

Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler Isolat Bakter EG 2 Isolasi dari Bungkil Kelapa Sawit (*Elaeisis guineensis jacq.*)

Optimization of EExtracellular Cellulase Activity of Isolate Bacterial EG 2 Isolated from Palm Oilcake (Elaeisis guineensis jacq.)

Dian Puspitasari*, Muslimin Ibrahim

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: dianpuspitasari@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Selulase merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan dalam aplikasi industri. Faktor harga enzim merupakan kendala utama yang dihadapi industri berbasis enzim. Salah satu solusi yang dilakukan untuk menurunkan harga enzim adalah mengeksplorasi mikroba yang potensial sebagai penghasil selulase salah satunya isolat bakteri selulolitik EG 2 yang diisolasi dari bungkil kelapa sawit. Penelitian ini bertujuan menentukan suhu inkubasi optimum untuk aktivitas enzim selulase pada isolat bakteri selulolitik EG 2 dan menentukan pH optimum untuk aktivitas enzim selulase pada isolat bakteri selulolitik EG 2. Karakterisasi enzim ditentukan dengan menguji aktivitas enzim pada variasi suhu (35; 45; 55; 65; 75) °C ; variasi pH (5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0) kemudian diukur dengan metode asam 3,5 - dinitrosalisilat (DNS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri selulolitik EG 2 optimum pada suhu 65 °C dan pH 7,0 dengan aktivitas enzim sebesar 0,011 U/mL.

Kata kunci: bakteri selulolitik; aktivitas enzim; suhu; pH

Abstract. Cellulase is one of the enzymes used in many industrial applications. The enzyme price factor is the major problems faced in enzyme based industrial. One of the solutions to decrease the enzyme price is exploring the potential microbe as producers of cellulose, one of them is isolate bacterial cellulolytic EG 2 isolated from Palm Oil Cake. This study aimed to find the optimum incubation temperature for cellulase enzyme activity in isolate bacterial cellulolytic EG 2 and to find the optimum pH for cellulase enzyme activity in isolate bacterial cellulolytic EG 2. Enzyme characterization was determined by testing enzyme activity at temperature variations (35; 45; 55; 65; 75) °C, variations in pH (5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0) were measured by the method of 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS). The results showed that the EG 2 cellulolytic bacterial isolates were optimum at 65 °C and pH 7.0 with enzyme activity of 0.011 U/mL.

Key words: Cellulolytic Bacteria; enzyme activity; temperature; pH

PENDAHULUAN

Berkembangnya teknologi dalam bidang industri pangan dan non pangan, mikroba banyak digunakan untuk mendapatkan enzim dengan menghasilkan produk yang berkualitas dengan biaya produksi rendah dan efisien. Menurut Pertiwi (2017) pemanfaatan mikroorganisme merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam bidang industri dan mampu diproduksi secara ekonomis dengan waktu fermentasi yang singkat.

Pasar industri enzim di berbagai bidang aplikasi yaitu 45% pangan (termasuk 11% proses pengolahan pati), 34% deterjen, 11% tekstil, 3% industri penyamakan kulit, dan 1.2% serat kayu dan kertas (Demain & Adrio 2008). Aplikasi industri yang banyak digunakan yaitu enzim selulase. Howard *et al.* (2003) menyebutkan sekitar 8 juta US dolar hasil penjualan industri enzim dunia terdiri atas selulase, hemiselulase, dan pektinase. Nilai ini diduga akan terus bertambah seiring dengan meningkatnya

kebutuhan industri terhadap enzim-enzim tersebut. Bioteknologi yang menggunakan selulase dan hemiselulase telah dimulai sejak awal pada tahun 1980-an (Coral *et al.* 2001). Awalnya enzim ini hanya diaplikasikan pada pakan hewan dan industri pangan. Akan tetapi, saat ini penggunaannya sudah lebih berkembang. Menurut Zhang *et al.* (2006) selulase digunakan pada proses pemisahan tinta (*deinking*) dari serat kertas daur ulang dan juga untuk memodifikasi serat.

