

Karakteristik Fisiologis Enzim Nitril Hidratase dan Amidase dalam Sel *Corynebacterium sp. D5*

Nunik Sulistinah^{✉1)}, Joseva Sudiati Kaban²⁾, & Bambang Sunarko³⁾

¹⁾ Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor

²⁾ Jurusan Kimia FMIPA-IPB, Bogor

³⁾ Bidang Bioproses, Puslit Bioteknologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

Physiological Characteristics of Nitrile-Hydratase and Amidase From *Corynebacterium sp. D5*. Nitrile hydratase (NH-ase) of *Corynebacterium sp. D5* is inductive enzyme, but amidase is constitutive enzyme. The best inducer for Nitril hydratase is 2% (v/v) acetonitrille. Nitril hydratase and amidase enzymes showed to be capable of degrading low molecule weight of aliphatic nitriles and amides. The optimum condition of NH-ase of *Corynebacterium sp. D5* were found out at pH 6,6 and 30⁰ C while amidase at pH 7,2 & 50⁰ C respectively. The inhibitor of both enzymes seemed to be Ag⁺ and Hg²⁺

Key words : Nitrile hydratase, bioconversion, *Corynebacterium sp. D5*, amidase, acetonitrile, aliphatic nitrile

PENDAHULUAN

Senyawa nitril banyak digunakan pada industri kimia sebagai prekursor untuk menghasilkan berbagai senyawa organik seperti nikotinamida, akrilamida, asam nikotinat, dan asam akrilat, selain itu asetonitril digunakan sebagai pelarut, akrilonitril sebagai prekursor fiber akrilat dan plastik (Yamada & Kobayashi, 1996). Sebagian besar nitril bersifat toksik, beberapa di antaranya bahkan bersifat mutagenik dan karsinogenik (Linardi *et al.*, 1996).

Penanggulangan pencemaran senyawa nitril dapat dilakukan secara fisika dan kimia. Kedua cara ini membutuhkan biaya yang besar serta persyaratan kondisi yang sulit dengan produk pada tingkat kemurnian yang rendah, serta adanya

produk samping yang tidak diinginkan dan tidak ramah lingkungan (Florkin & Stotz, 1963; Yamada & Kobayashi, 1996). Proses biokonversi merupakan salah satu penanggulangan secara mikrobiologis yang menghasilkan beberapa keuntungan antara lain produk yang dihasilkan mempunyai tingkat kemurnian tinggi, ramah lingkungan, hemat energi, dan biaya produksi rendah (Nagasawa *et al.*, 1993).

Enzim nitril hidratase dan nitrilase dari mikroba dapat digunakan untuk mengkonversi berbagai senyawa nitril, seperti misalnya akrilonitril (Nagasawa *et al.*, 1993), asetonitril (Asano *et al.*, 1980), propionitril (Di Geronimo & Antoine, 1976), dan benzonitril (Harper, 1977). Nitrilase mengkatalisis hidrolisis nitril langsung

✉ JI. Ir H. Juanda 18 Bogor 16122. Telp 0251- 321038. Fax 325854

menjadi asam karboksilat dan amonia, sedangkan nitril hidratase menghidrolisis nitril menjadi amida. Amida yang terbentuk dihidrolisis oleh amidase menjadi asam karboksilat dan amonia. Yamada & Kobayashi (1996) mengisolasi beberapa jenis mikroba yang dapat menghasilkan nitrilase, nitril hidratase, dan amidase.

Berbagai karakter enzim diperlukan untuk mengetahui variabel yang berpengaruh terhadap kerja enzim, sehingga enzim dapat dimanfaatkan secara optimum. Penelitian ini bertujuan mengetahui beberapa karakter enzim nitril hidratase dan amidase dari *Corynebacterium* D5, yang mencakup antara lain penentuan induktivitas enzim, spesifisitas enzim terhadap berbagai senyawa nitril, pH dan suhu optimum, dan penentuan aktivator dan inhibitor enzim tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Media Tumbuh *Corynebacterium* sp. D5

