PENGARUH PEMAPARAN MEDAN MAGNET 0,2 mT PADA MEDIA YANG MENGANDUNG LOGAM (Al, Pb, Cd, dan Cu) TERHADAP *Bacillus* sp. DALAM MENGHASILKAN PROTEASE

[The Influence of 0.2 Mt Magnetic Field Exposure on Media Containing Metal (Al, Pb, Cd, and Cu) on *Bacillus* sp. in the Producing of Protease]

Sumardi^{*}, Rochmah Agustina, Bambang Irawan dan Shofia Rodiah

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1, Gedung Meneng, Bandar Lampung, 35145, Indonesia
email: sumardi_bio@yahoo.co.id

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of 0.2 mT magnetic field exposure on metals (Al, Pb, Cd, and Cu) containing media, to proteolytic index of *Bacillus* sp., protease activity and cell morphology of *Bacillus* sp. This study consisted of three stages. The first stage was a proteolytic test on solid media containing milk. The second stage was the production of protease enzymes in liquid media. The third stage was Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis on a culture treatment known as protease enzyme activity. The results showed that the largest proteolytic index on CuCl₂ metal ion content of magnetic 0.2 mT magnetic field for 10 minutes increased the value of the largest proteolytic index was 4.33. While in the ion solution containing CdCl₂, *Bacillus* sp. culture did not grow. In the production of enzymes in the liquid medium, the highest enzyme activity (0.140 U/ ml) was produced on a medium containing AlCl₃ and exposed to magnetic fields. The SEM analysis also proved that the supplementation of AlCl₃ increased cell length by 2.38 and 2.78 times longer than control without magnetic field and for magnet field, respectively.

Key words: *Bacillus* sp., protease, magnetic field, metal ion

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemaparan medan magnet 0,2 mT pada media yang mengandung logam Al, Pb, Cd, dan Cu terhadap nilai indeks proteolitik *Bacillus* sp., aktivitas protease *Bacillus* sp. dan morfologi sel *Bacillus* sp. Penelitian ini terdiri tiga tahap. Tahap pertama yaitu uji proteolitik pada media padat yang mengandung susu. Tahap kedua yaitu produksi enzim protease pada media cair. Tahap ketiga yaitu analisa *Scanning Electron Microscopy* (SEM) pada perlakuan kultur yang diketahui aktivitas enzim proteasenya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks proteolitik terbesar pada larutan ion logam CuCl₂ yang paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit meningkatkan nilai indeks proteolitik terbesar yaitu 4,33. Sedangkan pada larutan ion yang mengandung CdCl₂, kultur *Bacillus* sp. tidak tumbuh. Pada produksi enzim di medium cair, aktivitas enzim tertinggi (0,140 U/ml) dihasilkan pada medium yang mengandung larutan ion AlCl₃ yang dipaparkan medan magnet. Hasil analisis SEM juga membuktikan bahwa pemberian logam AlCl₃ meningkatkan panjang sel hingga 2,38 kali dibandingkan kontrol tanpa medan magnet dan 2,78 kali untuk yang diberi medan magnet.

Kata kunci: *Bacillus* sp., Protease, Medan magnet, Ion logam

PENDAHULUAN

Protease termasuk enzim golongan hidrolase yang berperan dalam reaksi pemecah protein. Enzim ini dapat menghidrolisis ikatan peptida dan protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Protease dapat diproduksi oleh *Bacillus* dan berfungsi diluar sel. Beberapa enzim protease bakteri *Bacillus* berhasil diisolasi dari lingkungan seperti tanah rawa (Baehaki *et al.*, 2011), tanah gambut (Mahdiyah, 2015), ampas tahu (Badriyah dan Ardiyati, 2013), dan lain-lain. Produksi enzim dapat ditingkatkan dengan cara mengoptimalkan faktor-faktor lingkungan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, dan komposisi medium (Erika *et al.*, 2016).

Faktor lingkungan lain yang akhir-akhir ini banyak diteliti adalah medan magnet. Pemaparan

medan magnet pada substrat media dapat mempengaruhi karakteristik pertumbuhan dan jumlah sel bakteri (Hernawati *et al.*, 2016). Selain itu, diketahui juga bahwa kandungan ion logam dapat mempengaruhi aktivitas dan produksi enzim pada mikroba (Sumardi *et al.*, 2018b). Logam-logam yang diduga dapat mempengaruhi aktivitas *Bacillus* sp. antara lain Al, Pb, Cd, dan Cu. Logam-logam tersebut mempunyai sifat paramagnetik dan diamagnetik, yang apabila dikenai medan magnet dapat berpengaruh terhadap produksi protease. Potensi faktor ion logam dan medan magnet ini sangat berperan dalam peningkatan kualitas plasma nutfah di Indonesia. Dengan memperhatikan hal tersebut, maka penelitian pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada media yang mengandung logam

^{*}Kontributor Utama

^{*}Diterima: 19 Agustus 2019 - Diperbaiki: 1 Maret 2020 - Disetujui: 27 April 2020