Salah satu kendala yang dihadapi industri dalam usaha mengomersilkan selulase adalah faktor harga enzim yang mencapai 50% dari biaya total proses hidrolisis (Sari, 2010). Suatu studi menunjukkan bahwa harga selulosa yang diproduksi tanpa hemiselulosa dan lignin sebesar 55 US dolar/mg sementara biaya selulase sebesar 2665 US dolar/mg (Howard *et al.* 2003). Biaya produksi ini dianggap sangat mahal bagi industri enzim (Kotchoni *et al.* 2006). Banyak penelitian yang telah difokuskan untuk menurunkan biaya produksi enzim. Solusi yang dianggap dapat mengatasi masalah ini antara lain eksplorasi mikroba penghasil selulase, pengembangan galur melalui rekayasa genetik, dan memperbaiki faktor-faktor produksi seperti pemilihan substrat, kondisi kultur, daur ulang enzim, dan redesain proses (Sari, 2010).

Enzim selulase termasuk enzim ekstraseluler yaitu enzim yang dihasilkan di dalam sel dan dikeluarkan ke media tumbuhnya untuk mendegradasi senyawa polimer. Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari tiga tipe enzim yakni endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Ketiga enzim tersebut bekerja sama untuk menghidrolisis selulosa yang tidak larut menjadi glukosa. Kemampuan enzim ini semakin dibutuhkan oleh industri yang memproduksi bioetanol dari bahan selulosa (Putri, 2016).

Selulase dapat dihasilkan oleh mikroba penghasil selulase baik pada kelompok bakteri, aktinomiset, dan fungi. Beberapa bakteri yang diketahui dapat memproduksi selulase antara lain *Clostridium thermocellum* (Howard *et al.*, 2003); *Salmonella thypimurium* (Yoo *et al.* 2004) dan *Cytophaga hutchinsonii* (Louime *et al.* 2006). Eksplorasi bakteri selulolitik yang potensial untuk dikembangkan dalam industri enzim perlu terus dilakukan untuk memproduksi enzim dengan biaya rendah. Mikroba yang dieksplorasi terutama yang belum diketahui aktivitas selulolitiknya.

Sitompul (2016), telah melakukan penelitian pengaruh waktu dan konsentrasi enzim selulase pada proses hidrolisis tandan kosong kelapa sawit menjadi glukosa, diperoleh hasil bahwa enzim selulase bekerja pada substrat selulosa pH 5 dan temperatur 60°C. Gayang (2013) telah melakukan penelitian konversi lignoselulosa tandan kosong kelapa sawit menjadi gula pereduksi menggunakan enzim xilanase dan selulase komersil. Diperoleh hasil kondisi optimum enzim selulase komersil pada konsentrasi 0,5% selulase dan waktu hidrolisis selama 96 jam.

Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri dapat dimanfaatkan untuk membantu memecah sumber karbon selulosa menjadi glukosa selama pertumbuhan bakteri selulolitik EG 2 sudah terbukti mampu menghasilkan enzim selulase berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Al Fahmi dkk., 2017, namun enzim selulase yang dihasilkan belum diketahui optimasi aktivitas selulasenya berdasarkan suhu dan pH nya. Optimasi aktivitas selulase dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu dan pH optimum untuk aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat bakteri EG 2.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim serta keberadaan inhibitor (Hames dan Hooper, 2005). Suhu dan pH merupakan faktor utama yang harus diketahui (Sari, 2010), karena setiap enzim akan berfungsi secara optimal pada suhu dan pH tertentu. Pada kondisi diatas suhu optimal, kecepatan reaksi menurun tajam karena enzim merupakan protein yang akan terdenaturasi pada suhu tinggi (Fitriani, 2003). Sedikit pergeseran pH dari pH optimum akan menyebabkan perubahan besar pada reaksi yang dikatalisis enzim (Murray *et al.*, 2003).