Media yang digunakan untuk menumbuhkan *Corynebacterium* sp. D5 adalah media mineral dengan komposisi sebagai berikut: Na₂HPO₄ 0,357 g; KH₂PO₄ 0,1 g; MgSO₄.7H₂O 0,1 g; CaCl₂.2H₂O 0,01 g; FeSO₄.7H₂O 0,001 g; Yeast Extract 0,01 g; Mikroelemen 1,0 ml dan ditambahkan aquadest sampai dengan 1000ml. Adapun komposisi mikroelemen adalah : ZnSO₄.7H₂O 0,1g; MnCl₂.4H₂O 0,03 g; H₃BO₃ 0,3 g; CoCl₂.6H₂O 0,02 g; NiCl₂.2H₂O 0,02 g; Na₂MO₄.2H₂O 0,9 g; Na₂SeO₃ 0,02 g; Aquadest 1000 ml. (Meyer and Schlegel, 1983; Pfennig, 1974)

Produksi sel *Corynebacterium* sp. D5

Produksi sel *Corynebacterium* sp. D5 dilakukan dengan cara menumbuhkan

isolat bakteri tersebut dalam fermentor (3 l) yang berisi 2000 ml media tumbuh (media mineral+asetonitril; media mineral+ glukosa+NH₄Cl; media Nutrient Broth; media Nutrient Broth+ asetonitril) pH 7,2 . Kultur diinkubasi pada suhu kamar (28^o C) selama 60 jam (Purnomo 2000). Asetonitril 2% ditambahkan kedalam media tumbuh sebagai sumber karbon, nitrogen dan energi. Sel *Corynebacterium* sp. D5 dipanen dengan sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 1 jam pada suhu 4^oC . Sel yang diperoleh dicuci dengan 50 mM bufer fosfat pH 7.2.(Sunarko *et al.*, 2000).

Penentuan Aktivitas Enzim Nitril Hidratase dan Amidase

Aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase ditentukan dengan cara pengukuran konsentrasi amonium sebagai produk reaksi hidrolisis. Penentuan aktivitas nitril hidratase dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 20,8020 mg sel (bobot kering) ke dalam 20 ml 50 mM bufer fosfat pH 7,2, kemudian ditambahkan senyawa nitril (asetonitril 5%) dan diinkubasikan selama 30 menit pada suhu kamar. Aktivitas amidase diukur dengan cara yang sama dengan mengganti senyawa nitril menjadi senyawa amida.

Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dilakukan pada menit ke 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150, dan 180. Aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan 0,25 ml HCl 4N. Amonium yang terbentuk sebagai salah satu produk degradasi nitril diukur dengan metode Nessler (Gerhardt *et al.*, 1994). Masing-masing pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan.

Penentuan Induktivitas Enzim

Sel *Corynebacterium* sp. D5 yang diperoleh dari berbagai media tumbuh

diuji aktivitas enzim nitril hidratase dan amidasenya pada Asetonitril (5%) dan Asetamida (100 mM). Penentuan induktivitas enzim dilakukan dengan cara menumbuhkan *Corynebacterium* sp. D5 dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml media mineral dan senyawa nitril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Penentuan konsentrasi senyawa penginduksi ditentukan dengan cara yang sama dengan kisaran konsentrasi antara 0.5-5% (v/v).

Penentuan Spesifitas Enzim Nitril Hidratase dan Amidase

Pengujian spesifitas enzim pada berbagai senyawa nitril dan amida ditentukan dengan cara memproduksi sel *Corynebacterium* sp. D5 dengan senyawa penginduksi terbaik dalam fermentor. Setelah 60 jam sel dipanen dan diuji spesifitasnya dengan menambahkan 20, 6020 mg sel (bobot kering) ke dalam 50 mM buffer fosfat pH 7,2 dan ditambah senyawa nitril atau amida, kemudian ditentukan aktivitas enzimnya.

Penentuan Suhu dan pH optimum

Penentuan pengaruh suhu terhadap degradasi senyawa nitril dilakukan dengan cara menambahkan 20,8020 mg sel (bobot kering) ke dalam 10 ml 50 mM larutan bufer fosfat pH 7,2 dalam labu erlenmeyer tertutup. Inkubasi dilakukan selama 30 menit pada kisaran suhu 5-50°C. Aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan HCl 4N. Penentuan pengaruh pH terhadap biokonversi senyawa nitril dilakukan dengan cara yang sama seperti penentuan pengaruh suhu yang dilakukan pada kisaran pH bufer fosfat 4 - 9.