Al, Pb, Cd, dan Cu terhadap nilai indeks proteolitik *Bacillus* sp., aktivitas protease *Bacillus* sp. dan morfologi sel *Bacillus* sp. sangat diperlukan. Pemilihan paparan medan magnet 0,2 mT menjadi faktor penting karena paparan tersebut menyebabkan pertumbuhan koloni sangat pesat dibandingkan dengan paparan yang lain (Sumardi *et al.*, 2019). Dengan demikian maka enzim-enzim yang terlibat dalam pertumbuhan tersebut bekerja secara maksimal.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilaksanakan pada 1 Juni 2017 – 30 Agustus 2017 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Botani FMIPA Unila, dan analisa SEM bakteri dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *spectrophotometer* model UV-1800 240V, no katalog 206-25400-38 no seri A11455008999 Shimadzu (Jepang) untuk mengukur aktivitas enzim protease; inkubator untuk menginkubasi bakteri pada suhu yang terkontrol; dan *laminar airflow* untuk perlakuan yang memerlukan kondisi aseptik, termasuk inokulasi bakteri; kumparan medan magnet sebesar 0.2 mT untuk pemberian treatment pada *Bacillus* sp.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolat *Bacillus* sp. yang diperoleh dari koleksi biakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila. Media untuk kultur yaitu media Mandels (Mandels dan Reese, 1956) yang dimodifikasi (NaCl 0,2 %, yeast extract 0,35 %, KH_2PO_4 0,245 %, MgSO_4 0,035 %, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,17 %, skim milk 0,5 % dan agar 1,5 %).

Tahap pertama penelitian dilakukan uji penentuan indeks proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media padat Mandels yang dimodifikasi. Perlakuan merupakan kombinasi larutan ion logam dan paparan medan magnet. Larutan ion logam yang digunakan adalah AlCl_3 , PbCl_2 , CdCl_2 dan CuCl_2 . Paparan medan magnet yang digunakan adalah 0,2 mT selama 10 menit ke larutan ion logam.

Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut
Perlakuan 1 (M-0). Perlakuan M-0 merupakan

perlakuan kontrol dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi tidak diberi paparan medan magnet dan tidak diberi larutan ion logam.

Perlakuan 2 (M-1). Perlakuan M-1 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam AlCl_3 . Larutan ion logam AlCl_3 tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 3 (M-2). Perlakuan M-2 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam AlCl_3 . Larutan ion logam AlCl_3 dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit.

Perlakuan 4 (M-3). Perlakuan M-3 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam PbCl_2 . Larutan ion logam PbCl_2 tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 5 (M-4). Perlakuan M-4 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam PbCl_2 . Larutan ion logam PbCl_2 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit.

Perlakuan 6 (M-5). Perlakuan M-5 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam CdCl_2 . Larutan ion logam CdCl_2 tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 7 (M-6). Perlakuan M-6 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam CdCl_2 . Larutan ion logam CdCl_2 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit.

Perlakuan 8 (M-7). Perlakuan M-7 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam CuCl_2 . Larutan ion logam CuCl_2 tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 9 (M-8). Perlakuan M-8 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mandels yang dimodifikasi dan diberi larutan ion logam CuCl_2 . Larutan ion logam CuCl_2 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit.

Pengamatan keberadaan zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri dilakukan setelah

kultur bakteri diinkubasi selama 18 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Terbentuknya zona jernih menunjukkan adanya aktivitas enzim protease. Nilai IP isolat ≥ 3 menunjukkan bahwa isolat memiliki potensi besar dan maksimal sebagai sumber protease (Said dan Likadja, 2012).

Koloni bakteri dan zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri, diukur diameternya dan ditentukan Indeks Proteolitik (IP):

Indeks proteolitik dapat dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{B}{A}$$

Keterangan :

IP : Indeks Proteolitik

A : Diameter Koloni

B : Diameter Zona Jernih (Sumardi *et al.*, 2010).

Tahap kedua penelitian yaitu produksi enzim protease pada media cair Mandels yang dimodifikasi dan diberi logam $AlCl_3$, $PbCl_2$, $CuCl_2$ dengan masing-masing konsentrasi yang digunakan adalah 0 ppm dan 30 ppm. Media yang digunakan mirip seperti pada uji penentuan indeks proteolitik, namun tidak menggunakan substrat agar. Sedang perlakuan yang digunakan juga mirip dengan dengan uji penentuan indeks namun tidak menggunakan larutan ion logam $CdCl_2$ karena di media tersebut larutan bakteri tidak tumbuh.

Produksi enzim dilakukan sesuai dengan perlakuan masing-masing pada media tanpa adanya penambahan agar. Produksi enzim dilakukan dengan menginokulasikan 5 ml starter *Bacillus* sp. yang telah diinkubasi semalam pada 45 ml media cair Mandels yang dimodifikasi dalam Erlenmeyer 250 ml dengan perlakuan sama seperti pada uji proteolitik. Semua perlakuan kultur diinkubasi pada inkubator goyang dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 40 °C selama 24 jam. Ekstrak kasar enzim protease yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.700 g selama 15 menit pada suhu 4 °C.

Enzim kasar tersebut selanjutnya diuji aktivitas proteasenya. Sebanyak 0.1 ml sampel protease ekstrak kasar ditambahkan pada 0.5 ml substrat kasein dalam bufer fosfat pH 7. Campuran kemudian

diinkubasi pada suhu 40 °C selama 10 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan 0,5 ml asam trikloroasetat (TCA) 0,1 M. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 40 °C selama 10 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 6.700 g dan suhu 4 °C selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 0,375 ml. Sebanyak 1,25 ml larutan Na_2CO_3 0,4 M dan 0,25 ml pereaksi Folin ditambahkan ke dalam supernatan tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit (Bergmeyer dan Grassl, 1983). Pengamatan dilakukan dengan mengukur optical density (OD) pada $\lambda = 578$ nm. Perhitungan untuk nilai blanko dilakukan dengan cara yang sama, dimana sampel protease diganti dengan aquades. Sedangkan perhitungan nilai standar dilakukan dengan mengganti sampel protease dengan tirosin 5 mM.

