

4-25-2009

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DAN KARAKTERISASI ENZIMNYA

Anja Meryandini

Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia.

Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia, ameryandini@yahoo.com

Wahyu Widosari

Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

Besty Maranatha

Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

Titi Candra Sunarti

Departemen Teknologi Industri Pertanian, FATETA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

Nisa Rachmania

Departemen Teknologi Industri Pertanian, FATETA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science>

Recommended Citation

Meryandini, Anja; Widosari, Wahyu; Maranatha, Besty; Sunarti, Titi Candra; Rachmania, Nisa; and Satria, Hasrul (2009) "ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DAN KARAKTERISASI ENZIMNYA," *Makara Journal of Science*: Vol. 13: Iss. 1, Article 7.

Available at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science/vol13/iss1/7>

This Article is brought to you for free and open access by the Universitas Indonesia at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in Makara Journal of Science by an authorized editor of UI Scholars Hub.

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DAN KARAKTERISASI ENZIMNYA

Authors

Anja Meryandini, Wahyu Widosari, Besty Maranatha, Titi Candra Sunarti, Nisa Rachmania, and Hasrul Satria

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DAN KARAKTERISASI ENZIMNYA

Anja Meryandini^{1,2*)}, Wahyu Widosari², Besty Maranatha², Titi Candra Sunarti³,
Nisa Rachmania², dan Hasrul Satria⁴

1. Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

2. Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

3. Departemen Teknologi Industri Pertanian, FATETA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

4. PS Bioteknologi, Sekolah Pasca Sarjana IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

*)E-mail: ameryandini@yahoo.com

Abstrak

Empat isolat bakteri selulolitik telah dikarakterisasi. Pengukuran aktivitas enzim selulase ekstrak kasar dilakukan pada hari optimum produksi enzim selulase tiap isolat dengan modifikasi metode Miller (1959) pada substrat selulosa murni seperti CMC (*Carboxymethyl cellulose*), Avicel dan Kertas saring Whatman No. 1 serta substrat selulosa kompleks seperti jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang. Selulase dari isolat C4-4, C5-1, C5-3 and C11-1 memiliki aktivitas optimum berturut-turut pada pH 5, 70°C, pH 3.5, 90°C, pH 5, 80°C and pH 8, 70°C. Avicel adalah substrat yang sesuai untuk selulase C4-4, sedangkan tiga isolat lainnya substrat yang sesuai adalah CMC. Isolat C4-4 memiliki aktivitas selulase tertinggi pada substrat kulit pisang. Isolat C11-1 memiliki aktivitas enzim selulase tertinggi pada substrat jerami padi sedangkan selulase C4-4 pada kulit pisang. Selulase dari bakteri isolat-isolat C5-1 dan C5-3 memiliki aktivitas enzim selulase yang relatif rendah dalam mendegradasi substrat limbah pertanian. Namun isolat C5-1 dan isolat C5-3 memiliki aktivitas yang tinggi pada substrat kulit pisang.

Abstract

Isolation of Cellulolytic Bacteria and Characterization of the Enzyme. Four of cellulolytic bacteria isolates had been characterized. The determination of cellulase activity was conducted at the highest production time, using crude enzymes with the modification of Miller methods (1959) on pure cellulose substrates such as CMC (*Carboxymethyl cellulose*), Avicel and Filter paper Whatman No. 1 as well as agriculture waste such as rice straw, corn cob and banana peel. Cellulase from C4-4, C5-1, C5-3 and C11-1 showed optimum activity at pH 5, 70°C, pH 3.5, 90°C, pH 5, 80°C and pH 8, 70°C, respectively. Avicel is a appropriate substrate for C4-4 cellulase whereas CMC for the other three. C11-1 cellulase has the highest cellulase enzyme activity on rice straw substrate whereas C4-4 cellulase on banana peel substrates. C5-1 and C5-3 cellulase have relatively low cellulase activities in degrading substrates of agriculture waste. However, isolates of C5-1 and C5-3 have high cellulase activities on banana peel substrates.

Keywords: bacteria, cellulolytic, cellulase, agriculture waste

1. Pendahuluan

Peningkatan produk pertanian diikuti pula oleh meningkatnya limbah hasil pertanian seperti jerami, tongkol jagung, batang kedelai, dan kulit pisang. Umumnya limbah hasil pertanian ini masih mengandung sejumlah nutrisi, sehingga dapat dikonversi menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi seperti kompos, pakan ternak atau digunakan sebagai medium pertumbuhan mikroba. Pemanfaatan limbah hasil pertanian ini akan menanggulangi masalah pencemaran. Limbah tersebut memiliki komponen utama lignoselulosa. Lignoselulosa terdiri atas tiga

polimer yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin [1]. Selulosa adalah polimer glukosa dengan ikatan β -1,4-glikosidik [2].