Pengaruh Logam terhadap Aktivitas Enzim

Penentuan pengaruh logam terhadap

aktivitas enzim dilakukan dengan cara menambahkan ion logam (Fe^{2+} , Co^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} dst) ke dalam 10 ml 50mM larutan bufer fosfat pH 7,2, 16,0170 mg sel (bobot kering) dan ditambah asetonitril pada konsentrasi tertentu, diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan HCl 4N.

HASIL DAN PEMBAHASAN

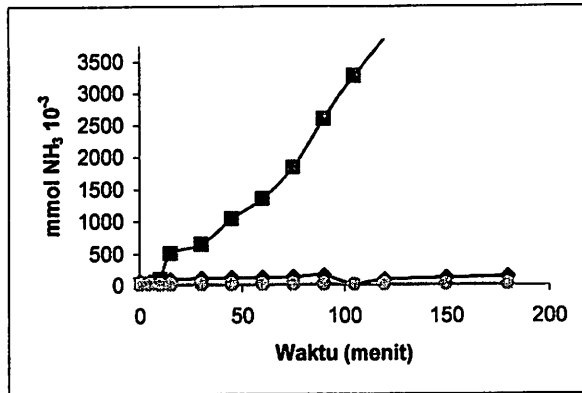
Induktivitas Enzim Nitril Hidratase dan Amidase *Corynebacterium* sp. D5

Aktivitas enzim nitril hidratase sel *Corynebacterium* sp. D5 yang mbuhkan dalam empat media pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 1. Enzim nitril hidratase dari sel *Corynebacterium* sp.D5 menunjukkan aktivitas bila isolat bakteri tersebut ditumbuhkan pada media mineral + asetonitril 2%(v/v). Hal ini mengindikasikan, bahwa enzim nitril hidratase (NH-ase) merupakan enzim induktif.

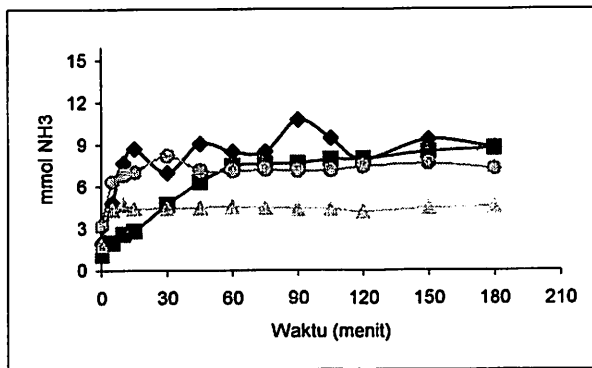
Seperti terlihat pada Gambar 2, bahwa *Corynebacterium* sp. D5 yang ditumbuhkan pada setiap media pertumbuhan menunjukkan adanya aktivitas enzim amidase, bahkan pada media pertumbuhan seperti media NB tanpa senyawa nitril atau amida. Hal ini membuktikan, bahwa amidase dari *Corynebacterium* D5 merupakan enzim yang konstitutif.

Senyawa Nitril sebagai Penginduksi Terbaik

Kemampuan tumbuh *Corynebacterium* sp. D5 pada berbagai senyawa nitril ditampilkan pada Tabel 1. Dari tabel tersebut terlihat, bahwa *Corynebacterium* sp. D5 tumbuh sangat baik pada asetonitril dan propionitril, sedangkan pada senyawa nitril dengan struktur alifatik tak jenuh seperti akrilonitril, senyawa dinitril seperti adiponitril, dan nitril aromatik dan



Gambar 1. Aktivitas Nitril hidratase sel *Corynebacterium* sp. D5 pada berbagai media. Media mineral+Glukosa+NH₄Cl (◆); media mineral+Asetonitril 2% (■), media NB (▲), NB+Asetonitril 2% (•)



