



UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

BIOTRANSFORMASI α -PINENA MENGGUNAKAN

Bacillus subtilis

Skripsi

diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

Program Studi Kimia

UNNES
oleh

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

Aris Tri Susanto

4311411026

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

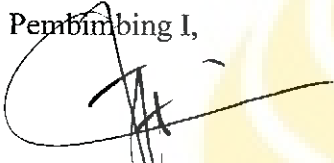
2017

PERSETUJUAN PEMBIMBING

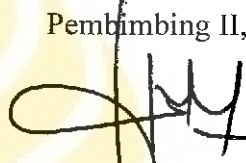
Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, Februari 2017

Pembimbing I,


Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP. 1969102311996032002

Pembimbing II,


Harjono S.Pd, M.Si
NIP. 197711162005011001


UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Biotransformasi α -pinena Menggunakan *Bacillus subtilis*

disusun oleh

Nama : Aris Tri Susanto

NIM : 4311411026

telah dipertahankan dihadapan Sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 22 Maret 2017

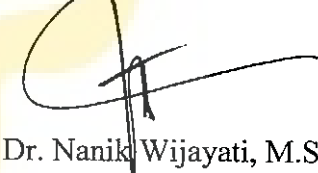
Panitia Ujian :

Ketua



Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M.Si, Akt
NIP. 196412231988031001

Sekretaris



Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP. 1969102311996032002

Ketua Penguji



Prof. Dr. Supartono, M.S

NIP. 195412281983031003

Anggota Penguji/

Pembimbing I

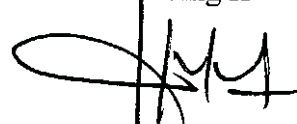


Dr. Nanik Wijayati, M.Si

NIP. 1969102311996032002

Anggota Penguji/

Pembimbing II



Harjono, S.Pd, M.Si

NIP. 197711162005011001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya :

Nama : Aris Tri Susanto

NIM : 4311411026

Judul Penelitian : Biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis*

Menyatakan bahwa penelitian ini adalah hasil karya Skripsi dan di dalam Skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka, apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini ,maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, Maret 2017



Aris Tri Susanto

4311411026

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO :

Orang yang Hebat tidak dihasilkan melalui *kemudahan, kesenangan, dan kenyamanan*. Mereka dibentuk melalui **kesukaran, tantangan, dan perjuangan**.

“Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain”

(QS. Al-Insyirah : 6-7)

PERSEMBAHAN :

Ayah dan Ibu tercinta yang dengan tulus memberikan kasih sayang, semangat, dan dorongan pada setiap langkah ini.

Kakakku yang selalu memberikan semangat menyelesaikan skripsi ini.

Teman-teman seperjuangan dan Almamater tercinta Unnes, serta semua pembaca yang bersedia meluangkan waktunya untuk membaca tulisan ini.

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis*”.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar sarjana Sains program studi kimia di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M.Si,Akt selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
2. Dr. Nanik Wijayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.
3. Dr. Nanik Wijayati, M.Si selaku Dosen Pembimbing I yang telah membagikan ilmu, memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
4. Harjono, S.Pd, M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan yang membangun dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Supartono, M.S selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran, evaluasi, dan pengarahan kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan dukungan dan ilmu pengetahuan selama penulis mengikuti pendidikan di kampus UNNES.
7. Segenap Karyawan dan Staf Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
8. Sahabat seperjuangan selama penelitian dan penyusunan skripsi, Dhonirul Machiril.
9. Teman-teman seperjuangan Kimia Angkatan 2011 serta semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi positif bagi para pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, Maret 2017

Penulis



ABSTRAK

Susanto, Aris Tri. 2017. *Biotransformasi α -pinena menggunakan Bacillus subtilis*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama : Dr. Nanik Wijayati, M.Si. dan Pembimbing Pendamping : Harjono, S.Pd, M.Si.

Kata kunci : α -pinena, biotransformasi, *Bacillus subtilis*.

Reaksi biotransformasi α -pinena oleh mikroorganismenya menghasilkan beberapa senyawa yang berharga. Banyak mikroorganismenya yang dapat digunakan untuk mengonversi α -pinena secara spesifik, salah satunya adalah *Bacillus subtilis*. Kultur *Bacillus subtilis* diuji aktivitasnya dalam mengonversi α -pinena menjadi senyawa turunannya. Uji aktivitas *Bacillus subtilis* berdasarkan sumber karbon utama dan lama waktu inkubasi. Sumber karbon utama yang digunakan pada medium biakan adalah sorbitol dan glukosa. Variasi lama waktu inkubasi berdasarkan fase hidup *Bacillus subtilis* yaitu 8, 10, dan 12 jam. Substrat α -pinena dikonversi menjadi senyawa turunannya yang dianalisis menggunakan GC (*Gas Chromatography*), FT-IR, dan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*). Berdasarkan hasil reaksi biotransformasi, glukosa lebih baik daripada sorbitol sebagai sumber karbon utama dengan menghasilkan pada lama waktu inkubasi 12 jam. Hasil reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Bacillus subtilis* ialah senyawa alkohol turunan α -pinena dengan kadar 67,69%.



ABSTRACT

Susanto, Aris Tri. 2017. *Biotransformation of α -pinene by Bacillus subtilis*. Undergraduate Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Primary Supervisor : Dr. Nanik Wijayati, M.Si., Supervising Companion : Harjono, S.Pd, M.Si.

keywords : α -pinene, biotransformation, *Bacillus subtilis*.

The biotransformation of α -pinene by micro-organism produce some valuable compounds. Many microorganisms that can be used to specific conversion of α -pinene, one is *Bacillus subtilis*. Culture of *Bacillus subtilis* were tested its activities in convert of α -pinene compounds to derivatives. Assay activity *Bacillus subtilis* major carbon source and based on the incubation time. The main carbon source used in the culture medium is sorbitol and glucose. Incubation time variations based on the phases of living *Bacillus subtilis* that is 8, 10, and 12 hours. The substrate α -pinene were converted to compound derivatives were analyzed using GC, FT-IR, and GC-MS. Based on the results of biotransformation reactions, glucose better than sorbitol as carbon source with primary produce on incubation time of 12 hours. Results of biotransformation of α -pinene by *Bacillus subtilis* is alcohol compound derivatives of α -pinene with 67,69%.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I : PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pohon pinus.....	5
2.2 Minyak Atsiri.....	6
2.3 Minyak Terpentin.....	6
2.4 α -pinena.....	7
2.5 <i>Bacillus subtilis</i>	9
2.6 Biotransformasi Senyawa Organik.....	11
2.7 Analisis dan Karakterisasi.....	14
2.7.1 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	14
2.7.2 <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	15
BAB III : METODE PENELITIAN	
3.1 Lokasi Penelitian.....	17
3.2 Populasi dan Sampel.....	17