Penanganan limbah pertanian secara biologi dapat dilakukan dengan menggunakan enzim misalnya selulase. Selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri atas kompleks endo- β -1,4-glukonase (CMCase, C_x selulase endoselulase, atau *carboxymethyl cellulase*), kompleks ekso- β -1,4-glukonase (aviselase, selobiohidrolase, C_1 selulase), dan β -1,4-glukosidase atau selobiase [3].

Tanah merupakan habitat yang didominasi oleh mikroorganisme seperti bakteri, fungi, alga, dan protozoa [4]. Beberapa dekomposer seperti bakteri dan cendawan mampu menghasilkan selulase. Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri selulolitik asal tanah pertanian dan mengkarakterisasi enzimnya

2. Metode Penelitian

Isolasi dan seleksi bakteri selulolitik. Metode pengambilan sampel tanah dilakukan dengan cara mengambil sampel tanah pada kedalaman 10-20 cm. Sampel tanah yang diambil merupakan sampel komposit, kemudian dimasukkan dalam wadah plastik gelap berlabel. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan metode cawan sebar pada media CMC (1 g CMC; 0,02 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,075 g KNO_3 ; 0,05 g K_2HPO_4 ; 0,002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,004 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g ekstrak kamir, 1,5 g agar-agar bakto, dan 0,1 g glukosa). Koloni-koloni yang tumbuh dimurnikan dan diuji pertumbuhannya pada suhu 50°C dan aktivitas selulolitik dengan penentuan indeks selulolitik yang merupakan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni.

Pembuatan kurva tumbuh dan kurva aktivitas selulase. Sebanyak dua lup penuh bakteri diinokulasikan ke dalam 100 ml media CMC 1% cair dan diinkubasi dalam inkubator bergoyang. Setiap 24 jam dilakukan pengukuran kekeruhan sel dan aktivitas selulase. Enzim selulase ekstrak kasar didapat dengan melakukan sedimentasi hasil kultur pada kecepatan 8400 g selama 10 menit pada suhu 4°C. Aktivitas selulase diukur menggunakan metode [5]. Satu unit aktivitas selulase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μmol glukosa dalam satu menit. Satu unit aktivitas setara dengan 16,67 nkat (Dybkaer 2001) [6]. Kadar protein diukur menggunakan metode [7] dengan *bovin serum albumin* (BSA) sebagai standar protein.

Karakterisasi selulase. Karakterisasi enzim selulase meliputi penentuan pH dan suhu optimum serta substrat yang sesuai. Pengujian pada berbagai pH dilakukan pada pH 3 sampai dengan pH 9 dengan selang 0,5 unit menggunakan bufer sitrat fosfat 0,2 M (pH 3-5,5), bufer fosfat 0,2 M (pH 6-8) dan bufer tris-HCl 0,2 M (pH 8-9). Suhu yang digunakan adalah 30°C sampai dengan 90°C dengan selang 10°C dalam substrat CMC 1% dalam bufer pH optimum dan inkubasi selama 30 menit. Aktivitas pada berbagai substrat dilakukan dengan cara menguji aktivitas selulase pada CMC, avisel, Whatmann *filter paper* No. 1 serta beberapa substrat limbah pertanian dalam bufer dengan pH optimum dan diinkubasi pada suhu optimum.

Persiapan substrat limbah pertanian. Jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang dikeringkan terlebih

dahulu pada suhu 70°C dalam oven selama 3 hari. Kemudian masing-masing substrat dihaluskan menggunakan alat *blender* dan diayak dengan saringan 65 mesh. Substrat disterilisasi untuk mencegah kontaminasi.