Gambar 2. Aktivitas amidase sel *Corynebacterium* sp. D5 pada berbagai media. Media mineral+Glukosa+NH₄Cl (◆), media mineral+Asetonitril 2% (■), media NB (▲), media NB+Asetonitril 2% (•)

berbobot molekul tinggi seperti benzonitril dan sianopiridin isolat bakteri ini tidak mampu tumbuh atau sedikit tumbuh. Hal ini menunjukkan, bahwa *Corynebacterium* sp. D5 mampu tumbuh pada nitril alifatik jenuh dan berbobot molekul rendah, sehingga golongan penginduksi enzim nitril hidratase adalah nitril alifatik jenuh dengan jumlah atom karbon 2-4 buah. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Yamada & Kobayashi (1996), bahwa induksi enzim

NH-ase oleh senyawa nitril pada mikroba umumnya oleh nitril alifatik jenuh dan berbobot molekul rendah

Hasil pengujian penentuan penginduksi terbaik untuk nitril hidratase menunjukkan bahwa *Corynebacterium* sp. D5 mampu tumbuh lebih baik pada asetonitril dan menunjukkan aktivitas nitril hidratase yang lebih tinggi dibandingkan bila isolat bakteri tersebut ditumbuhkan pada propionitril (Tabel 1 & Gambar 3).

Tabel 1. Kemampuan tumbuh *Corynebacterium* D5 pada berbagai senyawa nitril

Senyawa	Pertumbuhan* (OD 436 nm)
Asetonitril	+++
Propionitril	+++
Laktonitril	-
Akronitril	-
Adiponitril	-
Benzonitril	+
KSCN	-
Sianopiridin	-

- tidak tumbuh ($OD < 0,1$), + sedikit tumbuh ($0,1 < OD < 0,3$), ++ tumbuh baik ($0,3 < OD < 0,7$), dan +++ sangat tumbuh baik ($OD > 0,7$). Perhitungan dilakukan setelah inkubasi 7 hari.

Dengan demikian penginduksi nitril hidratase *Corynebacterium* sp. D5 adalah asetonitril.

Seperti terlihat pada Tabel 2 asetonitril dengan konsentrasi 2% (v/v) sebagai penginduksi terbaik. Menurut Acharya & Desai, 1997 penginduksi enzim nitril hidratase pada umumnya adalah senyawa nitril.

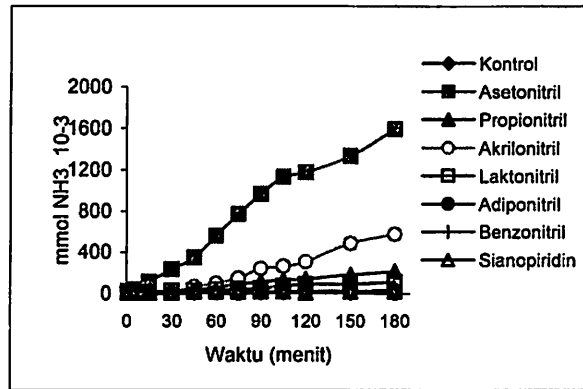
Spesifisitas Enzim Nitril Hidratase dan Amidase

Enzim nitril hidratase sel *Corynebacterium* sp. D5 yang telah diinduksi asetonitril 2% (v/v) hanya dapat mendegradasi beberapa senyawa nitril

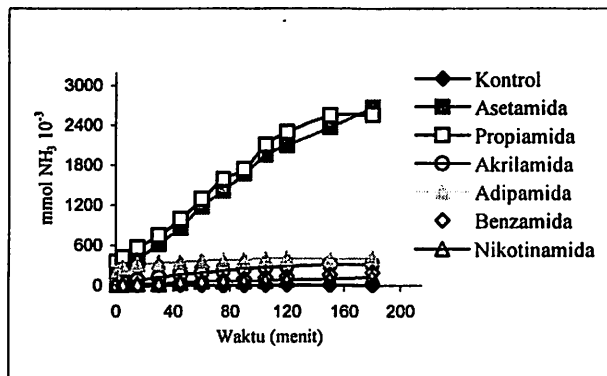
seperti asetonitril, propionitril, dan akronitril dengan aktivitas tertinggi yaitu pada asetonitril (Gambar 3). Hal ini membuktikan bahwa spesifisitas nitril hidratase sel *Corynebacterium* sp D5 pada senyawa nitril alifatik dengan BM yang rendah. Gambar 4 menunjukkan pola degradasi amida oleh enzim amidase. Amidase mempunyai spesifisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan nitril hidratase, karena relatif masih dapat mendegradasi amida dengan BM tinggi seperti benzamida dan nikotinamida meskipun relatif lebih rendah bila dibandingkan dengan amida alifatik.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi Asetonitril terhadap pertumbuhan *Corynebacterium* sp. D5