3.3 Variabel Penelitian.....	17
3.4 Alat dan Bahan.....	17
3.5 Prosedur Penelitian.....	18
3.5.1 Isolasi α -pinena.....	18
3.5.2 Pembuatan medium biakan bakteri.....	18
3.5.3 Penentuan kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	19
3.5.4 Pembuatan kultur <i>Bacillus subtilis</i>	19
3.5.5 Biotransformasi α -pinena oleh kultur bakteri.....	19
3.5.6 Ekstraksi produk biotransformasi.....	19
3.5.7 Identifikasi produk biotransformasi.....	19
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Penentuan kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	21
4.2 Analisis α -pinena.....	22
4.3 Uji aktivitas <i>Bacillus subtilis</i> pada reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan komposisi medium sorbitol.....	24
4.3.1 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 8 jam.....	25
4.3.2 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 10 jam.....	26
4.3.3 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 12 jam.....	26
4.4 Uji aktivitas <i>Bacillus subtilis</i> pada reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan komposisi medium glukosa.....	28
4.4.1 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 8 jam.....	28
4.4.2 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 10 jam.....	29
4.4.3 Analisis hasil biotransformasi pada lama waktu inkubasi 12 jam.....	30
4.4.4 Analisis FTIR hasil reaksi biotransformasi α -pinena.....	32
4.5 Mekanisme Reaksi Biotransformasi α -pinena oleh <i>Bacillus subtilis</i>	35
BAB V : SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Sifat minyak terpenin.....	7
2.2 Sifat fisik α -pinena.....	8
2.3 Klasifikasi <i>Bacillus subtilis</i>	9
4.1 Data absorbansi biakan <i>Bacillus subtilis</i>	21
4.2 Sifat fisik senyawa α -pinena hasil isolasi	22
4.3 Interpretasi spektrum IR α -pinena.....	23
4.4 Interpretasi kromatogram GC hasil biotransformasi waktu 12 jam.....	31
4.5 Persentase hasil reaksi biotransformasi α -pinena.....	31
4.6 Interpretasi spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 8 jam	32
4.7 Interpretasi spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 10 jam.....	33
4.8 Interpretasi spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 12 jam.....	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.1 Struktur (-)- α -pinena dan (+)- α -pinena.....	1
2.1 Struktur karveol dan karvon.....	11
2.2 Reaksi biotransformasi α -pinena oleh <i>Bacillus pallidus</i>	12
2.3 Reaksi biotransformasi α -pinena oleh <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.4 Reaksi biotransformasi α -pinena menjadi verbenon.....	13
4.1 Kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	22
4.2 Spektrum IR α -pinena.....	23
4.3 Spektrum massa α -pinena.....	24
4.4 Skema fragmentasi α -pinena.....	24
4.5 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium sorbitol 8 jam.....	25
4.6 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium sorbitol 10 jam.....	26
4.7 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium sorbitol 12 jam.....	27
4.8 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium glukosa 8 jam.....	28
4.9 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium glukosa 10 jam.....	29
4.10 Kromatogram GC hasil biotransormasi pada medium glukosa 12 jam.....	30
4.11 Pengaruh waktu inkubasi terhadap hasil biotransformasi pada medium sumber karbon glukosa dengan lama inkubasi 12 jam.....	31
4.12 Spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 8 jam.....	32
4.13 Spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 10 jam.....	33
4.14 Spektrum IR hasil biotransformasi waktu inkubasi 12 jam.....	34
4.15 Perbandingan spektrum IR (1) α -pinena dengan spektrum IR hasil biotransformasi menggunakan medium glukosa pada lama inkubasi (2) 8 jam, (3) 10 jam, dan (4) 12 jam	35
4.16 Mekanisme reaksi biotransformasi α -pinena oleh (1) Savithiry, N. <i>et al.</i> (1998), (2) Agrawal, R. <i>et. al</i> (1999), dan (3) Rozenbaum, <i>et. al.</i> (2006)...	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram kerja penelitian.....	43
2. Hasil analisis IR α -pinena.....	46
3. Hasil analisis GC-MS α -pinena.....	47
4. Hasil analisis GC reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan <i>Bacillus subtilis</i> pada medium sorbitol.....	49
5. Hasil analisis GC reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan <i>Bacillus subtilis</i> pada medium glukosa.....	52
6. Hasil analisis IR reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan <i>Bacillus subtilis</i> pada medium glukosa.....	55

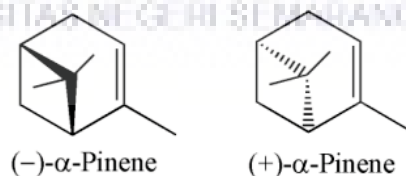


BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Terpentin merupakan salah satu produk unggulan non kayu PT Perhutani di Indonesia. Produksi minyak terpentin dari getah pinus sampai dengan bulan Desember 2012, dilaporkan mencapai 15.340 ton dengan luas hutan pinus sekitar 163.150 hektar. Adanya peningkatan permintaan industri atas minyak terpentin sebagai bahan baku farmasi, parfum, pelarut, resin dan polimer menyebabkan permintaan pasar terhadap minyak terpentin ini semakin meningkat setiap tahunnya serta didukung pula oleh adanya kecenderungan “*back to nature*” untuk memenuhi kebutuhan industri di Indonesia bahkan di dunia (Laporan Tahunan Perum Perhutani, 2012). Terpentin mempunyai aktivitas anti-inflamasi ditingkat sel, serta berpotensi untuk pencegahan beberapa penyakit terkait penurunan aktivitas sel syaraf. Terpentin juga mempunyai aktivitas dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* (Amini R., 2014). Komponen utama minyak terpentin ialah α -pinena. Minyak terpentin Indonesia mengandung sekitar 57-86% α -pinena, 8-12% δ -carene, dan golongan monoterpena yang lain dengan jumlah minor. Senyawa ini merupakan senyawa golongan terpenoid (monoterpen, C₁₀) (Masruri *et al.*, 2007). Struktur α -pinena disajikan pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1 Struktur (-)- α -pinena dan (+)- α -pinena

