.....	33
NITROGEN REMOVAL BY AN ACTIVATED SLUDGE PROCESS WITH CROSS-FLOW FILTRATION [Perombakan Nitrogen Menggunakan Proses Lumpur Aktif Yang Dilengkapi Dengan Filtrasi] Dwi Agustiyani dan Takao Yamagishi.....	43
STRUKTUR DAN KOMPOSISI JENIS TUMBUHAN HERBA DAN SEMAI PADA HABITAT SATWA HERBIVOR DI SUAKA MARGA SATWA CIKEPUH, SUKABUMI, JAWA BARAT [Structure and Composition of Herbaceous and Seedling Communities on the Herbivore Habitat within Cikepuh Wildlife Sanctuary, Sukabumi, West Java] AsepSadili.....	51
PEWARISAN GEN PENANDA <i>HPT</i> (<i>HYGROMYCINE PHOSPHOTRANSFERASE</i>) BERDASARKAN ANALISIS PCR DAN EKSPRESINYA PADA POPULASI PADI TRANSFORMAN MENGOVEREKSPRESIKAN GEN HD ZIP <i>OSHOX-6</i> [Segregation of <i>hpt</i> gene by PCR analysis and its expression in transgenic rice population overexpressing HD-Zip <i>oshox6</i> gene] EnungSriMulyaningsih, HajrialAswidinnoor, Didy Sopandie, Pieter B.F.Ouwerkerk, Inez Hortense Slamet Loedin.....	59

PENGETAHUAN LOKAL DAN PEMANFAATAN TUMBUHAN OLEH MASYARAKAT LOKAL PULAU KABAENA - SULAWESI TENGGARA [Local Knowledge and Plant Utilization By Local People Of Kabaena Island - Southeast Celebes] <i>Mulyati Rahayu dan Rugayah</i>	67
ESTIMASI MATERNAL HETEROSIS UNTUK BOBOT BADAN PADA POPULASI DOMBA SINTETIK [Estimates of Maternal Heterosis for Body Weights in the Synthetic Population of Sheep] <i>Benny Gunawan</i>	77
KINETIKA BIOTRANSFORMASI SUKSINONITRIL OLEH <i>Pseudomonas</i> sp [Succinic acid Biotransformation Kinetic by <i>Pseudomonas</i> sp] <i>Nunik Sulistinah dan Bambang Sunarko</i>	85
PENGUJIAN PENCEMARAN DAGING BABI PADA BEBERAPA PRODUK BAKSO DENGAN TEKNOLOGI PCR: PENCARIAN SISTEM PENGUJIAN EFEKTIF [Analysis of Porcine Contamination by Using PCR Technology in Several Meat Ball Products: To Find an Effective Assessment System] <i>Endang Tri Margawati dan Muhamad Ridwan</i>	93
KAJIAN SUPERPARASIT DAN PREFERENSI INANG BENALU <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. (Viscaceae) DIKEBUN RAYA PURWODADI DAN CIBODAS [Study on superparasite and host preference of the mistletoe <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. (Viscaceae) in Purwodadi and Cibodas Botanic Gardens, Java] <i>Sunaryo</i>	99
FLOWERING PHENOLOGY AND FLORAL BEHAVIOR OF <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. AND <i>S. slametensis</i> Sudarmono & B.J. Conn (Lamiaceae) [Fenologi dan Perilaku Pembungaan pada <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. dan <i>S. Slametensis</i> Sudarmono & B.J. Conn (Lamiaceae)] <i>Sudarmono</i>	105
KAJIAN ETNOBOTANI PANDAN SAMAK (<i>Pandanus tectorius</i> Sol.) DI KABUPATEN TASIKMALAYA, JAWA BARAT [Ethnobotany Study of pandan samak (<i>Pandanus tectorius</i> Sol.) in Tasikmalaya Regency, West Java] <i>Siti Susiarti & Mulyati Rahayu</i>	113
PENGARUH RADIASI DAN LOKASI TUMBUH TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PENYAKIT HAWAR DAUN TALAS "KETAN" [The Effect of Irradiation and Growing Locations on The Growth and Leaf BLIGHT Disease of Taro "Ketan"] <i>L Agus Sukanto dan Saefudin</i>	123
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANALISIS KIMIA EKSTRAK DAUN JUNGRAHAB (<i>Baekeafrutescens</i> L.) [Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Extract of Jungrahab (<i>Baekeafrutescens</i> L.) Leaves] <i>Tri Murningsih</i>	129

KINETIKA BIOTRANSFORMASI SUKSIONITRIL OLEH *Pseudomonas* sp.¹ [Succinic acid Biotransformation Kinetic by *Pseudomonas* sp.]