Konsentrasi AsCN (%)	Pertumbuhan (OD 436 nm)	
	3 hari	7 hari
0.5	2.161	2.449
1	2.635	2.932
2	4.221	4.204
3	2.417	3.120
4	0.401	0.727
5	0.014	0.743



Gambar 3. Aktivitas Nitril hidratase dari *Corynebacterium* sp. D5 pada berbagai senyawa nitril



Gambar 4. Aktivitas amidase *Corynebacterium* sp. D5 pada berbagai senyawa amida

Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase diamati pada kisaran suhu 5-60⁰ C. Aktivitas maksimal nitril hidratase dicapai pada suhu 30⁰C, aktivitas enzim nitril hidratase mengalami penurunan diatas suhu optimum tersebut (Gambar 5 & Tabel 3).

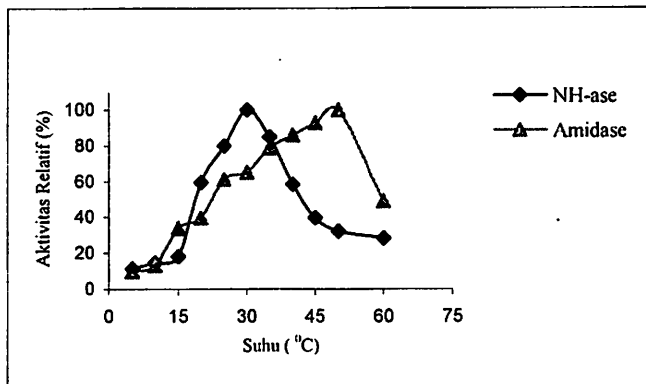
Dengan demikian suhu merupakan faktor yang cukup berpengaruh terhadap aktivitas enzim nitril hidratase dari

Corynebacterium sp. D5.. Acharya & Desai (1997) melaporkan, bahwa suhu optimum nitril hidratase ekstrak bebas-sel *Rhodococcus erythropolis* A10 pada suhu 30⁰C. Sedangkan aktivitas maksimal enzim nitril hidratase murni dari *Arthrobacter* sp. J-1 (Asano *et al.*, 1982) adalah pada suhu 35⁰C.

Aktivitas enzim amidase semakin meningkat hingga suhu 50⁰C. Hal yang sama dilaporkan oleh Asano *et al.* (1982), bahwa enzim amidase murni dari

Tabel 3. Pengaruh suhu terhadap aktivitas nitril hidratase dan amidase dari sel *Corynebacterium* sp. D5

PH	Aktivitas enzim (mmol NH ₃ min ⁻¹ mg ⁻¹ sel)	
	Nitril Hidratase	Amidase
5	0,7601 x 10 ⁻⁴	0,1186 x 10 ⁻⁴
10	0,9519 x 10 ⁻⁴	0,1424 x 10 ⁻⁴
15	1,2199 X 10 ⁻⁴	0,3723 x 10 ⁻⁴
20	3,9788 x 10 ⁻⁴	0,4320 x 10 ⁻⁴
25	5,3575 x 10 ⁻⁴	0,6652 x 10 ⁻⁴
30	6,7028 x 10 ⁻⁴	0,7095 x 10 ⁻⁴
35	5,6813 x 10 ⁻⁴	0,8576 x 10 ⁻⁴
40	3,9104 x 10 ⁻⁴	0,9354 x 10 ⁻⁴
45	2,6751 x 10 ⁻⁴	1,0101 x 10 ⁻⁴
50	2,1570 x 10 ⁻⁴	1,0887 x 10 ⁻⁴
60	1,9016 x 10 ⁻⁴	0,5356 x 10 ⁻⁴



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap aktivitas Nitril hidratase dan amidase *Corynebacterium* sp. D5

Arthrobacter sp. J-1 menunjukkan aktivitas maksimal pada suhu 55°C. Amidase yang masih menunjukkan aktivitasnya pada suhu tinggi seperti dilaporkan oleh Hirrlinger *et al.* (1996)

disebabkan oleh struktur molekul amidase yang sangat kompleks, berbobot molekul 480.000 serta adanya ikatan sulfida sehingga sulit terdenaturasi.

Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Nitril Hidratase dan Amidase dari *Corynebacterium* sp. D5

Seperti terlihat pada Gambar 6 dan Tabel 4, aktivitas maksimal enzim nitril hidratase dan amidase dari *Corynebacterium* sp. D5 masing-masing pada pH 6,6 dan 7,0. Hal ini membuktikan, bahwa enzim nitril

hidratase dan amidase dari sel utuh *Corynebacterium* sp. D5 bekerja optimum pada kisaran pH netral.

Babu *et al.* (1996) melaporkan, nitril hidratase dan amidase ekstrak bebas-sel *Pseudomonas marginalis* dan *Rhodococcus erythropolis* A10 (Acharya & Desai, 1997) mempunyai pH optimum pada pH 7.

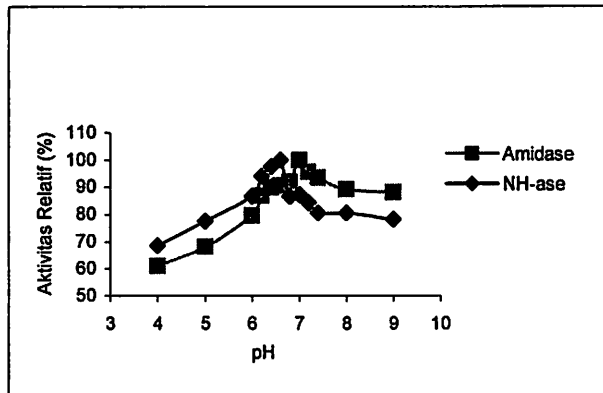
Tabel 4. Pengaruh pH terhadap aktivitas nitril hidratase dan amidase dari sel *Corynebacterium* sp. D5

PH	Aktivitas Enzim (mmol NH ₃ min ⁻¹ mg ⁻¹ sel)	
	Nitril Hidratase	Amidase
4,0	3,5752 x 10 ⁻⁴	1, 2060 x 10 ⁻⁴
5,0	4,0461 x 10 ⁻⁴	1,3440 x 10 ⁻⁴
6,0	4,5165 x 10 ⁻⁴	1,5725 x 10 ⁻⁴
6,2	4,8970 x 10 ⁻⁴	1,7153 x 10 ⁻⁴
6,4	5,0849 x 10 ⁻⁴	1,7745 x 10 ⁻⁴
6,6	5,2094 x 10 ⁻⁴	1,7836 x 10 ⁻⁴
6,8	4,5165 x 10 ⁻⁴	1,8175 x 10 ⁻⁴
7,0	4,5488 x 10 ⁻⁴	1,9230 x 10 ⁻⁴
7,2	4,3920 x 10 ⁻⁴	1,8366 x 10 ⁻⁴
7,4	4,2030 x 10 ⁻⁴	1,8434 x 10 ⁻⁴
8,0	4,2030 x 10 ⁻⁴	1,7595 x 10 ⁻⁴
9,0	4,0790 x 10 ⁻⁴	1,7362 x 10 ⁻⁴

Pengaruh Berbagai Logam terhadap Aktivitas Enzim

Pengaruh berbagai senyawa logam terhadap aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase ditampilkan dalam Tabel 5.. Dilaporkan, beberapa senyawa logam berpengaruh terhadap aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase, akan tetapi pada umumnya ion logam berat akan

menghambat aktivitas enzim (Chaplin & Bucke, 1990). Ion Fe²⁺ dan Co²⁺ dapat meningkatkan aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase yaitu pada konsentrasi masing-masing sebesar 5 mM dan 1mM (Tabel 6). Yamada dan Kobayashi (1996) melaporkan, bahwa enzim nitril hidratase mempunyai dua jenis kofaktor yaitu Co²⁺ dan Fe²⁺. Hal ini me-



Gambar 6. Pengaruh pH terhadap aktivitas Nitril hidratase dan amidase *Corynebacterium* sp. D5