Uji aktivitas enzim pada berbagai substrat. Sebanyak 5 ml substrat CMC dan avicel ditambahkan 5 ml enzim ekstrak kasar. Untuk substrat kertas saring, sebanyak 2,5 potong kertas saring $1 \times 6 \text{ cm}^2$ ditambahkan 2,5 ml bufer dan 5 ml enzim ekstrak kasar. Sebanyak 0,05 g substrat jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang ditambahkan 5 ml bufer dan 5 ml enzim ekstrak kasar. Reaksi antara substrat dan enzim ekstrak kasar dilakukan di dalam Erlenmeyer 100 ml selama 60 menit pada suhu optimum. Setelah itu reaksi dihentikan dengan menambahkan 50 μl NaOH 0,2 M atau dengan menginkubasinya pada suhu 100°C selama 15 menit. Untuk substrat CMC campuran substrat-enzim dipindahkan sebanyak 2 ml ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 ml DNS dan segera diinkubasi pada suhu 100°C selama 15 menit. Sebanyak 1 lembar kertas saring $1 \times 6 \text{ cm}^2$ dan 3 ml larutannya (enzim ekstrak kasar dan bufer) dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml DNS kemudian segera diinkubasi pada suhu 100°C selama 15 menit. Setelah waktu inkubasi campuran substrat avicel, jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang selesai segera ditambahkan 50 μl NaOH 0,2 M. Lalu suspensi tersebut disentrifus pada kecepatan 2500 rpm selama 25 menit. Sebanyak 2 ml supernatannya diambil dan ditambahkan 2 ml DNS lalu diinkubasi pada suhu 100°C selama 15 menit. Seluruh sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Konsentrasi substrat tiap Erlenmeyer adalah 1% (b/v) kecuali avicel 2% (b/v). Suhu inkubasi substrat-enzim serta pH larutan bufer disesuaikan dengan jenis isolat yang digunakan.

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi, seleksi dan kurva pertumbuhan bakteri selulolitik. Dari 31 isolat yang menghasilkan zona bening, 8 isolat mampu tumbuh pada suhu 50°C seperti yang tercantum pada Tabel 1. Empat isolat yang menunjukkan pertumbuhan yang baik pada suhu 50°C dipilih untuk diteliti lebih lanjut yaitu isolat C4-4, C5-1, C5-3 dan C11-1.

Setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Dalam penelitian ini, semua isolat tumbuh pada media cair CMC yang mengandung CMC 1% (b/v) sebagai komponen indukernya. Glukosa 0,1% (b/v) dan ekstrak khamir 0,2% (b/v) juga ditambahkan pada media sebagai pemacu tumbuh sel di fase awal [8]. Setelah glukosa pada medium tumbuhnya habis maka bakteri akan

memanfaatkan sumber karbon selulosa dengan mensintesis enzim selulase.

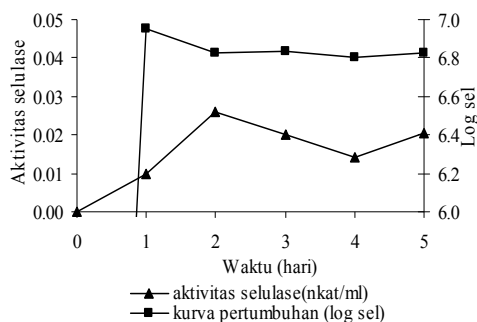
Puncak aktivitas dan waktu optimum untuk produksi enzim selulase isolat C5-3 dan C4-4 adalah hari ke-2 dengan aktivitas masing-masing sebesar 0,026 nkat/ml dan 0,390 nkat/ml (Gambar 1, dan Gambar 4), dan hari ke-3 untuk isolat C11-1 dan C5-1 dengan aktivitas masing-masing sebesar 0,413 nkat/ml dan 0,251 nkat/ml (Gambar 2, dan Gambar 3).

Pada Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3 terlihat bahwa aktivitas enzim selulase meningkat seiring dengan pertumbuhan selnya. Namun ketika sel mencapai fase stasioner, aktivitas enzim selulase menurun. Pada fase stasioner kecepatan pembelahan sel sama dengan kecepatan kematian sel dan lisis sel sehingga pada fase ini selain enzim selulase, enzim protease juga dihasilkan [9]. Hal ini menyebabkan turunnya aktivitas enzim selulase.

Waktu optimum produksi enzim digunakan sebagai waktu panen enzim untuk mendegradasi substrat limbah pertanian seperti jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang.