Nunik Sulistinah^{13*} dan Bambang Sunarko
Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911
•email: listin_ar@yahoo.com

ABSTRACT

Succinic acid ($\text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$) is commercial compound that primarily used in food products. This compound also used in textile industry for colouring process, drugs industry, paint, pernist and photography slice. Succinic acid usually produced in industry by chemical reaction and produce cyanide acid as by product. The objective of this research was to study the utilization of *Pseudomonas* sp. in produce succinic acid and to characterize of involved enzymes. The results showed that the enzyme optimally produce in log phase. The production rate of succinic acid formation was 0,982 mM/ml.h with the decrease of substrate consumption was 1,235 mM/ml.h. The yield of succinic acid during 81 hours fermentation was 81%. The optimum pH, temperature, K_m and V_{ran} were 7, 27 °C, 90 mM, and 0,0002 mM/ml.h.

Kata kunci: biotransformasi, kinetika, suksinonitril, *Pseudomonas* sp

PENDAHULUAN

Nitril (RCN) banyak digunakan sebagai reaktan dalam berbagai industri, seperti industri cat, pelapisan logam, fotografi, herbisida, elektronik, dan pertambangan (Hodgson dan Patricia, 1978; Banerjee *et al.*, 2002). Adanya gugus sianida pada struktur molekulnya membuat nitril sangat toksik dan sebagian besar bersifat karsinogenik, mutagenik, dan teratogenik. Salah satu senyawa alifatik dinitril yang banyak digunakan dalam industri kimia untuk sintesis asam-asam organik adalah suksinonitril.

Asam suksinat ($\text{CNCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$) yang merupakan hasil hidrolisis dari suksinonitril adalah senyawa komersial yang banyak digunakan dalam industri pangan, seperti industri kecap, sari buah, dan produk-produk susu. Selain itu, asam suksinat juga digunakan dalam industri tekstil, pewarnaan, industri obat, cat, dan fotografi. Penggunaan asam suksinat yang cukup luas menyebabkan kebutuhan akan senyawa tersebut semakin meningkat. Pada umumnya, asam suksinat yang diproduksi secara industri melalui serangkaian reaksi kimia menghasilkan produk samping yang toksik, seperti asam sianida, sehingga berdampak negatif terhadap lingkungan.

Perkembangan bioteknologi atau bioproses memberikan alternatif dalam sintesis asam suksinat, yaitu melalui biokonversi dengan menggunakan

mikroba untuk menghasilkan asam suksinat dari substrat yang cukup melimpah dan murah, terutama substrat yang berasal dari limbah industri. Sintesis asam suksinat secara mikrobiologis, menggunakan mikroba yang mampu mengkonversi substrat dengan melibatkan reaksi enzimatik. Proses ini memiliki banyak keuntungan dibandingkan reaksi kimia biasa, karena menghasilkan produk dengan tingkat kemurnian tinggi, hemat energi, biaya produksi rendah, serta aman terhadap lingkungan. Asam-asam amino dapat diproduksi melalui hidrolisis senyawa nitril oleh *Rhodococcus* sp AJ270 (Wang *et al.*, 2005)

Reaksi hidrolisis/biotransformasi senyawa nitril secara enzimatik dilaporkan melalui dua alur reaksi. Alur reaksi pertama melibatkan dua macam enzim yaitu enzim nitril hidratase (NH-ase) dan amidase. Nitril hidratase menghidrolisis senyawa nitril menjadi amida, sedangkan enzim amidase menghidrolisis amida yang terbentuk menjadi asam karboksilat dan ammonia (Nagasawa *et al.*, 1987; Drauz dan Waldman 1995; Mart'ýnkov'a dan Mylerov'a, 2003). Alur reaksi kedua melibatkan satu macam enzim yaitu nitrilase yang menghidrolisis senyawa nitril langsung menjadi asam karboksilat dan ammonia tanpa membentuk amida.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari kinetika biotransformasi suksinonitril oleh *Pseudomonas* sp.

BAHAN DAN METODE

Mikroorganisme

Pseudomonas sp yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari kilang minyak Plaju Sungai Gerong Palembang

Media Tumbuh *Pseudomonas* sp

Media yang digunakan untuk menumbuhkan *Pseudomonas* sp adalah media mineral dengan komposisi sebagai berikut : $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,4475 g; KH_2PO_4 0,1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,001 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,001 g; *yeast extract* 0,001 g, mikroelemen 1,0 ml dan ditambahkan aquadest sampai 1000 ml. Sedangkan komposisi mikroelemen adalah sebagai berikut : $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,003 g; H_3BO_3 0,3 g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; $\text{NiCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,9 g; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02 g, dan ditambahkan akuades sampai dengan 1000 ml (Meyer *et al.*, 1985; Pfennig 1974)

Pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp.