Aktivitas protease dihitung dalam satuan PU (Protease Unit) per ml ekstrak enzim. Satu unit aktivitas enzim protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dapat menghasilkan satu μ mol tirosin per menit pada kondisi pengukuran diukur menggunakan rumus sebagai berikut:

$$PU = \frac{A_{sp} - A_{bl}}{A_{st} - A_{bl}} \times \frac{1}{T}$$

Keterangan:

PU : Unit Aktivitas Protease (Unit/ml)

A_{sp} : Nilai Absorbansi Sampel

A_{st} : Nilai Absorbansi Standar

A_{bl} : Nilai Absorbansi Blanko

T : Waktu

Morfologi *Bacillus* sp. dengan pemeriksaan mikroskop elektron (SEM: *Scanning Electron Microscope*)

Analisa SEM merk ZEISS tipe EVOMA10 (Jerman) dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. Sampel bakteri yang telah diinkubasi semalam disiapkan dalam bentuk serbuk kering menggunakan *freeze dryer*. Sampel ditaburkan setipis mungkin pada *specimen stub* yang sudah dilapisi dengan *double tape carbon*. Tahapan berikutnya adalah pelapisan menggunakan *sputter coater* yaitu proses pelapisan pada permukaan sampel yang berfungsi untuk memperkuat sifat konduktif/daya hantar listrik. *Coating* dilakukan dengan menggunakan material

emas (*Au*) pada kuat arus 20 mA selama 60 detik. Sampel yang sudah dilapisi emas selanjutnya dipasang dalam *specimen holder* untuk dianalisa SEM (Singh *et al.*, 2017 dan Zeiss, 2019).

HASIL

Aktivitas proteolitik *Bacillus* sp.

Aktivitas proteolitik isolat *Bacillus* sp. yang di tandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni bakteri, menunjukkan bahwa isolat tersebut berpotensi menghasilkan protease (Gambar 1).

Aktivitas hidrolisis adalah fenomena yang menunjukkan adanya kemampuan bakteri proteolitik untuk membentuk zona jernih di sekitar isolat bakteri yang tumbuh dalam media selektif pertumbuhan yang mengandung susu sebagai substrat.

Nilai indeks proteolitik *Bacillus* sp. pada media padat

Hasil uji proteolitik dari ke-9 perlakuan menunjukkan terdapat tujuh perlakuan yang menghasilkan isolat yang mempunyai aktivitas proteolitik yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekeliling koloni bakteri. Aktivitas proteolitik tersebut ditunjukkan pada perlakuan M-0, M-1, M-2, M-3, M- 4, M-7, M-8. Pada perlakuan

M-5 dan M-6 tidak ditemukan adanya aktivitas proteolitik karena koloni bakteri tidak tumbuh (Gambar 2).

Hasil pengukuran nilai IP dari kesembilan perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan kontrol (M) menghasilkan rerata nilai IP yaitu 1,43. Rerata nilai IP meningkat setelah pemberian ion-ion logam Al, Pb dan Cu (M-1, M-3, dan M- 7) yaitu 1,63; 2,27; dan 3,7. Rerata nilai IP meningkat dua kali lebih besar setelah ion-ion logam yang digunakan diberi paparan medan magnet 0,2 mT selama 10 menit sebelum ditambahkan ke dalam media Mandels yang dimodifikasi (M-2, M-4, dan M-8) yaitu 2,3; 2,57; dan 4,33 (Gambar 2).

Aktivitas enzim protease *Bacillus* sp. pada media cair

Hasil pengujian aktivitas enzim protease menunjukkan rerata nilai aktivitas protease pada perlakuan kontrol (M-0) yaitu 0.031 U/ml. Nilai aktivitas protease menurun setelah penambahan ion-ion logam Al, Pb dan Cu pada media cair Mandels yang dimodifikasi (M-1, M-3, dan M-7) yaitu 0.016 U/ml, 0.023 U/ml, dan 0.030 U/ml. Nilai aktivitas protease meningkat setelah ion-ion logam tersebut dipapar medan magnet yakni: perlakuan M-2, M-4, dan M-8 yaitu 0.140 U/ml, 0.083 U/ml, dan 0.065 U/ml (Gambar 4).

Gambar 1. Zona jernih sebagai indikator aktivitas proteolitik *Bacillus* sp. (Clear zone as an indicator of proteolytic activity of *Bacillus* sp.)

Gambar 2. Koloni *Bacillus* sp. (A) dan zona jernih (B). [*Colony of Bacillus* sp. (A) and clear zone (B).]

Morfologi *Bacillus* sp. akibat paparan medan magnet 0,2 mT dengan pengamatan SEM

Morfologi sel *Bacillus* sp. mengalami perubahan akibat pemberian ion logam pada media Mandels yang dimodifikasi. Ion-ion logam yang diberikan (Al, Pb, dan Cu) baik yang dipapar maupun yang tidak dipapar medan magnet 0,2 mT sebelum ditambahkan pada media Mandels yang dimodifikasi menyebabkan perubahan pada ukuran sel *Bacillus* sp. pada fase logaritmik (umur semalam).

Ukuran panjang sel *Bacillus* sp. pada perlakuan kontrol, yaitu pada media Mandels yang dimodifikasi adalah 1,537 μm (Gambar 5). Ukuran

tersebut relatif lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Peningkatan ukuran sel juga disebabkan karena medan magnet mempengaruhi membran sel bakteri, sehingga mempengaruhi morfologi sel bakteri. Pada penelitian ini ukuran panjang sel bakteri meningkat 2,38 kali lebih besar setelah pemberian ion logam Al pada media dan meningkat 2,75 kali lebih besar setelah ion logam Al diberi paparan medan magnet 0,2 mT selama 10 menit (Tabel 1).