Tabel 5. Pengaruh Logam terhadap Aktivitas Nitril Hidratase dan Amidase dari *Corynebacterium* D5

Logam (1mM)	Aktivitas Enzim (mmol NH ₃ min ⁻¹ mg ⁻¹ sel)	
	Nitril Hidratase	Amidase
Kontrol	4,2829 x 10 ⁻⁴	6,7844 x 10 ⁻⁴
KCl	4,5398 x 10 ⁻⁴	6,6487 x 10 ⁻⁴
CaCl ₂	4,7112 x 10 ⁻⁴	6,7844 x 10 ⁻⁴
MgCl ₂	4,5398 x 10 ⁻⁴	6,7166 x 10 ⁻⁴
CoCl ₂	5,2251 x 10 ⁻⁴	8,2091 x 10 ⁻⁴
FeSO ₄	5,8247 x 10 ⁻⁴	8,1413 x 10 ⁻⁴
CuSO ₄	3,9403 x 10 ⁻⁴	6,5130 x 10 ⁻⁴
Cr	4,4114 x 10 ⁻⁴	6,5808 x 10 ⁻⁴
ZnSO ₄	4,6255 x 10 ⁻⁴	7,0558 x 10 ⁻⁴
MnCl ₂	4,8825 x 10 ⁻⁴	6,9201 x 10 ⁻⁴
Ag ₂ SO ₄	2,2271 x 10 ⁻⁴	3,7992 x 10 ⁻⁴
Al ₂ (SO ₄) ₃	4,4114 x 10 ⁻⁴	6,7166 x 10 ⁻⁴
HgCl ₂	1,1992 x 10 ⁻⁴	2,0353 x 10 ⁻⁴

nunjukkan bahwa enzim nitril hidratase dan amidase sel *Corynebacterium* D5 meningkat aktivitasnya oleh ion Fe²⁺ dan

Co²⁺. Pengaruh ion Ag⁺ dan Hg²⁺ menurunkan aktivitas enzim nitril hidratase dan amidase sampai 50% dari

aktivitas relatifnya. Konsentrasi ion logam yang makin tinggi hingga 10 mM akan menurunkan aktivitas enzim (Tabel 6).

Pengaruh ion Ag^+ dan Hg^{2+} menurunkan aktivitas aktivitas enzim nitril

hidratase dan amidase (Tabel 6) sampai 50% dari aktivitas relatifnya. Konsentrasi ion logam yang makin tinggi hingga 10 mM akan menurunkan aktivitas enzim (Tabel 6).

Tabel 6. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ion terhadap Aktivitas Nitril Hidratase dan Amidase dari *Corynebacterium* D5

Logam	Aktivitas Enzim ($mmol NH_3 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ sel}$)	
	Nitril Hidratase	Amidase
Kontrol	$4,2829 \times 10^{-4}$	$6,7844 \times 10^{-4}$
$FeSO_4$	1mM	$5,8250 \times 10^{-4}$
	5mM	$6,2102 \times 10^{-4}$
	10mM	$5,4821 \times 10^{-4}$
$CoCl_2$	1mM	$5,2251 \times 10^{-4}$
	5mM	$5,9960 \times 10^{-4}$
	10mM	$4,4114 \times 10^{-4}$
Ag_2SO_4	1mM	$2,2271 \times 10^{-4}$
	5mM	$0,9422 \times 10^{-4}$
	10mM	$0,3683 \times 10^{-4}$
$HgCl_2$	1mM	$1,1992 \times 10^{-4}$
	5mM	$0,8994 \times 10^{-4}$
	10mM	$0,2570 \times 10^{-4}$

Hal ini menunjukkan, bahwa enzim nitril hidratase dan amidase *Corynebacterium* D5 mempunyai ikatan sulfhidril, karena ion Ag^+ dan Hg^{2+} merupakan pereaksi sulfidril. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Asano *et al.*(1982), bahwa enzim nitril hidratase dan amidase dari mikroba *Arthrobacter* sp. J-1 juga dihambat oleh Ag^+ (1mM) dan Hg^{2+} (0,01mM).