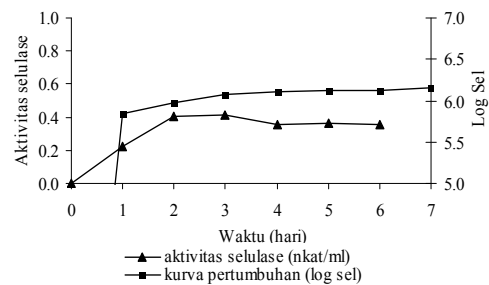
Tabel 1. Hasil Seleksi Pertumbuhan Isolat Bakteri Selulolitik pada Suhu 50°C Selama 48 Jam Serta Indeks Selulolitiknya

No	Kode Isolat	Uji Pertumbuhan 50°C	Indeks Selulolitik
1	C1-4	(+)	2,5
2	C2-4	(+)	3,0
3	C4-4	(+)	3,0
4	C5-1	(+)	5,5
5	C5-3	(+)	4,0
6	C8-2	(+)	3,5
7	C11-4	(+)	2,7
8	C11-1	(+)	2,2

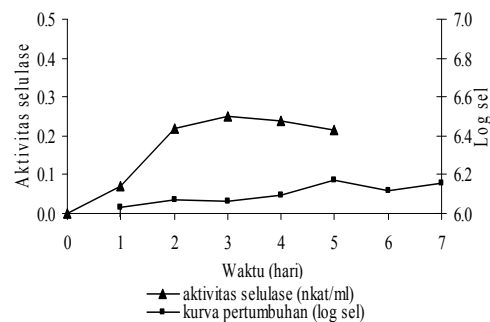


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Selulase Isolat C5-3. Aktivitas Enzim Selulase Diuji terhadap Substrat CMC pada Suhu 50°C, pH 7

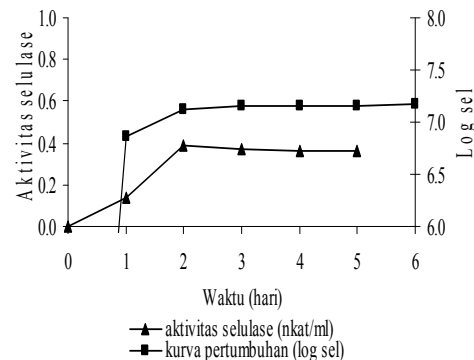
Pengaruh pH pada keenam isolat diuji pada masing-masing hari aktivitas tertingginya. Isolat C4-4 mencapai aktivitas tertinggi pada pH 5 (3,95 nkat/ml), isolat C5-1 pada pH 3,5 (3,74 nkat/ml), isolat C5-3 pada pH 5 (7,84 nkat/ml), isolat C11-1 pada pH 8 (3,01 nkat/ml) seperti terlihat pada Gambar 5.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Harian Selulase Isolat C11-1. Aktivitas Enzim Selulase Diuji terhadap Substrat CMC pada Suhu 50°C, pH 7



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Harian Selulase Isolat C5-1. Aktivitas Enzim Selulase Diuji terhadap Substrat CMC pada Suhu 50°C, pH 7

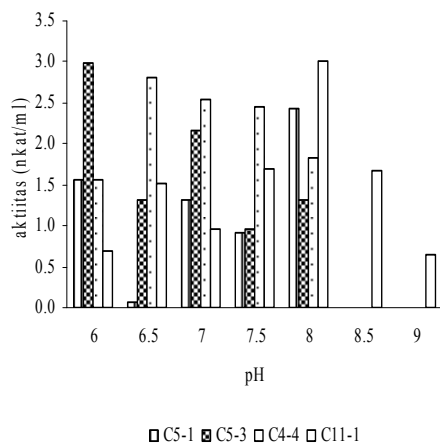
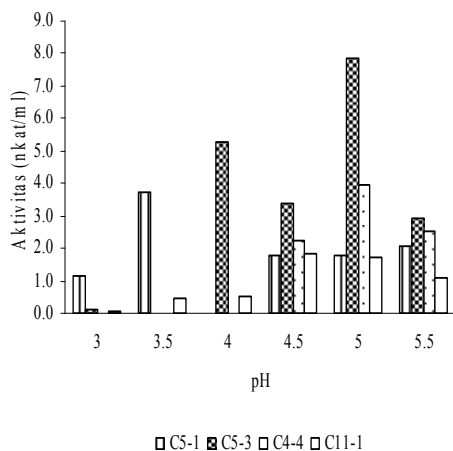


Gambar 4. Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Harian Selulase Isolat C4-4. Aktivitas Enzim Selulase Diuji terhadap Substrat CMC pada Suhu 50°C, pH 7

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. Perubahan pH atau pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah. Selain itu perubahan pH juga menyebabkan denaturasi enzim dan mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim [10].