Paparan medan magnet pada ion logam Pb (M-4) meningkatkan ukuran panjang sel menjadi 1,708 μm dari 1,229 μm hasil perlakuan

Gambar 3. Rerata Nilai Indeks Proteolitik (IP) *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. (Average Index of Proteolytic (IP) of *Bacillus* sp.)

Gambar 4. Nilai Aktivitas Proteolitik *Bacillus* sp. pada setiap perlakuan. (Proteolytic activity of *Bacillus* sp. of every treatment.)

Gambar 5. Morfologi sel *Bacillus* sp. pada perbesaran 20.000 kali dengan Scanning Microscope Electron (SEM). (Cell morphology of *Bacillus* sp. was be magnification 20,000 x with scanning mircroscope electron)

penambahan ion Pb tanpa paparan medan magnet (M-3) (Gambar 5). Penambahan ukuran panjang sel bakteri sebagai akibat penambahan ion logam Cu yang diberi paparan medan magnet 0,2 mT sebelum ditambahkan pada media juga meningkatkan ukuran panjang sel bakteri. Ukuran panjang sel bakteri dari 1,511 μm (M-7) menjadi 1,617 μm (M-8).

PEMBAHASAN

Aktivitas enzim menghidrolis substrat protein susu ditunjukkan dengan kemampuan bakteri tumbuh menghasilkan zona jernih di sekitar koloninya. Menurut Rosliana (2009), susu merupakan media yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri proteolitik karena mengandung banyak

kasein. Kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalsenat. Kalsium kalsenat berukuran sangat besar dan tidak larut dalam air membentuk koloid berwarna putih dalam kultur media padat (Soeka dan Sulistiani, 2014).

Zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri menandakan hilangnya partikel kasein di media susu skim. Eksresi enzim proteolitik ekstraseluler bakteri ke media menyebabkan kasein dalam media terhidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam amino yang larut. Enzim ekstraseluler *Bacillus* sp. sangat efisien dalam mengurai berbagai senyawa karbohidrat, lipid, dan protein rantai panjang menjadi unit-unit rantai pendek atau

Tabel 1. Panjang Sel *Bacillus* sp. perbesaran 20.000x dengan SEM [Length of *Bacillus* sp. was be magnification 20,000x with scanning mircroscope electron (SEM).]

No	Perlakuan (Treatment)	Panjang Sel (µm) (Cell length) (µm)	Peningkatan Ukuran Panjang (Increasing length)
1	M-0	1.237	1
2	M-1	2.947	2,38
3	M-2	3.404	2,75
4	M-3	1.229	0,99
5	M-4	1.708	1,38
6	M-7	1.511	1,22
7	M-8	1.617	1,30

senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Yusufa *et al.*, 2012). Selanjutnya, paparan medan magnet 0,2 mT selama 10 menit pada ion-ion logam di dalam komposisi media Mandels yang dimodifikasi ternyata meningkatkan rerata nilai indeks proteolitik dibandingkan dengan yang tidak diberi paparan medan magnet. Ion-ion logam Al, Pb, dan Cu memiliki sifat kemagnetan paramagnetik pada ion logam Al dan diamagnetik pada ion logam Pb dan Cu. Ion logam Al pada awalnya memiliki arah medan magnet yang acak karena belum termagnetisasi.

Hasil pengamatan pada perlakuan M-5 dan M-6 tidak menunjukkan adanya aktivitas proteolitik. Hal tersebut membuktikan bahwa dalam penelitian ini, ion logam Cd menghambat pertumbuhan *Bacillus* sp. Dengan demikian maka tidak ada aktivitas proteolitik pada media pertumbuhan (Gambar 3). Jonak *et al.* (2004) mengatakan bahwa logam Cd memiliki sifat reaktif yang sangat tinggi dan dapat menginaktifkan berbagai macam aktivitas enzim yang diperlukan. Akibatnya proses respirasi redoks pada sel terganggu. Inaktif enzim disebabkan karena adanya penghambatan ion logam terhadap aktivitas protein enzim metallothionin pada konsentrasi tertentu. Konsentrasi ion logam tersebut berkaitan dengan kekuatan ion, dimana kekuatan ion itu sendiri mempengaruhi konformasi atau struktur tiga dimensi dari protein enzim (Richardson dan Hyslop, 1985). Hal inilah yang menyebabkan ion logam Cd bertindak sebagai inhibitor pada aktivitas proteolitik *Bacillus* sp., karena dengan penambahan ion logam Cd 0,01 % (100 ppm) ke dalam media padat Mandels yang dimodifikasi dapat

menyebabkan fase kematian lebih cepat dibandingkan dengan medium tanpa logam Cd. Menurut Verdian dan Zulaika (2015), bakteri beberapa *Bacillus* sp. akan mengalami kematian pada konsentrasi cadmium 50 ppm, dan bakteri masih dapat tumbuh pada konsentrasi 30 ppm atau lebih kecil lagi.

Menurut Almeida *et al.* (2009) Cd, merupakan logam berat yang memiliki efek toksisitas tinggi bagi organisme, bahkan pada tingkat konsentrasi yang rendah. Nies (1999) menambahkan bahwa logam berat dalam sel dapat berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) asam-asam amino sehingga menyebabkan terhambatnya kinerja enzim yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) yang memiliki peranan penting dalam proses metabolisme sel. Selain itu, kerja ion-ion fisiologis dapat terganggu oleh adanya logam berat. Senyawa oksianion logam berat apabila tereduksi dalam sel dapat menghasilkan radikal bebas yang akan berikatan dengan DNA sehingga dapat mengakibatkan mutasi.