Senyawa α -pinena banyak ditemukan pada tanaman Indonesia terutama dari tanaman pinus dengan kadar 50-60%. Sastroamidjojo (2004) mengidentifikasi senyawa ini dalam daun dan bunga tanaman *Cosmos caudatus*, *Eupatorium odoratum*, dan *Parkia speciosa* dengan kadar 5-10%. Senyawa ini

diidentifikasi berasal dari tanaman *Tymus pectinatus* Fisch dengan kadar sekitar 3%. Senyawa ini bersifat non-polar (hidrofobik) dan secara umum tersusun atas atom hidrogen dan karbon dengan jumlah atom karbon 10 buah (Masruri dan A. Srihardyastuti, 2005). Di industri, α -pinena merupakan bahan dasar untuk sintesis senyawa-senyawa yang memiliki harga jual tinggi seperti terpineol, kamfor, bornil klorida, kamfena dan turunan lainnya. Sehingga semakin besar kandungan α -pinena dan semakin tinggi tingkat kemurniannya, maka kualitas minyak terpentin semakin baik dan harganya semakin tinggi (Amini R., *et al.*, 2014).

Salah satu cara untuk memperoleh senyawa-senyawa dengan harga jual tinggi tersebut adalah dengan reaksi biotransformasi α -pinena. Biotransformasi α -pinena dapat menghasilkan senyawa bisiklik, monosiklik, atau produk lainnya. Pada reaksi biotransformasi dibutuhkan peran mikroorganisme untuk mentransformasikan senyawa α -pinena menjadi senyawa-senyawa turunannya. Akan tetapi tidak semua mikroorganisme dapat mentransformasikan α -pinena menjadi senyawa turunan, hanya mikroorganisme yang mengandung enzim tertentu yang dapat mentransformasikan α -pinena, salah satunya *Bacillus spp.* Reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus sp.* khususnya *Bacillus pallidus* yang telah dilakukan oleh Savithiry, N., *et al.* (1998) dilaporkan bahwa kultur suspensi *Bacillus pallidus* mampu mentransformasikan α -pinena menjadi beberapa turunan pinena dengan produk utama karveol dan karvon. Produk utama ini dihasilkan dengan rendemen tertinggi pada penambahan 1 ml substrat dalam 100 ml suspensi *Bacillus pallidus*.

Bacillus sp. sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena mempunyai sifat-sifat seperti, memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, memiliki kemampuan enzimatik yang beragam, dan beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik. Selain itu yang utama adalah *Bacillus sp.* tidak membutuhkan faktor tumbuh yang relatif mahal (Atlas dan Bartha, 1987).

Bacillus sp. memiliki beberapa spesies, salah satunya adalah *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* merupakan mikroorganisme yang masih satu spesies dengan *Bacillus pallidus*, dimungkinkan dapat mentransformasikan senyawa α -pinena menjadi senyawa-senyawa turunannya. Selain memiliki karakteristik yang hampir sama, *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim amilase serta memiliki kemampuan membentuk endospora yang memungkinkannya dapat bertahan dalam kondisi ekstrim (Nakano M. dan Zuber Peter, 1998).

Pada penelitian ini, penulis mencoba menerapkan penggunaan mikroorganisme *Bacillus subtilis* pada reaksi biotransformasi α -pinena. *Bacillus subtilis* merupakan jenis mikroorganisme yang mudah diinokulasikan serta relatif tidak mahal dalam inokulasinya. Medium biakan *Bacillus subtilis* juga dapat disesuaikan berdasarkan penentuan fase hidup *Bacillus subtilis* yang optimal. Biotransformasi yang dilakukan Chen, *et al.*, 2008 menggunakan sumber karbon glukosa pada mediumnya, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Savithiry, *et al.*, 1998 menggunakan sumber karbon laktosa pada medium biakannya. Perbedaan penggunaan sumber karbon ini yang mendorong penulis untuk menentukan sumber karbon yang optimal pada biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis*. Metode yang digunakan pada reaksi biotransformasi ini adalah metode yang dikembangkan oleh Siddhardha, B., *et al.* (2011) yang telah dimodifikasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dibuat rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh lama waktu inkubasi terhadap hasil reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis* ?
2. Bagaimana pengaruh nutrisi sumber karbon medium biakan bakteri terhadap hasil reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijelaskan maka dapat dirumuskan tujuan sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh lama waktu inkubasi terhadap hasil reaksi biotransformasi α -pinena.
2. Mengetahui pengaruh nutrisi sumber karbon medium biakan bakteri terhadap hasil reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Bagi Peneliti
 - a. Memberi informasi mengenai penggunaan *Bacillus subtilis* untuk reaksi biotransformasi α -pinena.
 - b. Memberi informasi pengaruh lama waktu inkubasi dan komposisi sumber karbon utama pada medium biakan terhadap senyawa hasil biotransformasi α -pinena.
2. Bagi Pengembangan IPTEK

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai acuan dalam pengembangan reaksi-reaksi biotransformasi untuk meningkatkan nilai ekonomi bahan alam seperti minyak terpenin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pohon Pinus

Pinus merkusii merupakan satu-satunya jenis pinus yang tumbuh asli di Indonesia. *Pinus merkusii* termasuk dalam jenis pohon serba guna yang terus menerus dikembangkan dan diperluas penanamannya pada masa mendatang untuk penghasil kayu, produksi getah, dan konservasi lahan. Hampir semua bagian pohonnya dapat dimanfaatkan, antara lain bagian batangnya dapat disadap untuk diambil getahnya. Getah tersebut diproses lebih lanjut menjadi gondorukem dan terpentin. Gondorukem dapat digunakan sebagai bahan untuk membuat sabun, resin, dan cat. Terpentin digunakan untuk bahan industry parfum, obat-obatan, dan desinfektan (Dahlian dan Hartoyo, 1997).

Pinus merkusii Jungh et De Vriese atau sering disebut tusam merupakan salah satu jenis pohon yang mempunyai nilai produksi tinggi dan merupakan salah satu prioritas jenis untuk reboisasi di luar pulau Jawa. Di pulau Jawa, pinus atau tusam dikenal sebagai penghasil kayu, resin, dan gondorukem yang dapat diolah lebih lanjut sehingga mempunyai nilai ekonomi yang lebih tinggi seperti produksi α -pinena (Komarayati, *et al.*, 2002).