Isolat-isolat yang dikarakterisasi menunjukkan keragaman pH optimum. Isolat-isolat ini merupakan bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah pertanian yang umumnya bersifat asam dan serasah yang umumnya bersifat alkali hingga netral. Isolat C4-4, dan C5-3 memiliki pH optimum pada pH asam. Isolat C5-1 memiliki pH optimum yang ekstrem asam dan C11-1 memiliki pH optimum yang alkalin.

Salah satu contoh bakteri selulolitik yang memiliki pH optimum ekstrem asam ialah *Clostridium acetobutylicum* dengan pH optimum 4,6 [11]. Kisaran pH untuk selulase tergolong luas, *Bacillus* sp. galur N-4

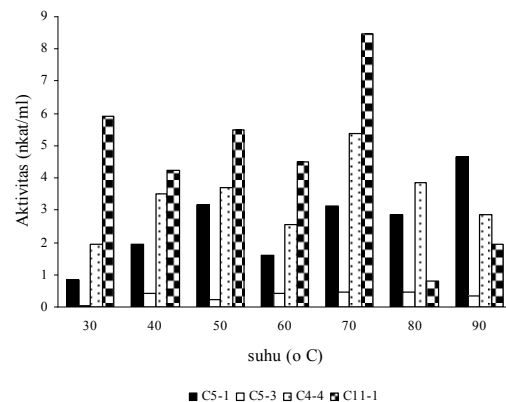


Gambar 5. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Selulase Isolat C4-4, C5-3, C5-1 dan C11-1 pada Suhu 50°C

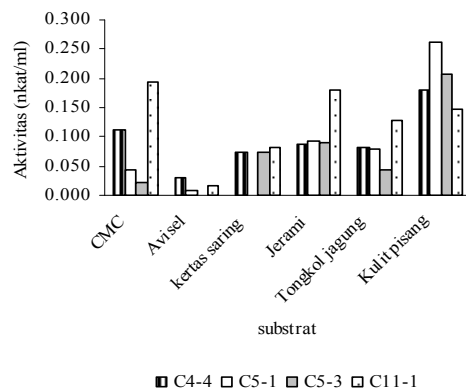
menghasilkan selulase yang aktif pada rentang pH 5 - 10 [12]. Aviselase yang merupakan salah satu enzim dari sistem enzim selulase memiliki pH optimum 4.5 dan 5 dengan rentang pH 4 - 9 [13]. CMCase cenderung optimum pada pH asam yaitu pada rentang 4 - 6.5 [14].

Isolat C4-4 mencapai aktivitas tertinggi pada suhu 70°C (5,37 nkat/ml), isolat C5-1 pada suhu 90°C (4,67 nkat/ml), isolat C5-3 pada suhu 80°C (0,45 nkat/ml), isolat C11-1 pada suhu 70°C (8,47 nkat/ml) seperti terlihat pada gambar 6. Selain pH, suhu memainkan peranan yang sangat penting dalam reaksi enzimatik. Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi. Ketika suhu lebih tinggi dari suhu optimum, protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat. Perubahan konformasi ini dapat menyebabkan enzim terdenaturasi [10]. Substrat juga dapat berubah konformasinya pada suhu yang tidak sesuai, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim.

Enzim yang memiliki aktivitas optimum pada suhu 50°C sampai dengan 80°C disebut termozim dan enzim yang memiliki aktivitas optimum di atas 80°C disebut hipertermozim [15]. Oleh karena itu selulase yang dihasilkan isolat C4-4, C5-3, dan C11-1 termasuk termozim. Selulase yang dihasilkan C5-1 termasuk hipertermozim. Beberapa contoh hipertermozim organisme yaitu *Thermoproteus tenax* yang tahan pada suhu 88°C dan *P. Furiosus* [16,17]. Kondisi alami bakteri selulolitik yang berperan sebagai dekomposer memungkinkan bakteri tersebut memiliki sistem enzim yang optimum pada suhu tinggi. [18] mengemukakan suhu pada proses pengomposan cenderung naik hingga 70°C.