Paparan medan magnet terhadap ion logam Cd tidak menyebabkan perubahan pada sifat induktor Cd pada pertumbuhan *Bacillus* sp. Logam Cd ketika dipapar medan magnet, tidak mengalami magnetisasi karena Cd termasuk logam yang bersifat diamagnetik. Diamagnetik adalah sifat suatu bahan yang memiliki resultan medan magnet atomis masing-masing atom atau molekulnya nol, sehingga apabila bahan diamagnetik diberi medan magnet eksternal, maka elektron-elektron dalam atom akan berubah gerakannya sehingga menghasilkan resultan medan magnet atomis yang arahnya berlawanan. Jika ion logam Cd

ditambahkan dalam media pertumbuhan bakteri yang melebihi ambang batas, maka akan mempengaruhi aktivitas metabolisme dari bakteri tersebut. Suatu bahan dapat bersifat magnet apabila susunan atom dalam bahan tersebut mempunyai spin elektron yang tidak berpasangan. Dalam bahan diamagnetik hampir semua spin elektron berpasangan, akibatnya bahan diamagnetik tidak dapat menarik garis gaya (Halliday *et al.*, 2013).

Pada perlakuan M-8, pemaparan medan magnet terhadap ion logam Cu menghasilkan isolat dengan nilai indeks proteolitik (IP) paling tinggi dan lebih tinggi dari nilai IP pada perlakuan M-7, dimana ion logam Cu yang ditambahkan pada media tidak diberi paparan medan magnet. Hasil ini membuktikan bahwa paparan medan magnet 0,2 mT pada CuCl_2 mampu meningkatkan daya induksi ion Cu terhadap aktivitas proteolitik *Bacillus* sp. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Arinda *et al.* (2012) yang menyebutkan bahwa pertumbuhan *Bacillus* meningkat dengan penambahan logam Cu sebanyak 30 ppm pada medium pertumbuhan.

Dalam penelitian ini ion logam Al, Pb, dan Cu dapat meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim disebut sebagai aktivator enzim, sedangkan ion logam yang menghambat aktivitas enzim disebut sebagai inhibitor enzim (Sumardjo, 2006). Ion-ion logam khususnya logam berat sangat mempengaruhi aktivitas enzim. Pada umumnya, logam berat menghambat aktivitas enzim dengan cara merusak sisi aktif enzim tersebut, sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat secara tepat. Hal ini menyebabkan penghambatan aktivitas dan degradasi protein enzim (Prasad dan Strzalka, 2002). Namun pada penelitian ini, logam berat Al, Pb, dan Cu meningkatkan aktivitas enzim *Bacillus* sp. Hal tersebut diduga karena *Bacillus* sp. memiliki kemampuan mengakumulasi logam berat melalui dua mekanisme yaitu mekanisme *active uptake* dan *passive uptake*. Bioakumulasi merupakan contoh mekanisme *active uptake*, yakni melibatkan metabolisme pada sel-sel hidup untuk pertumbuhan atau akumulasi intraseluler logam tersebut. Sedangkan contoh mekanisme *passive uptake* adalah biosorpsi, yaitu penyerapan logam yang terjadi karena interaksi ion logam dengan per-

mukaan sel bakteri. Bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion sedangkan logam berat adalah ion bermuatan positif sehingga dapat terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dan ion logam berat (Satya dan Larasati, 2012). Namun pada penelitian ini belum diketahui mekanisme seperti apa yang terjadi dalam mengakumulasi logam-logam berat tersebut.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa logam berat dapat menurunkan aktivitas pertumbuhan sel bakteri. Seperti penelitian Rakhmawati dan Yulianti (2016) yang membuktikan bahwa isolat bakteri termofilik D13 tidak mampu tumbuh pada media yang mengandung 10 ppm ion logam Cu. Ion-ion logam dengan mudah dapat berikatan dengan gugus sulfhidril protein dan bagian hidroksil dari fosfolipid (Devi dan Prasad, 1999). Ion-ion tersebut juga dapat mengganti ion-ion kalsium pada membran sel (Breckle dan Kahle, 1991). Semua peristiwa di atas dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menurunkan aktivitas transport spesifik sehingga merubah homeostasis ionik dan aktivitas enzim untuk metabolisme sel.

Pada penelitian ini, ion-ion logam Al, Pb, dan Cu sebelumnya bersifat inhibitor yang menurunkan aktivitas enzim. Akan tetapi, sifat ion-ion logam tersebut berubah menjadi *inducer* setelah dipaparkan medan magnet 0,2 mT selama 10 menit pada media cair Mandels yang dimodifikasi, dan menyebabkan aktivitas protease *Bacillus* sp. meningkat. Berdasarkan hasil tersebut *Bacillus* sp. yang digunakan dalam penelitian diduga mengalami perubahan ikatan antara ion logam dengan protease, sehingga terjadi peningkatan aktivitas protease. Hasil penelitian ini perlu dikaji lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. dalam mengakumulasi logam berat Al, Pb, dan Cu.