Pertumbuhan *Pseudomonas* sp dilakukan dengan cara menginokulasikan 45 ml inokulan ke dalam Erlenmeyer 2,0 liter berisi 800 ml media pertumbuhan yang mengandung 90 mM suksinonitril. Kultur selanjutnya diinkubasi di atas mesin pengocok pada suhu kamar ($\pm 28^\circ\text{C}$). Setiap 3 jam sampel diambil untuk diamati pertumbuhannya (OD 600 nm), perubahan pH, aktivitas enzim, kadar protein, konsentrasi ammonium dan asam suksinat yang terbentuk.

Penentuan ammonium

Ammonium yang terbentuk selama proses biokonversi ditentukan dengan menggunakan metode Nessler (Gerhardt *et al.*, 1994). Konsentrasi ammonium dalam supernatan sampel dihitung berdasarkan kurva standar.

Produksi Biomassa Sel

Biomassa sel diproduksi dalam 3 liter Fermentor berisi 1,5 liter media pertumbuhan yang mengandung 90 mM suksinonitril. Fermentor diinkubasi pada suhu kamar ($\pm 28^\circ\text{C}$) dan sel dipanen pada saat produksi sel optimum. Pemanenan sel dilakukan dengan mensentrifugasi kultur sel dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C . Pelet yang diperoleh dicuci sebanyak 2 kali dengan 50 mM buffer fosfat (KH_2PO_4 - NaOH), pH 7,2. Pelet (sel) yang diperoleh digunakan untuk karakterisasi enzim dalam

sel utuh (*whole cells*).

Penentuan Aktivitas Enzim Nitril Hidratase

Campuran reaksi yang mengandung 1,5 % b/v sel dan suksinonitril dalam 50 mM buffer fosfat (KH_2PO_4 - NaOH) pH 7,2 diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar ($\pm 28^\circ\text{C}$). Aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan 0,20 ml HC14N. Larutan reaksi kemudian disentrifugasi dan kadar ammonium dalam supernatan ditentukan dengan metode Nessler (Gerhard *et al.*, 1994).

Biokonversi Suksinonitril Menggunakan Sel Utuh.

Sebanyak 1,5 % b/v sel *Pseudomonas* sp dan 90 mM suksinonitril ditambahkan ke dalam erlenmeyer berisi 50mM buffer fosfat (KH_2PO_4 - NaOH), pH 7,2. Larutan kemudian diinkubasi di atas mesin pengocok dan pada interval waktu tertentu sampel di ambil untuk penentuan konsentrasi amonium.

Penentuan Suhu dan pH optimum

Pengaruh suhu terhadap aktivitas Nitril Hidratase ditentukan dengan cara menambahkan 1,5% sel b/v ke dalam 10 ml 50 mM buffer fosfat (KH_2PO_4 -NaOH), pH 7,2. Suksinonitril kemudian ditambahkan ke dalam larutan tersebut dan diinkubasi pada kisaran suhu $5-60^\circ\text{C}$ dalam Erlenmeyer tertutup. Aktivitas enzim ditentukan dengan cara yang telah disebutkan. Pengaruh pH terhadap aktivitas Nitril Hidratase dilakukan seperti pada penentuan suhu.

Penentuan K_m dan V_{maks}

Sebanyak 1,5% sel b/v ditambahkan ke dalam 10 ml 50 mM buffer fosfat (KH_2PO_4 - NaOH) pH 7,2 pada suhu kamar ($\pm 28^\circ\text{C}$). Substrat (suksinonitril) kemudian ditambahkan dengan berbagai konsentrasi (0-120 mM). Aktivitas enzim Nitril Hidratase ditentukan dengan cara yang telah disebutkan.

Penentuan Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan metode Biuret. Konsentrasi sampel ditentukan berdasarkan kurva standar BSA(Bovin Serum Albumin)

Penentuan asam suksinat

Konsentrasi suksinonitril dan asam suksinat ditentukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sebelum diinjeksikan supernatan (hasil fermentasi) dilarutkan dalam metanol. Konsentrasi suksinonitril dan asam suksinat dihitung dengan membandingkan kurva standar suksinonitril atau asam suksinat.

HASIL

Pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp. pada 90 mM suksinonitril, perubahan pH, dan pembentukan produk degradasinya (asam suksinat dan amonium) ditampilkan pada Gambar 1. *Pseudomonas* sp tumbuh tanpa melalui fase lag dengan fase log yang cukup panjang. Pertumbuhan memasuki fase stasioner pada jam ke-66. Waktu penggandaan (t_d) dan laju pertumbuhan spesifik (μ) *Pseudomonas* sp. dapat ditentukan masing-masing selama dua jam dan 0,346 jam⁻¹.