Gambar 6. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Selulase Isolat C4-4, C5-3, C5-1 dan C11-1 pada pH Optimum Masing-masing Isolat



Gambar 7. Aktivitas Selulase pada Berbagai Substrat yang Diukur pada Suhu dan pH Optimum Masing-masing Isolat

Diantara substrat sintetik, isolat C5-1, C11-1, dan C4-4 memiliki aktivitas selulase optimum pada substrat CMC berturut-turut sebesar 0,042 nkat/ml, 193 nkat/ml, dan 0,112 nkat/ml (Gambar 7). Hal ini menggambarkan bahwa isolat C11-1, C5-1, dan C4-4 memiliki sejumlah besar endo-1,4- β -glukanase.

Isolat C4-4, C11-1, dan C5-3 memiliki aktivitas enzim selulase pada substrat kertas saring, yaitu selulosa sintetik campuran antara selulosa *amorphous* dan kristalin. Hal ini menunjukkan isolat tersebut memiliki sinergisme antara enzim endo-1,4- β -glukanase dan ekso-1,4- β -glukanase.

Isolat C11-1 relatif mampu mendegradasi jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang (Tabel 2). Isolat tersebut juga memiliki aktivitas yang tinggi pada selulosa murni (CMC, kertas saring dan Avicel). Hal ini menunjukkan bahwa isolat C11-1 memiliki enzim selulase yang potensial.

Pada pH dan suhu optimumnya, tiap isolat memiliki aktivitas optimum enzim selulase pada substrat sintetik yang berbeda. Substrat CMC merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk *amorphous* sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo-1,4- β -glukanase [19]. Endo-1,4- β -glukanase bekerja pada rantai dalam CMC menghasilkan oligo-sakarida atau rantai selulosa yang lebih pendek.

Aktivitas enzim selulase pada substrat Avicel yaitu substrat selulosa yang berbentuk kristalin [20], menunjukkan adanya aktivitas enzim ekso-1,4- β -glukanase, yang memotong ujung rantai oligo-sakarida menjadi selobiosa, yaitu dua molekul glukosa yang berikatan secara β -1,4- glikosidik. Semua isolat yang digunakan pada penelitian ini memiliki aktivitas enzim selulase pada substrat Avicel yang relatif rendah.

Dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa, enzim endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase, dan β -glukosidase bekerja secara sinergis (19). Setelah enzim endo-1,4- β -glukanase memotong bagian *amorphous*, ekso-1,4- β -glukanase memotong bagian ujung rantai selulosa kristalin menjadi gula pereduksi. Kemudian gula pereduksi tersebut diikat oleh larutan DNS (asam dinitrosalisilat) yang menghasilkan warna jingga. Semakin besar jumlah gula pereduksi yang dihasilkan semakin pekat warna pereaksinya. Tidak ditemukannya aktivitas enzim selulase isolat C5-1 pada substrat kertas saring kemungkinan karena sangat kecilnya aktivitas enzim ekso- 1,4- β -glukanase pada isolat tersebut.

Isolat C5-3, C5-1, dan C4-4 relatif kurang mampu mendegradasi jerami padi dan tongkol jagung. Aktivitas selulase yang rendah pada substrat sintetik (CMC dan Avicel) dan limbah jerami padi, dan tongkol jagung menunjukkan bahwa isolat C5-1 dan C5-3 memiliki enzim selulase yang kurang potensial untuk jenis substrat tersebut. Hal yang menghambat aktivitas selulase pada substrat jerami padi, dan tongkol jagung adalah komponen lignin. Lignin membungkus dan mengikat selulosa secara fisik sehingga menghalangi enzim selulase bekerja maksimal pada substrat.

Sekalipun memiliki aktivitas selulase yang relatif kecil terhadap substrat jerami padi dan tongkol jagung, isolat C5-1, C4-4 dan C5-3 memiliki aktivitas yang tinggi terhadap limbah kulit pisang yaitu 0,262 nkat/ml; 0,180 nkat/ml dan 0,21 nkat/ml. Hal ini mungkin disebabkan oleh kadar lignin yang terdapat pada kulit pisang lebih sedikit daripada tongkol jagung. Kadar silika pada kulit pisang juga lebih sedikit dibandingkan pada jerami padi.

Substrat jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang merupakan substrat selulosa yang tidak murni. Menurut Davendra (1982) yang diacu dalam (21), jerami padi terdiri atas 33% selulosa, 26% hemiselulosa, 7% lignin serta 13% silika. Komposisi serat tongkol jagung adalah 23,74% lignin, 65,96% selulosa, dan 10,82% hemiselulosa [22]. Robetson, menganalisis komposisi kulit pisang mentah berdasarkan analisis dinding sel (% berat kering) yaitu: 37,52% hemiselulosa, 12,06% selulosa, 7,04% lignin dan 0,36% silikan [23].