Pemaparan medan magnet 0,2 mT pada larutan Al, Pb, dan Cu dalam bentuk garam Al_2Cl_3 , PbCl_2 dan CuCl_2 menyebabkan momen dipol molekul-molekul tersebut menjadi terarah, sehingga kelarutannya menjadi lebih besar dibandingkan dengan kelarutan protein. Kondisi ini menyebabkan ion garam akan menarik molekul air dari protein enzim. Menurut Whitaker (1996),

logam dalam bentuk garam organik di dalam media dapat menyebabkan kestabilan enzim dengan cara menetralkan kelebihan muatan elektrostatis molekul enzim sehingga konformasi enzim dapat dipertahankan. Pendapat ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sumardi *et al.* (2018a) yang membuktikan bahwa dengan adanya penambahan ion Na^+ dalam bentuk garam NaCl pada media kultur yang dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit mampu meningkatkan aktivitas protease *Bacillus* sp. Sumardi *et al.* (2018b) menambahkan bahwa ion logam Fe dalam bentuk garam FeCl_3 pada konsentrasi 0,01 % yang telah dipapar medan magnet meningkatkan aktivitas enzim protease sebesar 0,06 U/ml dibandingkan sebelum dipapar medan magnet yaitu 0,005 U/mL.

Pemberian medan magnet juga berpengaruh langsung terhadap aktivitas metabolisme sel. Seperti hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hernawati *et al.* (2016) yang membuktikan bahwa pemaparan medan magnet pada medium pertumbuhan menyebabkan respon aktivitas relatif enzim selulase menjadi berfluktuasi yang cenderung meningkat, disebabkan adanya pengaruh sifat-sifat kimia dari unsur-unsur yang terdapat dalam medium kultur. Unsur-unsur kimia pada medium kultur tersebut juga diduga memiliki elektronegativitas, energi ionisasi, dan afinitas elektron yang berbeda sehingga menyebabkan aktivitas enzim selulase menjadi kurang stabil.

Secara umum medan magnet mempengaruhi arah migrasi dan mengubah laju pertumbuhan, mengubah aliran ionik yang melalui membran sehingga mengakibatkan perubahan kecepatan reproduksi sel (Sudarti *et al.*, 2014). Kekuatan medan magnet yang diberikan pada bakteri harus tepat karena kuat medan magnet yang terlalu besar justru akan menghambat pertumbuhan bakteri. Jika kuat medan magnet yang diberikan terlalu tinggi dan dalam paparan waktu yang tidak tepat akan menyebabkan metabolisme yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan sel atau menyebabkan perubahan pada struktur membran. Beberapa peneliti menduga bahwa tempat reaksi medan magnet dalam sistem biologi adalah plasma elektromagnetik membran (Setyasih *et al.*, 2013).

Peningkatan ukuran panjang sel bakteri yang paling tinggi diperoleh dari penambahan ion logam Al. Penambahan ion logam Al tanpa paparan medan magnet (MAI-0) yaitu 2.947 μm meningkat menjadi 3.404 μm pada perlakuan penambahan ion logam Al yang dipapar medan magnet (MAI-1). Hasil ini diduga penambahan ion logam Al yang diberi paparan medan magnet memacu metabolisme sel *Bacillus* sp. yang mengakibatkan terjadinya peningkatan ukuran panjang sel bakteri. Ion-ion logam seperti ion logam Al dengan mudah dapat berikatan dengan gugus sulfhidril protein dan bagian hidroksil dari fosfolipid (Devi dan Prasad 1999). Ion-ion tersebut juga dapat mengganti ion-ion kalsium pada membran sel (Breckle dan Kahle 1991). Semua peristiwa di atas dapat meningkatkan permeabilitas membran dan aktivitas enzim untuk metabolisme sel.

Ion logam Al pada organisme tidak termasuk kedalam unsur hara esensial. Keberadaan unsur ion logam Al pada tumbuhan justru menghambat pertumbuhan akar. Proklamasingih *et al.* (2012) membuktikan bahwa pemberian ion logam Al dalam bentuk garam pada media tanam akar kedelai menurunkan panjang akar kedelai dari 398,33 cm (perlakuan pemberian ion logam Al) menjadi 398,33 cm pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian ion logam Al). Penurunan panjang akar kedelai disebabkan karena terganggunya proses metabolisme di dalam sel-sel ujung akar yang mengakibatkan terjadinya penghambatan pemanjangan akar dan berubahnya morfologi sistem perakaran. Horst *et al.* (1999) menambahkan bahwa mekanisme penurunan panjang akar oleh Al disebabkan karena Al menghambat jalur apoplas pada dinding sel dan membran plasma yang dapat mengganggu proses masuknya unsur hara. Jalur apoplas adalah jalur masuknya unsur hara melalui ruang antar sel, kemudian menembus membran plasma yang akhirnya masuk ke dalam sel (Kvesitadze *et al.*, 2006).

Peningkatan ukuran relatif sel dapat terjadi setelah bakteri tersebut ditumbuhkan pada media yang mengandung ion logam diberi paparan medan magnet. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Setyasih *et al.* (2013) yang mengatakan bahwa

medan magnet dapat mengubah karakteristik membran sel, mempengaruhi reproduksi sel, menyebabkan perubahan pada metabolisme sel serta mempengaruhi karakteristik pertumbuhan. Menurut Talley dan Sleeper (1997), logam berat meski tidak secara esensial dibutuhkan tetapi dapat diakumulasi dan dimanfaatkan oleh mikroorganisme melalui berbagai mekanisme, seperti pertukaran ion pada dinding sel, reaksi pembentukan kompleks pada dinding sel, reaksi pembentukan kompleks intraseluler dan ekstraseluler dan biomasnya secara aktif dapat mengadsorpsi logam dalam bentuk gugus-gugus ionik pada permukaan sel dan lapisan polisakarida pada bakteri.