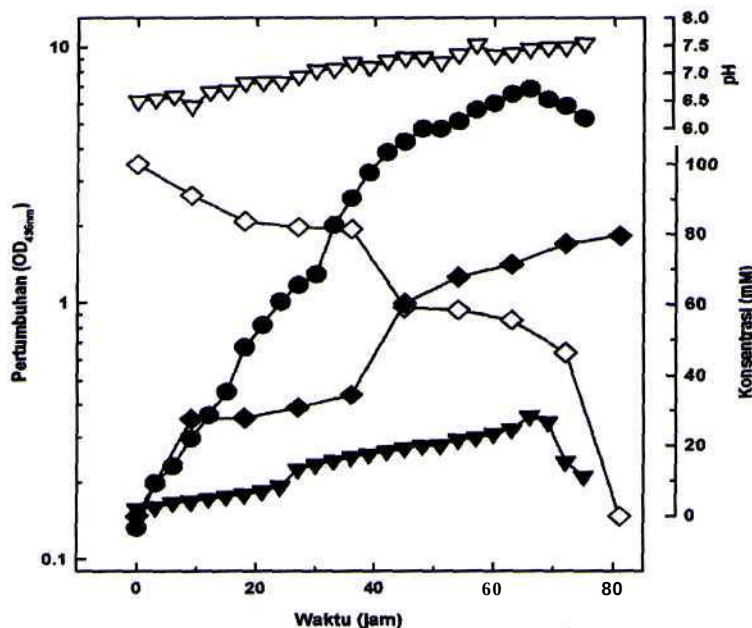
Selama pertumbuhan, tampak ada penurunan konsentrasi substrat (suksinonitril), kenaikan produk degradasi (asam suksinat dan amonium) dan nilai pH (Gambar 1). Pola pembentukan produk degradasi tampak mengikuti pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan konsentrasi tertinggi asam suksinat dan amonium yang terbentuk masing-masing sebesar 79,872 mM dan 11,262 mM. Selain itu, pH medium terus meningkat, dari pH 6,2 di awal pertumbuhan menjadi pH 8,1 di akhir masa inkubasi. Laju rata-rata penurunan suksinonitril dapat ditentukan sebesar 0,91 mM/jam, sedangkan laju kenaikan produk degradasi masing-masing sebesar 1,106 mM/jam asam suksinat dan 0,335 mM/jam amonium.

Aktivitas enzim Pengkonversi Suksinonitril

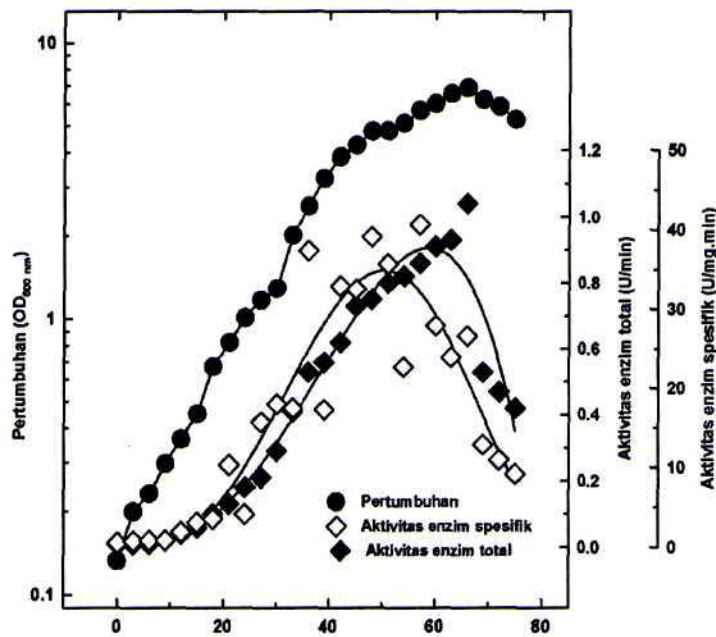
Seperti tampak pada Gambar 2, aktivitas enzim nitril hidratase, baik aktivitas total maupun aktivitas spesifik, mempunyai pola yang sama dengan pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Aktivitas enzim nitril hidratase mencapai puncaknya pada pertengahan fase log pertumbuhan, yang kemudian terus menurun sampai akhir masa inkubasi. Aktivitas total dan spesifik nitril hidratase tertinggi masing-masing dapat ditentukan sebesar 0,9 U/min dan 32 uM/min.mg.