Kadar terpentin pada ketiga jenis *strain* pinus berbeda seperti dalam hal kandungan monoterpenanya. Kadar δ -3-karena lebih tinggi dari α -pinena yang berlawanan dengan keterangan dalam pustaka selama ini, kecuali untuk *strain* Tapanuli. Kadar limonene lebih banyak terdapat di *strain* Tapanuli, demikian pula untuk α -pinena. Dengan demikian variasi ekotipik lebih jelas terdapat pada *Pinus merkusii* (Siregar, E., 2005).

Harahap (2000) melaporkan bahwa komposisi asam gondorukem pada ketiga populasi yang diteliti (Aceh, Tapanuli, dan Kerinci) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dan lain halnya dengan komposisi terpentinnya. Kandungan α -pinena dan δ -3-karena sangat tinggi pada ketiga populasi (Siregar, E., 2005).

2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, minyak esensial karena pada suhu kamar mudah menguap. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Dalam keadaan segar dan murni, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Namun, pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap, diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan di tempat yang kering dan sejuk (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Minyak atsiri atau dikenal juga sebagai minyak eterik (*aetheric oil*), minyak esensial (*essential oil*), minyak terbang (*volatile oil*), serta minyak aromatik (*aromatic oil*), adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas. Minyak atsiri bersifat mudah menguap karena titik uapnya rendah. Selain itu, susunan senyawa komponennya kuat memengaruhi saraf manusia (terutama di hidung) sehingga seringkali memberikan efek psikologis tertentu.

Secara kimiawi, minyak atsiri tersusun dari campuran yang rumit berbagai senyawa, namun suatu senyawa tertentu biasanya bertanggung jawab atas suatu aroma tertentu. Sebagian besar minyak atsiri termasuk dalam golongan senyawa organik terpena dan terpenoid yang bersifat larut dalam minyak (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2.3 Minyak Terpentin

Istilah minyak atsiri terpentin merujuk pada minyak yang mengandung terpena, diperoleh dengan destilasi dari pohon pinus permata. Minyak ini juga disebut sebagai roh terpentin, pohon pinus mengandung terpena, pinus oleoresin, karet terpentin, minyak terpena, atau terpentin dari Bordeaux. Karena aromanya yang menenangkan, minyak terpentin digunakan dalam industri farmasi, industri parfum, aditif makanan, dan industri kimia lainnya (produk pembersih rumah tangga, lukisan, pernis, karet, insektisida) (Mercier, *et al.*, 2009).

Minyak terpentin sering disebut dengan *spirits of turpentine*, berupa cairan yang mudah menguap, berasal dari hasil penyulingan getah pinus, tidak berwarna (jernih), bau khas (keras), dan mudah terbakar. Getah yang disadap dari batang pinus mengandung sekitar 14,2% minyak atsiri. Minyak terpentin memiliki massa jenis (20°C) = 0,860-0,875, indeks bias (20°C) = 1,465-1,478, suhu penyulingan pertama = $150\text{-}160^{\circ}\text{C}$ pada 760mmHg. Di Indonesia, minyak terpentin hampir seluruhnya berasal dari *Pinus merkusii* dengan kandungan utama α -pinena (70-85%), dan komponen lain seperti β -pinena, Δ -karena dan δ -longifolena dalam jumlah yang relatif kecil (Sastrohamidjojo, 2004).

Tabel 2.1 Sifat minyak terpentin

Sifat	Keterangan
Penampakan fisik	cairan tak berwarna
Titik didih	$150\text{-}160^{\circ}\text{C}$
Titik lebur	-60 sampai -50°C
Densitas	$0,854\text{-}0,868\text{ g/cm}^3$
Kelarutan dalam air	tidak larut (larut dalam benzena, kloroform, eter, petroleum eter, minyak)
Bau	memiliki bau khas

Sumber: SNI 7633:2011 minyak terpentin

Terpentin merupakan bagian hidrokarbon yang mudah menguap dari getah pinus. Hidrokarbon ini dipisahkan dari bagian yang tidak menguap (gondorukem) melalui cara penyulingan. Komponen minyak terpentin yang utama adalah senyawa terpena hidrokarbon yang mudah menguap seperti α -pinena, β -pinena, kamfena, limonena, 3-karena, dan terpinolena (Chinn, 1989). Sifat minyak terpentin (pada umumnya) disajikan pada Tabel 2.1.

2.4 α -Pinena

α -Pinena atau 2,6,6-trimetil bisiklo [3.1.1]-2-heptena dengan rumus molekul $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ adalah cairan yang tidak berwarna dengan bau karakteristik seperti terpentin. Rumus strukturnya terdiri atas dua cincin yaitu siklobutana dan sikloheksena, maka dari itu α -pinena termasuk senyawa bisiklis. α -Pinena merupakan senyawa monoterpena, yaitu senyawa hidrokarbon tak jenuh yang

mempunyai 10 atom karbon dimana satuan terkecil dalam molekulnya disebut isoprena.

α -Pinena mempunyai kegunaan yang penting sebagai pembuat lilin, sintesis kamfer, pembuatan geraniol dan sebagainya. α -Pinena bila terkena cahaya senyawa ini dapat mengalami autooksidasi. Untuk menstabilkannya dapat dilakukan dengan menambah hidrokuinon (Sastrohamidjojo dan Pranowo, 2002).

α -Pinena merupakan komposisi utama dari kayu dan minyak dari beragam tanaman dan dapat juga diperoleh sebagai sub-produk industri kertas. α -pinena merupakan senyawa dengan cincin hidrokarbon bisiklikalmonoterpena sederhana dan umumnya digunakan sebagai substrat untuk biotransformasi. Sebagian besar α -pinena digunakan dalam industri aroma dan rasa sebagai bahan baku untuk sintesis produk bernilai tinggi. α -pinena adalah komponen utama terpenin dari sebagian konifer dan merupakan komponen minyak kayu dan daun dari berbagai tanaman lain (Rottava, Ieda, *et al.*, 2010).

Tabel 2.2 Sifat fisik α -pinena

Sifat-sifat α -pinena	
Rumus Molekul	$C_{10}H_{16}$
Massa molar	136,23 g mol ⁻¹
Warna	tak berwarna
densitas	0,858 g/mL (liquid at 20°C)
titik leleh	-64 °C (-83 °F; 209 K)
titik didih	155 °C (311 °F; 428 K)
kelarutan dalam air	Sangat rendah
kelarutan dalam asam asetat	Larut
rotasi kiral [α] _D	-50,7° (1S,5S-Pinena)

Sumber : <http://en.wikipedia.org/wiki/Alpha-Pinene>

Cincin beranggota empat dalam α -pinena menjadikannya suatu hidrokarbon reaktif, rentan terhadap penyusunan ulang skeletal seperti penataan ulang Wagner-Meerwein. Misalnya, pada reaksi hidrasi atau reaksi dengan hidrogen halida biasanya menghasilkan produk penataan ulang. Dengan asam sulfat pekat dan etanol menghasilkan produk utama terpineol dan etil eter,

sedangkan dengan asam asetat glasial membentuk asetat ester. Dengan asam encer akan membentuk produk utama terpin hidrat (Walkerma, 2006).