Berbeda dengan peran logam Al pada tumbuhan (Proklamasingih *et al.*, 2012), dalam penelitian dengan bakteri *Bacillus* sp. menunjukkan bahwa pemberian logam Al pada media pertumbuhan bakteri dapat meningkatkan ukuran panjang sel bakteri dibandingkan dengan media tanpa penambahan logam Al (Gambar 5). Pada tumbuhan, senyawa yang tidak dibutuhkan dikeluarkan dari sel dan disimpan di dalam dinding sel, sedangkan pada mikroba senyawa Al tidak masuk ke dalam sel tapi terakumulasi pada dinding sel. Ion logam Al diduga berperan dalam mempengaruhi kondisi kimia media, pH dan keseimbangan ion yang membantu proses metabolisme sel pada bakteri yang mengakibatkan terjadinya peningkatan ukuran panjang sel bakteri. Penelitian yang telah dilakukan oleh Gaafar *et al.* (2006) menjelaskan bahwa paparan medan magnet 2 mT selama 16 jam dapat meningkatkan ukuran panjang sel pada *Escherichia coli*.

Dalam penelitian ini, logam Al yang dipapar medan magnet dapat meningkatkan ukuran panjang sel bakteri *Bacillus* sp. sebesar 20 % dibandingkan dengan tanpa paparan medan magnet dan berbanding lurus dengan aktivitas proteolitik yang dihasilkan *Bacillus* sp (Gambar 4). Hal ini diduga karena adanya interaksi positif antara ion logam yang dipapar medan magnet dengan sel bakteri *Bacillus* sp. Ion logam berat yang pada umumnya merugikan karena bersifat toksik, namun pada penelitian ini menguntungkan *Bacillus* sp. Diduga terjadi proses mekanisme biosorpsi yang

berhubungan dengan eksopolisakarida pada dinding sel bakteri yang berfungsi sebagai pengkelat logam berat di permukaan sel, sehingga ion logam-logam berat seperti Al, Pb, dan Cu tidak meracuni sel bakteri. Molekul kompleks pada dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yang tersusun oleh molekul-molekul yang lebih sederhana antara lain fosforil, karboksil, dan asam amino yang mempunyai muatan negatif. Muatan negatif akan berinteraksi dengan ion atau molekul yang bermuatan positif di lingkungan luarnya sehingga berbentuk ikatan ligan. Ion logam Al bermuatan positif, sehingga secara elektrostatik akan terikat pada permukaan sel (Langley dan Baveridge, 1999). Interaksi antara ion logam dan dinding sel bakteri Gram positif *Bacillus* sp. menunjukkan adanya peranan gugus karboksil pada peptidoglikan dan gugus fosforil pada polimer sekunder asam teikoat dan teikuronat (Lloyd, 2002).

KESIMPULAN

Pada medium padat, indeks proteolitik *Bacillus* sp. terbesar pada medium yang mengandung CuCl_2 dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit (4,33). Pada medium yang mengandung CdCl_2 0,01% bakteri *Bacillus* sp tidak tumbuh. Pada produksi enzim di medium cair, aktivitas protease tertinggi dihasilkan pada medium yang mengandung larutan AlCl_3 dipapar medan magnet (0,140 U/ml). Hasil pengamatan SEM juga membuktikan bahwa pemberian logam AlCl_3 meningkatkan panjang sel hingga 2,38 kali dibandingkan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Riset penulis dibiayai oleh Hibah Penelitian Pascasarjana Universitas Lampung dengan kontrak No: 809/UN26.21/PP/2017, tanggal 27 Juli 2017

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, J.A., Barreto, R.E., Novelli, L.B., Castro, F.J. and Moron, S.E., 2009. Oxidative Stress Biomarkers and Aggressive Behavior in Fish Exposed to Aquatic Cadmium Contamination. *Neotropical Ichthyology*, 7, pp. 103–108.
- Arinda, T., Shovitri, M. and Zulaikha, E., 2012. Resistensi Bakteri *Bacillus* Terhadap Logam Berat. *Scientific Conference of Environmental Technology IX-2012*. ITS, Surabaya.
- Baehaki, A., Rinto, dan Budiman, A., 2011. Isolasi dan

- karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Inderalaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 22(1), pp. 40–45.
- Badriyah, B.I. dan Ardyati, T., 2013. Deteksi aktivitas proteolitik isolat bakteri asal ampas tahu pada substrat bekatul. *Jurnal Biotropika*, 1(3), pp. 109–113.
- Bergmeyer, H.V. and Grassl. 1983. Methods of Enzymatic Analysis. Vol II. Verlag Chemi. Weinheim.
- Breckle, S.W. and Kahle, H., 1991. Ecological geobotany/ autecology and ecotoxicology. In: Behnke HD, editor. Progress in botany. vol. 52. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag; pp. 391–406.
- Devi, S.R. and Prasad, M.N.V., 1999. Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, editors. Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems. Berlin: Springer-Verlag; pp. 99–116.
- Erika, R., Agustina, Sumardi, dan Mulyono. 2016. Optimasi media produksi xilanase dari *Bacillus* sp. *Jurnal selulosa*. 6(1), pp. 19–26.
- Gaafar, El-Sayed, A., Hanafy, M.S., Tohamy, E.Y. dan Ibrahim, M.H., 2006. Stimulation and control of *E.coli* by using an extremely low frequency magnetic field. *Journal Biophys*, 16(4), pp. 283–296.
- Halliday, D., Resnick, R. and Walker, J., 2013. Fundamentals of Physics Extended, 10th Edition. Wiley. p. 1448.
- Hernawati, W., Sumardi, Agustina, R. dan Yulianto, H., 2016. Pengaruh Pemaparan Medan Magnet Pada Media Mandel yang Dimodifikasi terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Selulase *Bacillus* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 16(2), pp. 76–84.
- Horst, W.J., Schmohl, N., Kollmeier, M., Baluska, F. and Sivaguru, M., 1999. Does aluminium affect root growth of maize through interaction with the cell wall-plasma membrane-cytoskeleton continuum? *Plant and Soil*, 215, pp.163–174.
- Jonak, C., Nakagami, H. and Hirt, H., 2004. Heavy Metal Stress. Activation MitogenActivated Protein Kinase Pathways by Copper and Cadmium. *Plant Physiology*, 136, pp. 3276–3283.
- Kvesitadze, G., Khatisashvili, G., Sadunishvili, T. and Ramsden, J.J., 2006. *Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Printed in Germany.
- Langley, S. and Baveridge, T.J., 1999. Effect of O-side chine Lipopolysaccharide Chemistry on Metal Binding. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, pp. 489–498.
- Lloyd, J.R., 2002. Bioremediation of metals, the application of microorganisms that make and break minerals. *Microbial Today*, 29, pp.67–69.
- Mandels, M. and Reese, E.T., 1957. Induction of cellulose in *Trichoderma viride* as influenced by carbon source and metals. *Journal of Bacteriology*, 73(2), 269–278.
- Mahdiyah, D., 2015. Isolasi Bakteri dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *Jurnal Pharmascience*, 2 (2), pp.71–79.
- Nies, D.H., 1999. Microbial heavy metal resistance: molecular biology and utilisation for biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, pp.730–750.
- Prasad, M.N.V. and Strzalka, K., 2002. *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p. 432.
- Rachmawati, A. dan Yulianti, E., 2016. Resistensi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Terhadap Logam Berat. Prosiding Seminar Nasional LPPM, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Richardson, T. and Hyslop, D.B., 1985. *Enzyme*, Mac Kerel Bekker, Inc. New York.
- Roslina, P., 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara.
- Proklamasiningsih, E., Prijambada, Rachmawati, I.D. dan Sancayaningsih, R.P., 2012. Pengaruh Pemberian Garam Aluminium (Al) Terhadap Serapan Al dan Pertumbuhan Akar Kedelai pada Media Tanam Masam. *Bionatura-Jurnal ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 14(2), pp.107–114.
- Said, M.I. dan Likadja, J.C., 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Penghasil Enzim Protease pada Industri Penyamakan Kulit Pt. Adhi Satria Abadi (Asa), Yogyakarta. Makalah Ilmiah. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Satya, A. dan Larasati. 2012. Kemampuan Isolat Bakteri dari Sedimen Situ sebagai Aquatic Bioremoval Agent Ion Logam Timbal (Pb). Prosiding Seminar Nasional VI Tahun 2012.
- Setyasih, N., Agustina, R., Handayani, T.T. dan Ernawati., E., 2013. Pengaruh Medan Magnet 0,3 mT terhadap Stomata Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Singh, R., Srivastava, M., Rohatgi, B., Kar, A. and Shukla, A., 2017. microwave assisted chemical pretreatment method for bio-ethanol production from rice straw. *Asian Journal of Chemistry*, 29(15), pp. 943–950. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2017.20190>
- Soeka, Y.S. dan Sulistiani. 2014. Karakterisasi Protease *Bacillus Subtilis* A1 Inacc B398 yang Diisolasi Dari Terasi Samarinda. *Berita Biologi*, 13(2), pp. 203–212.
- Sudarti, Nurhayati, Ruriani, E. and Hersa, V.T., 2014. Prevalence of Salmonella Typhimurium on Gado-Gado Seasoning by Treatment of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Field. *Artikel-ELF-Salmonella*. Jember University.
- Sumardi, C.N., Ekowati, dan Handayani, D., 2010. Isolasi *Bacillus* Penghasil Selulase dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *Jurnal Sains Mipa*, 16(1), 62–68.
- Sumardi, R., Agustina, Irawan, B. dan Pratiwi, A., 2018a. The Effect of Magnetic Field Exposure on Medium to Protease Production by *Bacillus* sp. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal*, 4(2), 2477–1392.
- Sumardi, Agustina, R., Irawan, B. dan Selviana, I., 2018b. Pengaruh paparan medan magnet pada ion logam Fe dan Zn dalam media pertumbuhan thdp produksi protease *Bacillus* sp. *Jurnal ilmu lingkungan – PS Ilmu Lingkungan UNIP*, 6(2), pp. 173–177.
- Sumardi, Agustina, R., Ekowati, C.N., Putra, R.O. and Hartono, M., 2019. The effect of magnetic field on antibiotic inhibition for *Escherichia coli* and *Bacillus* sp.
- Sumardjo, D., 2006. *Pengantar Kimia*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Talley, J.W. and Sleeper, P.M., 1997. Roadblocks to the Implementation of Biotreatment Strategies, dalam Rakes K.B dan Mark E.z (ed). *Bioremediation of Surface and Subsurface Contamination*. The New York Academy of Science. New York.
- Verdian T. dan Zulaika, E., 2015. Resistensi dan Viabilitas *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 pada Medium yang Terpapar Logam Kadmium (Cd). *Jurnal sains dan seni ITS*. 4(2), pp. 88–90.
- Whitaker, J.R., 1996. *Enzyme in Food Chemistry: Third Edition*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Yusufa, Mohammad, H., Masdiana, C., Padaga, Dyah, A. dan Octavianie. 2012. *Identifikasi dan studi aktivitas protease Bacillus sp asal limbah cair rumah potong ayam tradisional sebagai kandidat penghasil biodeterjen*. Universitas Brawijaya.
- Zeiss, C., 2019. Company of Carl Zeiss Microscopy GmbH. 0774 Jena. Germany. www.zeiss.com/evo