Pengaruh pH dan temperatur pada Aktivitas Nitril Hidratase

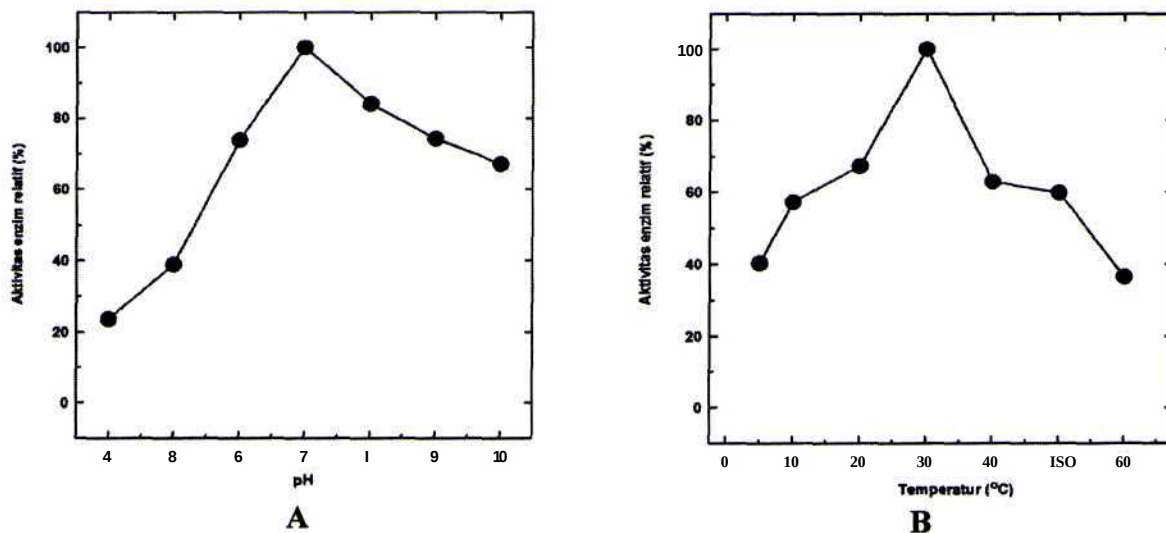
Pengaruh pH dan temperatur pada aktivitas nitril hidratase *Pseudomonas* sp ditunjukkan pada Gambar 3. Aktivitas maksimum nitril hidratase ditunjukkan pada pH 7,0 (Gambar 3a) dan suhu 30° C (Gambar 3b). Penurunan pH satu satuan dari pH optimum menurunkan aktivitas relatifnya rata-rata sebesar 26,13%, sedangkan kenaikan pH satu satuan dari pH optimum menurunkan aktivitas relatifnya rata-rata sebesar 16,11%. Selain itu, penurunan suhu satu satuan menurunkan aktivitas relatifnya rata-rata sebesar 32,72%, sedangkan kenaikan suhu satu satuan menurunkan aktivitasnya rata-rata sebesar 37,13%.



Gambar 1. Pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp ($\bullet$) dalam 90 mM Suksinonitril, perubahan pH (A), penurunan suksinonitril (B) dan pembentukan produk degradasi: yaitu asam suksinat (D) dan amonium ($\circ$).



Gambar 2. Aktivitas total dan aktivitas spesifik enzim nitril hidratase dari *Pseudomonas* sp. selama pertumbuhan



Gambar 3. Pengaruh pH (a) dan temperatur (b) terhadap aktivitas enzim nitril hidratase dalam sel *Pseudomonas* sp.

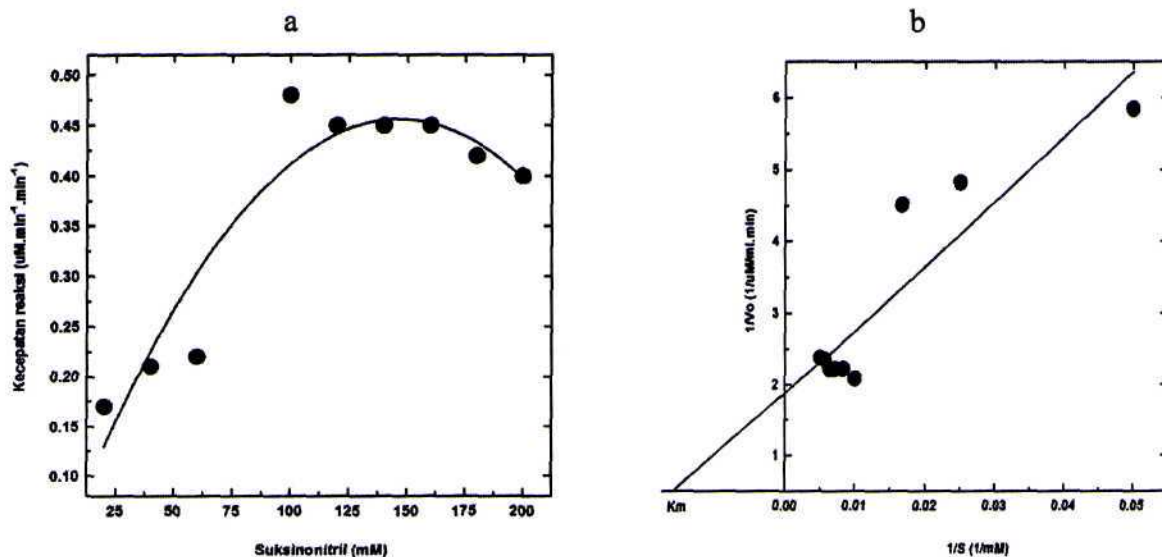
Kinetika Biotransformasi Suksinonitril K_m dan V_{maks} NH-ase dan Amidase