2.5 *Bacillus subtilis*

Menurut Atlas dan Bartha (1987), *Bacillus sp.* sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena mempunyai sifat-sifat seperti, memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob, memiliki kemampuan enzimatik yang beragam, dan beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik. Selain itu yang utama adalah *Bacillus sp.* tidak membutuhkan faktor tumbuh yang relatif mahal.

Bacillus subtilis merupakan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk batang (basil). *Bacillus subtilis* memiliki kemampuan untuk membentuk pelindung endospora yang memungkinkan organisme ini dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim. *Bacillus subtilis* diklasifikasikan sebagai bakteri aerob obligat, meskipun penelitian terbaru telah menunjukkan hal ini tidak sepenuhnya benar (Nakano, M., dan Zuber Peter, 1998). Klasifikasi *Bacillus subtilis* disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Klasifikasi *Bacillus subtilis*

klasifikasi ilmiah <i>Bacillus subtilis</i>
Domain: Bacteria
Phylum: Firmicutes
Class: Bacilli
Order: Bacillales
Family: Bacillaceae
Genus: <i>Bacillus</i>
Species: <i>B. subtilis</i>
penamaan binomial
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg 1835) Cohn 1872
sinonim
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Vibrio subtilis</i> • <i>Bacillus globigii</i>
Sumber : en.wikipedia.org/wiki/bacillus_subtilis

Bacillus subtilis terbukti dapat digunakan untuk manipulasi genetik, dan telah banyak digunakan sebagai model mikroorganisme untuk penelitian di laboratorium. Dalam hal popularitas sebagai model organisme laboratorium, *Bacillus subtilis* setara dengan Gram positif *Escherichia coli*.

Tipe liar isolat alam *Bacillus subtilis* sulit bekerja jika dibandingkan dengan strain laboratorium yang telah mengalami proses domestikasi mutagenesis dan seleksi. Strain laboratorium umumnya telah ditingkatkan kemampuan transformasinya (penyerapan dan integrasi DNA lingkungan), pertumbuhan, dan dihilangkan kemampuan yang diperlukan di lingkungan bebas. *Bacillus subtilis* umumnya digunakan dalam penelitian untuk menemukan sifat-sifat dasar dan karakteristik bakteri dalam membentuk spora Gram-positif (Earl, A. *et al.*, 2008).

Stabilitas yang tinggi pada *Bacillus subtilis* terhadap kondisi lingkungan yang keras membuat *Bacillus subtilis* digunakan untuk aplikasi probiotik baik dalam pasteurisasi makanan/minuman atau bentuk lain seperti tablet, kapsul, dan bubuk.

Manfaat lain dari *Bacillus subtilis* Earl, A. *et al.* (2008) meliputi:

- a. Strain *Bacillus subtilis* sebelumnya dikenal sebagai *Bacillus natto* digunakan dalam produksi makanan natto Jepang.
- b. Sebelum ditemukan antibiotik, *Bacillus subtilis* telah dikenal sebagai agen imunostimulan untuk membantu pengobatan penyakit saluran pencernaan dan saluran kencing. Sampai saat ini masih banyak digunakan sebagai obat alternatif.
- c. *Bacillus subtilis* dapat mengkonversi beberapa bahan peledak menjadi senyawa berbahaya dari nitrogen, karbon dioksida, dan air.
- d. Strain rekombinan pBE2C1 dan pBE2C1AB digunakan dalam produksi polyhydroxyalkanoates (PHA), dan limbah malt dapat digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi PHA dengan biaya yang lebih murah.
- e. *Bacillus subtilis* dapat digunakan untuk memproduksi enzim amilase.
- f. *Bacillus subtilis* sering digunakan sebagai organisme indikator selama prosedur sterilisasi gas, untuk memastikan siklus sterilisasi telah selesai dengan sukses.

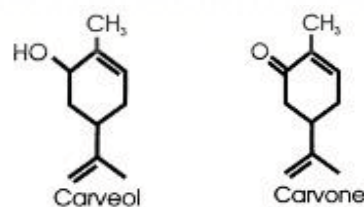
2.6 Biotransformasi Senyawa Organik

Biotransformasi merupakan salah satu aspek dari bioteknologi yang dapat diartikan sebagai penggunaan biokatalis untuk mengubah bahan mentah menjadi produk yang lebih berharga. Biokatalis yang digunakan dapat berupa enzim yang diisolasi atau seluruh sel mikroba (Kian *et al.*, 1997).

Biotransformasi merupakan reaksi multi tahap dan relatif kompleks, khususnya ketika tahap enzimatik membutuhkan kofaktor dan kemungkinannya menggunakan biokatalis yang berupa sel mikroba. Bahan mentah yang murah seperti glukosa, kompleks karbohidrat seperti pati, gula cair atau bahkan air buangan merupakan substrat favorit untuk biotransformasi. Sejumlah produk dapat berupa biotransformasi dari minyak dan lemak. Produk ini mungkin dapat menjadi aplikasi industri yang baru (Kian *et al.*, 1997).

Suksesnya biotransformasi suatu senyawa menjadi produk yang diharapkan, memerlukan tiga kondisi, yaitu (1) kultur harus mempunyai enzim yang diperlukan untuk biotransformasi suatu senyawa menjadi produk, (2) hasil akhir atau produk dibentuk lebih cepat dibandingkan metabolit lainnya, dan (3) kultur harus mampu mentoleransi penambahan suatu senyawa (Kian *et al.*, 1997).