KESIMPULAN

Dari penelitian dapat ditunjukkan, bahwa enzim nitril hidratase sel *Corynebacterium* D5 merupakan enzim induktif yang diinduksi oleh asetonitril 2% (v/v), sedangkan amidase merupakan

enzim yang konstitutif. .Spesifisitas enzim nitril hidratase dan amidase sel *Corynebacterium* sp. D5 yaitu pada senyawa nitril/amida alifatik dengan 2-4 buah atom karbon, dan berbobot molekul rendah.

Aktivitas maksimum nitril hidratase dari *Corynebacterium* sp. D5 dicapai pada suhu 30^0 C dan pH 6,6 , sedangkan aktivitas maksimal enzim amidase pada suhu 50^0 C dan pH 7,2.

Ion logam Fe^{2+} dan Co^{2+} meningkatkan aktivitas enzim nitril hidratase pada konsentrasi 5 mM dan amidase pada konsentrasi 1mM, sedangkan pengaruh ion Ag^+ dan Hg^{2+} bersifat inhibitor terhadap kedua enzim tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, A. & A.J. Desai. 1997. Studies on utilization of acetonitrile by *Rhodococcus erythropolis* A10. *J. Microbiol. & Biotechnol.* 13:175-178.
- Asano, Y., Y. Tani, & H. Yamada. 1980. A new enzyme "nitrile hydratase which degrades acetonitrile in combination with amidase". *Agric. Biol. Chem.* 44:2251-2252.
- Asano, Y., K. Fujishiro, Y. Tani, & H. Yamada. 1982. Aliphatic nitrile hydratase from *Arthrobacter* sp. II: Purification and characterization. *Agric. Biol. Chem.* 46:1165-1174.
- Babu, G.R.V., O.K. Vijaya, V.L. Ros, J.H. Wolfram, & K.D. Chepatwala. 1996. Cell free extracts of *Pseudomonas putida* catalyzes the conversion cyanides, cyanates, thiocyanates, formamide, and cyanates containing mine waters into ammonia. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45:273-277.
- Chaplin & Bucke. 1990. *Enzyme Technology*. Cambridge University Press, Cambridge : 1-38.
- Di Gerenimo, M.J. & Antoine. 1976. Metabolism of acetonitrile and propionitrile by *Nocardia rhodochrous* LL100-21. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:900-906.
- Florkin, M. & E. H. Stotz. 1963. *Comprehensive Biochemistry*. Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, W.A. Wood, & N.R. Krieg. 1994. *Methods for General and Molecular Bacteriology*. American Society for Microbiology. Washington D.C.
- Harper, D.B. 1977. Microbial metabolism of aromatic nitriles. *J. Biochem.* 165:309-319.
- Hirrlinger, B., A. Stotz, & H. Knackmuss. 1996. Purification and properties of an amidase from *Rhodococcus erythropolis* MP50 which enantioselectively hydrolyzes 2-arylpropionamides. *J. Bacteriol.* 178:3501-3507.
- Linardi, V.R., J.C.T. Dias, & C.A. Rosa. 1996. Utilization of acetonitrile and other aliphatic nitriles by a *Candida famata* strain. *FEMS Mikrobiol. Lett.* 144:67-71
- Meyer, O. & H.G. Schlegel. 1983. Biology of aerobic carbon monoxide oxidizing bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 37 : 227-310
- Nagasawa, T., H. Shimizu, & H. Yamada. 1993. The superiority of the third generation catalyst, *Rhodococcus rhodochrous* II, Nitrile hydratase for industrial production acrylamide. *App. Microbiol. Biotechnol.* 40:189-195.
- Pfennig. 1974. *Rhodopseudomonas globiformis* sp.n. a New species of the Rhodospirillaceae. *Arch. Microbiol.* 100 : 197-206
- Purnomo, D. 2000. Biokonversi akrilonitril menjadi akrilamida dan asam akrilat oleh sel *Corynebacterium* D5. [Skripsi]. Jurusan Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Sunarko, B., Adityarini, U.S.F. Tambunan, & N. Sulistinah. 2000. Isolasi, Seleksi dan Karakterisasi Mikroba Pendegradasi Asetonitril dari Limbah Industri. *Berita Biologi* 5(2) : 177-185
- Yamada, H. & M. Kobayashi. 1996. Nitrile hydratase and its application to industrial production of acrylamide. *Bioschi. Biotech. Biochem.* 60:1391-1400.