Pengaruh substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatis nitril hidratase dapat dilihat pada Gambar 4. Nilai K_m dan V_{maks} enzim didapat dengan cara memplot kurva pada Gambar 4a ke dalam persamaan Line-Wever

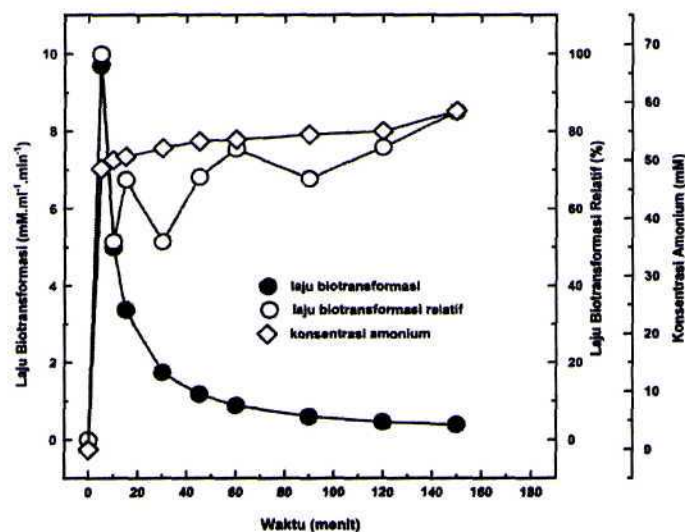
Burk (Gambar 4b). Nilai K_m nitril hidratase *Pseudomonas* sp dapat ditentukan sebesar 50 mM dan V_{maks} 0,0025 $\mu\text{M}/\text{ml}.\text{min}$.

Biotransformasi Suksinonitril

Pola pembentukan amonium, sebagai produk biotransformasi suksinonitril dan suksinamida oleh sel



Gambar 4. Km dan Vmaks enzim nitril hidratase dan amidase

Gambar 5. Pola biotransformasi suksinonitril oleh *Pseudomonas* sp.

Pseudomonas sp. ditampilkan pada Gambar 5. Seperti tampak dalam gambar tersebut konversi suksinonitril selama 180 menit menghasilkan amonium (NH_4^+) sebesar 59,68 mM dengan laju degradasi sebesar 0,33 mM/ml.min. dengan kecepatan pembentukan relatifnya berkisar antara 51,51 -100 %.

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa *Pseudomonas* sp. mampu tumbuh pada suksinonitril

100 mM dan sekaligus memanfaatkan senyawa nitril tersebut sebagai satu-satunya sumber karbon, energi dan nitrogen untuk pertumbuhannya. Ini terbukti dari pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp yang diikuti dengan penurunan suksinonitril selama pertumbuhan (Gambar 1). Dari Gambar tersebut ditunjukkan pula bahwa pertumbuhan *Pseudomonas* sp tanpa melalui fase lag, dan langsung fase log. Hal ini mengindikasikan bahwa *Pseudomonas* sp. cukup toleran terhadap substrat yang relatif toksik bagi

kebanyakan bakteri.

Waktu penggandaan (t_d) dan laju pertumbuhan spesifik (μ) untuk *Pseudomonas* sp. masing-masing ditentukan sebesar 2,0 jam dan $0,346 \text{ jam}^{-1}$. μ merupakan nilai yang spesifik dan sangat ditentukan oleh jenis mikroba, substrat, dan kondisi pertumbuhan. Sedangkan waktu penggandaan dan laju pertumbuhan untuk *Pseudomonas* sp. BP3 (diisolasi dari limbah pabrik cat) yang ditumbuhkan pada substrat adiponitril (100mM) adalah sebesar 2 jam dan $0,346 \text{ jam}^{-1}$ (Sunarko dan Sulistinah, 2008). Dengan demikian t_d dan μ yang dicapai oleh *Pseudomonas* sp adalah sama dengan t_d dan μ dari *Pseudomonas* sp. BP3.

Selama pertumbuhan, pH berangsur-angsur meningkat sementara pembentukan asam suksinat pada inkubasi 72 jam adalah 77,28 mM lebih besar dibandingkan ammonium (15,31 mM). Hal ini mungkin terjadi karena *Pseudomonas* sp memanfaatkan asam suksinat (sumber C dan E) lebih tinggi dibandingkan ammonium (sumber N) untuk metabolismenya, sehingga ammonium terakumulasi dalam medium tumbuh, yang menimbulkan peningkatan pH. Nilai pH medium selama pertumbuhan berkisar antara 6,2-8,1 dan nilai tersebut meningkat seiring dengan meningkatnya waktu fermentasi. Nilai pH medium tersebut disebabkan karena dihasilkan ammonium sebagai salah satu produk biokonversi. Kecenderungan yang sama juga dilaporkan oleh Fitri (2005), bahwa pH medium fermentasi menggunakan isolat bakteri *Pseudomonas* sp dalam substrat adiponitril cenderung bersifat basa.