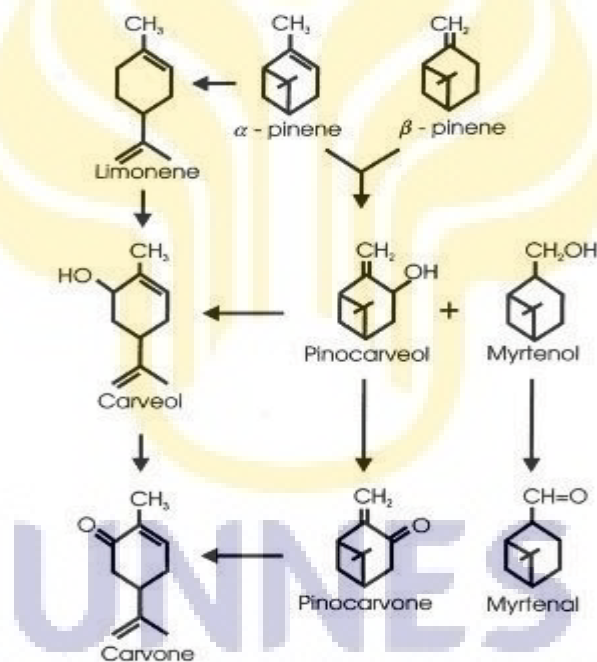
Reaksi biotransformasi yang telah dilakukan oleh Savithiry, N. *et al.* (1998) dilaporkan bahwa kultur suspensi *Bacillus pallidus* mampu melakukan biotransformasi α -pinena menjadi beberapa turunan pinena dengan produk utama karveol dan karvon. Reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Bacillus pallidus* disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 Struktur karveol dan karvon

Karveol adalah senyawa alkohol monoterpenoid monosiklik. Senyawa ini merupakan konstituen dari minyak esensial spearmint dalam bentuk *cis*-(-)-

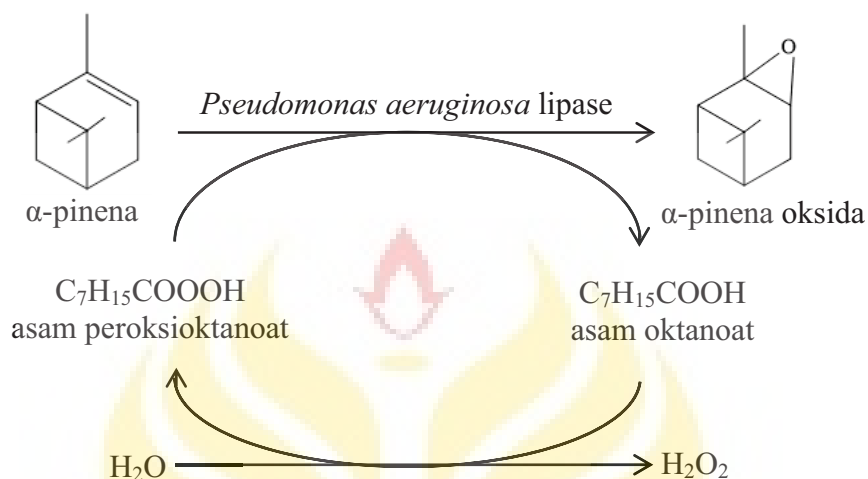
karveol. Karveol larut dalam minyak tetapi tidak larut dalam air, dan memiliki bau dan rasa yang mirip dengan spearmint dan jintan. Oleh karena itu, karveol dapat digunakan sebagai aroma dalam kosmetik dan sebagai aditif rasa dalam industri makanan. Sedangkan karvon merupakan senyawa terpenoid yang memiliki gugus keton. Karvon banyak ditemukan di alam berupa minyak esensial dari berbagai tumbuhan, tetapi yang paling melimpah berasal dari biji jintan (*Carum carvi*). Karvon dapat dimanfaatkan dalam industri makanan dan rasa, selain itu R(-)-Karvon juga digunakan dalam produk pengharum ruangan, dan aroma terapi yang digunakan dalam pengobatan alternatif (De Carvalho dan Da Fonseca, 2006).



Gambar 2.2 Reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Bacillus pallidus* (Savithiry, N. *et al.*, 1998)

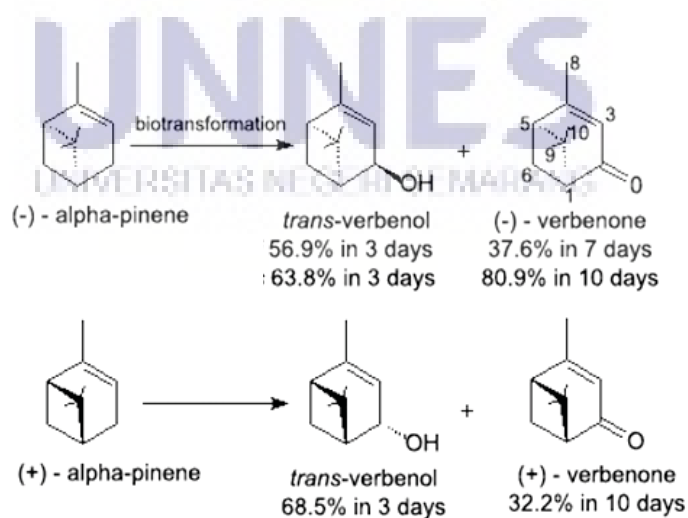
Reaksi biotransformasi α -pinena juga dapat menghasilkan produk berupa α -pinena oksida. Oleh Nanik Wijayati, *et al.* (2008), biotransformasi α -pinena dilakukan menggunakan biakan *Pseudomonas aeruginosa*. Biotransformasi yang dilakukan merupakan biotransformasi ekstraseluler yaitu reaksi biotransformasi yang terlebih dahulu mengekstrak biakan *Pseudomonas aeruginosa* untuk mendapatkan enzim lipase. Enzim lipase inilah yang kemudian dapat

mentransformasikan α -pinena menjadi α -pinena oksida. Mekanisme reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Pseudomonas aeruginosa* menjadi α -pinena oksida disajikan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Pseudomonas aeruginosa*

Reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan kultur *Aspergillus niger* yang dilakukan oleh Agrawal, R., dan Joseph, R. (1999) menunjukkan bahwa kultur *Aspergillus niger* mampu mengubah α -pinena menjadi verbenon dan verbenol. Reaksi biotransformasi α -pinena oleh *Aspergillus niger* disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi biotransformasi α -pinena menjadi verbenon

Kultur *Aspergillus niger* dibiakkan dalam medium PDA dan PDB dengan sumber karbon utama adalah glukosa. Hasil biotransformasi adalah verbenon yang merupakan senyawa turunan α -pinena sebagai salah satu senyawa penyusun rasa terdapat pada strawberry, raspberry, dan biji-bijian harum (Agrawal, R., dan Joseph, R. 1999).