Selulosa terbungkus dan terikat secara ikatan kovalen maupun non-kovalen pada lignin dan hemiselulosa (1). Hemiselulosa maupun lignin akan mengganggu aktivitas enzim selulase yang hanya spesifik memotong ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa. Oleh sebab itu untuk meningkatkan luas permukaan substrat maka jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang diperkecil ukurannya sampai 65 mesh. Pengocokan pada saat inkubasi substrat-enzim juga memperbesar kontak antara enzim selulase dan komponen selulosa sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase.

Secara umum aktivitas enzim selulase tiap isolat lebih tinggi pada substrat limbah pertanian dibandingkan pada substrat selulosa murni. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh adanya enzim hemiselulolitik pada enzim ekstrak kasar yang diproduksi oleh bakteri. Bakteri *Clostridium cellulovorans* mensintesis enzim hemiselulolitik (xylA) saat tumbuh pada substrat selulosa seperti selobiosa (24). (24) juga menyatakan ekspresi enzim selulase berhubungan dengan ekspresi enzim hemiselulase. Kemungkinan hal ini juga dapat terjadi pada isolat yang digunakan pada penelitian ini.

4. Kesimpulan

Enzim dari keempat isolat yang diteliti termasuk ke dalam termozim. Isolat C11-1 relatif mampu mendegradasi ke 3 limbah pertanian (jerami padi, tongkol jagung dan kulit pisang). Isolat C5-1, C4-4 dan C5-4 memiliki aktivitas yang tinggi terhadap substrat kulit pisang.

Daftar Acuan

- [1] J. Perez, J. Munoz-Dorado, T. Rubia, J. Martinez, J Int Microbiol 5 (2002) 53.
- [2] T.I. Kim, K.H. Jeong, J.S. Ham, C.B. Yang, I.B. Chung, M.K. Kim, K.N. Kim, J. Compost Sci. Utiliz. 12 (2004) 242.
- [3] W. Crueger, A. Crueger, in: T.D. Brock. (ed.), Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, Minuaer Associates, Sunderland, 1984, p. 267-276.
- [4] R. Subba, Soil Microorganisms and Plant Growth, 3rd ed., Science Publisher Inc., New Hampshire, 1995, p.12-50
- [5] G.L. Miller, Anal Chem 31 (1959) 426.
- [6] R. Dybkaer, Pure Appl Chem 73 (2001) 927.
- [7] M.M. Bradford, Anal Biochem 72 (1976) 248.
- [8] D. White, The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes, Oxford University Press, New York, 2000, p. 180-211
- [9] A. Martina, N. Yuli, M. Sutisna, J. Natur. 4 (2002) 156.
- [10] A. Girindra, Biokimia I, PT Gramedia Pustaka, Jakarta, 1993, p. 91-113
- [11] E.R. Allcock, D.R. Woods, J Appl. Environ. Microbiol. 41 (1981) 539.
- [12] K. Horikhosi, J. Microbiol. Molec. Biol. Rev. 64 (1999) 735.
- [13] S. Walter, H. Schrempf, J. Applied and Environ. Microbiol. 62 (1996) 1065.
- [14] X. Li, P. Gao, J. Appl. Microbiol. 83 (1996) 56
- [15] D.W. Hough, M.J. Danson, Cur. Opini. Chem. Biol. 3 (1999) 39.
- [16] C. Andrade, N. Pereira, G. Antranikian, J. Rev. Microbiol. 30 (1999) 287
- [17] C. Vielle, G. Zeikus, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65 (2001) 1.
- [18] B. C. Saha, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30 (2003) 279.
- [19] L.R. Lynd, J.W. Paul, H. Willem, S.P. Isak, Microbiol. Molecul. Bio. Reviews 66 (2002) 506.
- [20] H. Kim, Appl. Environ. Microbiol. 61 (1995) 959.
- [21] Husnadjat, Skripsi Sarjana, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Indonesia, 1998.
- [22] F.M.R. Pratiwi, Skripsi Sarjana, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Indonesia, 2006.
- [23] E. Robetson, Karya Ilmiah, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Indonesia, 1993.
- [24] S.O. Han, H. Yukawa, M. Inui, R.H. Doi, J. Bacteriol. 185 (2003) 6067.