Penurunan suksinonitril dan kenaikan produk degradasi (asam suksinat dan amonium) selama pertumbuhan *Pseudomonas* sp juga mengindikasikan bahwa telah terjadi proses degradasi suksinonitril oleh isolat bakteri tersebut. Perolehan (*yield*) asam suksinat dalam penelitian ini adalah sebesar 83% setelah 75 jam fermentasi. Pada fermentasi sistem Batch menggunakan *Pseudomonas* sp. dalam mengkonversi akrilamida 62,5 mM membutuhkan waktu selama 24 jam, sedangkan apabila sel *Pseudomonas* sp diimobilisasi dengan menggunakan kalsium alginat konversi akrilamida hanya membutuhkan waktu kurang dari 6 jam untuk membentuk produknya (Nawaz *et al*, 1997). Terjadinya proses degradasi ini juga mengindikasikan bahwa *Pseudomonas* mampu mensintesis enzim nitril

hidratase, yang berperan sebagai katalis dalam degradasi suksinonitril menjadi produk tersebut. Dugaan ini juga diperkuat dengan hasil pengukuran aktivitas enzim, yang ditampilkan pada Gambar 2.

Terbentuknya ammonium dalam biotransformasi suksinonitril selain menunjukkan adanya enzim NH-ase juga mengindikasikan bahwa enzim amidase bekerja dengan baik. Hal ini sesuai dengan Wu & Li (2002), yang mengatakan bahwa enzim pentransformasi nitril biasanya optimum terbentuk pada fase log sel. Aktivitas total NH-ase tertinggi sebesar 1,04 U. Meskipun tidak dilakukan pengukuran secara kuantitatif namun diprediksi bahwa aktivitas total amidase pada suksinonitril hampir sama dengan aktivitas total amidase pada adiponitril yang juga merupakan senyawa dinitril alifatik jenuh. Fitri (2005) melaporkan bahwa dengan substrat adiponitril aktivitas total amidase memiliki nilai 4 kali lebih tinggi dari aktivitas Nitril hidratase (NH-ase). Tingginya aktivitas amidase dapat diakibatkan karena kondisi medium yang menunjang aktivitas enzim amidase tersebut yaitu suhu, pH, dan tekanan oksigen serta konsentrasi substrat dan produk-produk yang terdapat dalam media. Aktivitas total enzim NH-ase mempunyai pola yang sama dengan pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp.

Aktivitas maksimum NH-ase dari *Pseudomonas* sp ditunjukkan pada pH 7,0. Nilai pH optimum dari NH-ase dari sel *Rhodococcus erythrops* A 10 juga berada pada pH netral, yaitu pH 7,0 (Acharya dan Desai, 1997). Suhu optimum untuk aktivitas NH-ase berada pada kisaran suhu 25-30°C.

Kinetika Biotransformasi Suksinonitril

Penentuan nilai K_m dan V_{maks} berguna untuk mengetahui kinetika enzim sehingga dapat diketahui karakteristik dan kecepatan reaksi enzim dalam menguraikan substrat, selain itu K_m dan V_{maks} dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut tentang penghambatan aktivitas enzim dan untuk mengetahui efisiensi aktivitas katalitik enzim. Pengaruh substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik NH-ase dapat dilihat pada Gambar 4. Enzim NH-ase memiliki kecepatan reaksi (V_o) akan mengikuti pola Michaelis-Menten. Fitri (2005) melaporkan bahwa amidase dengan substrat adiponitril juga mengikuti pola Michaelis-

Menten sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua enzim tersebut bukan enzim alosterik

Nilai K_m NH-ase sebesar 90 mM dan V_{maks} 0,0025 μ M/ml.min. Nilai K_m yang tinggi dapat diartikan bahwa enzim dapat dengan mudah membentuk kompleks enzim substrat (E-S), sedangkan nilai K_m yang rendah menunjukkan bahwa energi yang diperlukan untuk memulai terjadinya reaksi enzimatik lebih rendah sehingga reaksi lebih mudah terjadi.

Biotransformasi Suksinonitril

Pola biotransformasi suksinonitril dan suksinamida oleh *Pseudomonas* sp. ditampilkan pada Gambar 5. Secara stoikiometri ditunjukkan apabila aktivitas amidase tinggi maka jumlah asam suksinat dan ammonium yang terbentuk menunjukkan aktivitas NH-ase juga tinggi. Hal ini disebabkan karena suksinat dan ammonium yang dihasilkan merupakan produk dari aktivitas amidase yang mengurai suksinamida yang merupakan produk hidrolisis suksinonitril oleh NH-ase.