2.7 Analisis dan Karakterisasi

2.7.1 *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Spektroskopi inframerah atau *Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah metode analisis yang digunakan untuk identifikasi gugus fungsi dengan berdasarkan spektra absorpsi sinar inframerahnya. Metode ini dapat menentukan komposisi gugus fungsi dari senyawa sehingga dapat membantu memberikan informasi untuk penentuan struktur molekulnya. Sampel yang digunakan dapat berupa padatan, cairan, ataupun gas. Analisis dengan metode ini didasarkan pada fakta bahwa molekul memiliki frekuensi spesifik yang dihubungkan dengan vibrasi internal dari atom gugus fungsi.

Dalam spektroskopi inframerah, seperti halnya dengan tipe penyerapan energi yang lain maka molekul akan tereksitasi ke tingkatan energi yang lebih tinggi bila menyerap radiasi inframerah. Penyerapan radiasi inframerah merupakan proses kuantisasi dan hanya frekuensi (energi) tertentu dari radiasi inframerah yang akan diserap oleh molekul. Pada spektroskopi inframerah, inti-inti atom yang terikat secara kovalen akan mengalami getaran bila molekul menyerap radiasi inframerah dan energi yang diserap menyebabkan kenaikan pada amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Panjang gelombang oleh suatu tipe ikatan tertentu bergantung pada macam ikatan tersebut, oleh karena itu tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang karakteristik yang berlainan.

Akibatnya setiap molekul akan mempunyai spektrum inframerah yang karakteristik pada konsentrasi ukur tertentu, yang dapat dibedakan dari spectrum lainnya melalui posisi dan intensitas pita serapan, sehingga dapat digunakan untuk penjelasan struktur, identifikasi, dan analisis kuantitatif (Albertus Aditya, 2013).

2.7.2 Gas Chromatography (GC)

Kromatografi gas merupakan salah satu teknik pemisahan yang sering digunakan pada analisis kimia. Proses pemisahan komponen-komponen sampel dalam kromatografi gas berlangsung di dalam kolom berdasarkan interaksi komponen sampel dan fase diam. Komponen-komponen yang dipisahkan, didistribusikan diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak berfungsi membawa sampel, sedangkan fase diam berfungsi untuk mengadsorpsi atau partisi komponen. Interaksi tersebut dapat berupa adsorpsi atau partisi. Jika fase diamnya berupa padatan berpori, maka peristiwanya adalah adsorpsi, dan bila fase diamnya berupa cairan peristiwanya adalah partisi gas-cair.

Proses kromatografi gas mirip dengan peristiwa gabungan antara ekstraksi dan destilasi. Proses pemisahannya dapat dipandang sebagai serangkaian peristiwa partisi, dimana sampel masuk ke dalam fase cair, dan selang beberapa waktu akan teruap kembali. Interaksi antara fase gerak dan fase diam sangat menentukan berapa lama komponen-komponen dapat ditahan. Komponen yang mempunyai afinitas lebih rendah (tidak suka) terhadap fase diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sedangkan komponen-komponen dengan afinitas lebih besar (larut dengan baik) terhadap fase diam akan keluar dari kolom.

Kromatografi gas merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai beberapa jam untuk campuran yang mengandung 500-1000 komponen. Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktu retensi yang khas untuk setiap komponen. Waktu retensi adalah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan dalam kolom.

Prinsip kerja kromatografi gas yaitu sampel diinjeksikan ke dalam injector, sampel dibawa oleh gas pembawa masuk ke dalam kolom yang berisi padatan sebagai fase diam. Fase diam memiliki sifat dapat berinteraksi dengan komponen-komponen dalam sampel, sehingga dapat menghambat laju alir masing-masing komponen. Besarnya hambatan untuk masing-masing komponen berbeda, sehingga keluarnya sampel di ujung kolom tidak bersamaan. Komponen yang

keluar dari kolom dilewatkan ke detektor, signal dari detektor dikirim melalui amplifier ke rekorder dan dicatat sebagai kromatogram.

Penggunaan kromatografi gas dapat dipadukan dengan spektroskopi massa. Paduan keduanya dapat menghasilkan data yang lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya.

Kromatografi gas ini juga mirip dengan destilasi fraksional, karena kedua proses memisahkan komponen dari campuran terutama berdasarkan perbedaan titik didih (atau tekanan uap). Namun destilasi fraksional biasanya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dari campuran pada skala besar, sedangkan kromatografi gas digunakan pada skala yang lebih kecil (Monkbot and Rjwilmsi, 2014).



BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan dapat disimpulkan bahwa :

1. Berdasarkan variasi komponen sumber karbon utama pada medium yang digunakan untuk reaksi biotransformasi, sumber karbon sorbitol kurang baik digunakan untuk sumber karbon *Bacillus subtilis*. Hal ini karena sorbitol merupakan karbohidrat kompleks yang butuh waktu lebih lama untuk terurai sehingga *Bacillus subtilis* belum menunjukkan aktivitas terhadap substrat α -pinena selama inkubasi berlangsung 8, 10 dan 12 jam. Sedangkan sumber karbon glukosa dapat membantu *Bacillus subtilis* untuk bereaksi lebih cepat terhadap α -pinena sehingga terbentuk produk reaksi.
2. Lama waktu inkubasi berpengaruh terhadap hasil reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis* pada medium sumber karbon glukosa. Pada waktu inkubasi 8 dan 10 jam belum terbentuk hasil reaksi, namun pada lama waktu inkubasi 12 jam terbentuk produk biotransformasi dengan kadar 67,69%.
3. Produk biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis* pada medium sumber karbon glukosa adalah senyawa alkohol turunan α -pinena. Senyawa tersebut dimungkinkan adalah karveol, α -terpineol, verbenol, atau turunan α -pinena lainnya. Hal didasarkan pada hasil analisis kromatogram GC dan spektrum IR yang ditemukan gugus OH pada rentang puncak 3000-3700 cm^{-1} .