Pada gambar tersebut juga dapat dilihat bahwa konversi suksinonitril selama 180 menit menghasilkan ammonium sebanyak 59,68 mM dengan produktivitas sel sebesar 0,33 mM/ml.min. Pada biokonversi suksinonitril kecepatan pembentukan relatifnya berkisar antara 51,51-100 %. Sedangkan biokonversi adiponitril dengan menggunakan isolat bakteri BA12 adalah sebesar 4,44 mM pada menit ke 180 (Thontowi *et al.*, 2004). Dengan demikian kemampuan *Pseudomonas* sp lebih tinggi dalam mengkonversi adiponitril/suksinonitril dibandingkan isolat bakteri BA12.

Pada menit pertama ammonium yang dihasilkan dari biokonversi senyawa amida lebih banyak dibandingkan senyawa dinitril, tetapi pada menit-menit berikutnya pembentukan amonium dari biokonversi dinitril lebih banyak dibandingkan amidase dan terus menurun secara drastis pada menit-menit berikutnya (Sunarko dan Sulistinah, 2008).

KESIMPULAN

Pseudomonas sp. mampu menggunakan suksinonitril sebagai satu-satunya sumber karbon, energi, dan nitrogen untuk substrat pertumbuhannya.

Dari biotransformasi suksinonitril dapat ditentukan laju pembentukan asam suksinat sebesar 0,982 mM/ml.jam, sedangkan laju degradasi suksinonitril adalah 1,235 mM/ml.jam.

Nilai pH optimum enzim NH-ase adalah 7,0 dan suhu optimumnya 27 °C. K_m dan V_{maks} enzim NH-ase adalah 90 mM dan 0,0002 μ M/ml.min. Laju pertumbuhan spesifik (μ) *Pseudomonas* sp. adalah sebesar 0,346 jam^{-1} dan waktu penggandaan (t_d) adalah 2,0jam

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya A and AJ Desai. 1997. Studies on utilization of acetonitrile by *Rhodococcus erythropolis* A10. *Journal Microbiology & Biotechnology* 13, 175-178
- Banerjee A, R Sharma and UC Banerjee. 2002. The nitrile-degrading enzymes: current status and future prospects. *Appl. Microbiology Biotechnology* 60, 33-44.
- Drauz K and H Waldmann. 1995. *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, 365-367. VCH, Weinheim.
- Fitri EY. 2005. Kinetika Fermentasi dan Karakteristik Enzim yang Terlibat Dalam Proses Produksi Asam Adipat oleh *Pseudomonas* sp. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam-IPB.
- Gerhardt, P, RGE Murray, WA Wood and NR Krieg. 1994. *Methods for General and Molecular Bacteriology*. ASM, Washington D.C.
- Hodgson E and EL Patdricia. 1987. *A Text Book of Modern Toxicology*. Elsevier, New York.
- Mart'ynkov'a L and V Mylerov'a. 2003. Synthetic applications of nitrile-converting enzymes. *Curr. Org. Chem.* 7, 1279-1295.
- Meyer O and HG Schlegel. 1983. Biology of aerobic carbon monoxide oxidizing bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 37, 277-310.
- Nagasawa T, H Nanaba, K Ryuno, K Takeuchi and H Yamada. 1987. Nitrile hydratase of *Pseudomonas chlororaphis* B23. *Eur. J. Biochem.* 162, 691-698.
- Pfennig, N. 1974. *Rhodopseudomonas globiformis* sp., a new species of the Rhodospirillaceae. *Arch. Microbiol* 100, 197-206.
- Sunarko B and N Sulistinah. 2008. Karakterisasi enzim nitril hidratase dan amidase dari *Pseudomonas* sp. BP3 dalam biokonversi adiponitril menjadi asam adipat. *Jurnal Biologi Indonesia* V(2), 173-186.
- Thontowi A, EW Pamuji and B Sunarko. 2004. Biotransformasi Adiponitril oleh *Bacillus licheniformis* BA2. *Berk. Penel. Hayati* 10, 25-30.
- Wu ZL and ZY Li. 2002. Enhancement of enzyme activity and enantioselectivity via. Cultivation in nitrile metabolism by *Rhodococcus* sp. CGMCC 0497. *Biotechnol. Appl. Biochem* 35, 61-67
- Wang M-X, J Liu, D-X Wang and Q-Y Zheng. 2005. Synthesis of optically active α -methylamino acids and amides through biocatalytic kinetic resolution of amides. *Tetrahedron: Asymmetry* 16, 2409-2416.