5.2 Saran

Berdasarkan kajian pengaruh sumber karbon dan lama waktu inkubasi reaksi biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis*, maka dapat diberikan saran sebagai berikut :

1. Biotransformasi α -pinena menggunakan *Bacillus subtilis* perlu dikaji lagi dengan melakukan variasi lain, seperti sumber karbon lain, variasi perbandingan jumlah *Bacillus subtilis* dengan substrat yang ditambahkan, variasi waktu inkubasi yang lebih lama, serta optimalisasi kondisi reaksi sehingga produk yang dihasilkan lebih selektif dan lebih optimal.
2. Lama waktu inkubasi dilakukan pada jam ke-12 atau lebih tinggi untuk mendapatkan kadar produk yang optimal, terutama pada medium sumber karbon sorbitol.
3. Biotransformasi dilakukan dengan menggunakan *Bacillus subtilis* galur murni untuk mendapat hasil terbaik.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas dan efektifitas *Bacillus subtilis* untuk mengkonversi α -pinena menjadi senyawa-senyawa turunan dalam kondisi optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, R., dan Joseph R.. 1999. Bioconversion of alpha pinene to verbenone by resting cells of *Aspergillus niger*. *Appl Microbiol Biotechnol* (2000) 53: 335±337
- Albertus, Aditya. 2013. *Spektrofotometer Inframerah Transformasi Fourier*, diakses pada 19 Juni 2014 melalui [http://id.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometer Inframerah Transformasi Fourier](http://id.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometer_Inframerah_Transformasi_Fourier).
- Amini, Rekfa Wika, Masruri, dan Mohamad Farid Rahman. 2014. Analisis Minyak Terpentin (Pinus Merkusii) Hasil Produksi Perusahaan Lokal Dan Perdagangan Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (Kg-Sm) Serta Metode Pemurniannya. *KIMIA.STUDENTJOURNAL*, Vol. 1, No. 1, pp. 147-153.
- Atlas, R.M. dan Bartha, R. 1987. Microbial Ecology, Fundamental and Application, 2nd edition. *The Benjamin Cumming Publishing Company, Inc. Menlo Par: California : 560 pp.*
- Chen, Jing, Yu-Guo Zheng, dan Yin-Chu Shen. 2008. Biotransformation of p methoxyphenylacetonitrile into p-methoxyphenylacetic acid by resting cells of *Bacillus subtilis*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* (2008) **50**, 147–153.
- Chinn, H. 1989. Turpentine-United States (CEH Data Summary). In: *Chemical Economics Handbook, SRI International, pages 596.5000A-596.5000O.*
- Dahlian, E, dan Hartoyo. 1997. Komponen Kimia Terpentin dari Getah Tusam (Pinus merkussi) Asal Kalimantan Barat. Info Hasil Hutan. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Bogor.* 4(1):38-39.
- De Carvalho, C. C. C. R, dan M. M. R. Da Fonseca. 2006. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chemistry : 95*, 413-422.
- Earl, Ashlee M., Richard Losick, dan Roberto Kolter. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA*
- Gunawan, D., Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Harahap, R. M. S.. 2000. Keragaman Sifat dan Data Ekologi Populasi Alam Pinus merkussi Di Aceh, Tapanuli, dan Kerinci. Prosiding Seminar Nasional Status Silvikultur 1999. Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada. *Jogyakarta. Hlm.* 228-231.
- Kian, Y.S., Ahmad, S., Lye, O.T. dan Choo, C.S. 1997. Biotransformation of Oils and Fats: A review. *Elais Journal.* 9 (1), 1-12.

- Komarayati S., Gusmailina, dan G. Pari. 2002. Pembuatan Kompos dan Arang Kompos dari Serasah dan Kulit Kayu Tusam. *Buletin Penelitian Hasil Hutan. Bogor.* 20(3):231-232.
- Laporan Tahunan Perum Perhutani. 2012. *Pemantapan proses bisnis menuju perhutani ekselen*, diakses pada tanggal 15 juni 2014 melalui http://perumperhutani.com/wpcontent/uploads/2013/07/ARA_Perhutani_2012_LOW.pdf
- Masruri, dan A. Srihardyastuti. 2005. *Reaksi Asiloksilasi-Hidroksilasi Terhadap Alfa-Pinena : Pemanfaatan Produk Reaksinya Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli*. Malang : Universitas Brawijaya.
- Masruri, Mohamad Farid Rahman, dan Tegas Imam Prasajo. 2007. Identifikasi dan uji aktifitas antibakteri senyawa volatil terpenoid minyak terpenin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Sciences)*, 19 (1), 32-35
- Mercier, Beatrice, Josiane Prost, Dan Michel Prost. 2009. The Essential Oil Of International Journal Of Occupational Medicine And Environmental Health. 2009;22(4):331 – 342. *Turpentine And Its Major Volatile Fraction (A- And B-Pinenes): A Review*.
- Monkbot, dan Rjwilmsi. 2014. *Gas chromatography–mass spectrometry*, diakses pada 19 Juni 2014 melalui http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry.
- Nakano, Michiko M., dan Zuber, Peter. 1998. Anaerobic Growth of A "Strict Aerobe" (*Bacillus Subtilis*). *Annual Review of Microbiology* 52: 165–90.
- Rottava, Ieda, Priscila F. Cortina, Eduarda Martello, Rogerio L. Cansian, Geciane Toniazzo, Octavio A. C. Antunes, Enrique G. Oestreicher, Helen Treichel, dan Debora de Oliveira. 2010. Optimization of α -Terpineol Production by the Biotransformation of R-(+)-Limonene and (-)- β -Pinene. *Appl Biochem Biotechnol* (2011) 164:514–523.
- Rozenbaum, H. F., M. L. Patitucci, O. A. C. Antunes, dan N. Pereira Jr. 2006. Production Of Aromas And Fragrances Through Microbial Oxidation Of Monoterpenes. *Brazilian Journal of Chemical Engineering. Vol. 23, No. 03, pp. 273 – 279*.
- Sastrohamidjojo, H. & Pranowo, H. D. 2002. *Sintesis Senyawa Organik*. FMIPA UGM.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Savithiry, Natarajan, Douglas Gage, Weijie Fu, dan Patrick Oriel. 1998. Degradation of Pinene by *Bacillus pallidus* BR425. *Kluwer Academic Publishers, 1998 Biodegradation* 9: 337–341.
- Siddhardha, Busi, M. Vijay Kumar, U. S. N. Murty, G. S. Ramanjaneyulu, dan S. Prabhakar. 2011. Biotransformation of α -Pinene to Terpineol by *Resting*

Cell Suspension of *Absidia corulea*. *Indian J Microbiol* (Apr–June 2012) 52(2):292–294.

Siregar, Edy Batara Mulya. 2005. *Pemuliaan Pinus Merkusii*. e-USU Repository.

Walkerma. 2006. *Alpha-Pinene*, diakses pada 15 Juni 2014 melalui <http://en.wikipedia.org/wiki/Alpha-Pinene>.

Wijayati, Nanik, Kusoro Siadi, Hanny Wijaya, dan Maggy Thenawidjaja. 2008. Biotransformasi α -pinena dari Minyak Terpentin dengan Enzim Lipase dari *Ps. Aeruginosa*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*