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri selulolitik EG 2 (*Elaeis guineensis* jacq.) yang diisolasi dari bungkil kelapa sawit (*Elaeis guineensis* jacq.). Berdasarkan hasil dari penelitian sebelumnya mempunyai indeks selulolitik sebesar 2 (Al Fahmi dkk., 2017). Bungkil kelapa sawit mengandung selulosa sehingga selulosa tersebut terlebih dahulu harus diuraikan menjadi bentuk yang lebih sederhana. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui optimasi terhadap suhu dan pH untuk menghasilkan aktivitas enzim selulase dari bakteri selulolitik hasil isolasi dari bungkil kelapa sawit. Hal ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang suhu dan pH optimum untuk aktivitas selulase yang dihasilkan dari isolat bakteri EG yang diisolasi dari bungkil kelapa sawit serta dapat diterapkan dalam bidang industri yaitu kandidat bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase. Penelitian ini

bertujuan menemukan suhu inkubasi optimum untuk aktivitas enzim selulase pada isolat bakteri selulolitik EG 2 dan menemukan pH optimum untuk aktivitas enzim selulase pada isolat bakteri selulolitik EG 2.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai Februari 2019. Untuk pengujian aktivitas selulase dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi C9 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya. Bakteri yang digunakan yaitu Isolat bakteri selulolitik EG 2 hasil isolasi dari Bungkil Kelapa Sawit yang sudah diketahui karakter morfologinya. Faktor yang diamati antara lain aktivitas selulase yang dihasilkan isolat bakteri EG 2 berdasarkan suhu dan pH optimum enzim menggunakan enzim ekstrak kasar yang berasal dari kultur bakteri. Variasi suhu yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 35°, 45°, 55°, 65°, dan 75 °C dan variasi pH yang digunakan yaitu pH 5, 6, 7, 8, dan 9.

Penelitian ini dilakukan dalam enam tahap yang meliputi: peremajaan isolat bakteri, produksi ekstrak kasar enzim selulase, pembuatan larutan standar glukosa, pembuatan kurva standar glukosa, pengujian aktivitas enzim selulase dengan Metode DNS, produksi enzim selulase.

Peremajaan isolat bakteri pertama dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni bakteri EG2 kemudian diinokulasikan ke dalam media CMC. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Nurani dkk., 2013). Bakteri yang sudah diremajakan diinokulasikan sebanyak 1 mL ke dalam 100 mL CMC Broth 1% diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C (Sari, 2010). Ekstrak kasar enzim selulase diperoleh dengan sentrifugasi dingin kultur bakteri pada 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Filtrat dipisahkan dari supernatan dan supernatan diambil sebagai hasil ekstrak kasar enzim selulase (Jennifer dan Thiruneelakandan, 2015). Ekstrak kasar enzim selulase selanjutnya diuji aktivitas enzimnya dengan metode asam 3,5- dinitrosalisilat (DNS).

Pembuatan larutan standar glukosa dilakukan sebagai proses sebelum pembuatan kurva standar glukosa dengan berbagai konsentrasi glukosa yaitu 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 dan 225 ppm yang nantinya akan direaksikan dengan reagen DNS untuk mengetahui gula reduksi dengan melihat konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya. Pembuatan larutan standar glukosa dilakukan dengan cara membuat larutan stok glukosa standar dengan konsentrasi 5000 ppm. Sebanyak 0,5 gram glukosa ditimbang dan dilarutkan dengan aquades dan ditera sampai 100 mL dalam labu ukur (Mukminin, 2015). Kemudian larutan stok tersebut diencerkan dengan konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 dan 225 ppm (Rosyada, 2015). Selanjutnya, diambil sebanyak 1 mL dari masing -masing konsentrasi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 1 mL reagen DNS dan dihomogenkan. Mulut tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5-15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat. Kemudian ditambahkan 1 mL KNa-tartrat dan didinginkan. Ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan. Absorbansi tiap larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada (λ) = 540 nm (Miller, 1959). Setelah diperoleh kurva standar glukosa, persamaan garis $y = ax + b$ digunakan untuk mengetahui konsentrasi glukosa (x) dari sampel yang akan diukur absorbansinya (Rosyada, 2015).

Pengujian aktivitas selulase secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan reagen 3,5-*Di Nitro Salisilic Acid* (DNS) berdasarkan estimasi jumlah gula reduksi yang dihasilkan dari media CMC 1%. Sebanyak 1 mL media CMC 1% ditambahkan dengan 1 mL ekstrak kasar enzim selulase dan dimasukkan ke dalam tabung. Kemudian diinkubasi pada suhu 55 °C selama 15 menit dengan *waterbath*. Sebanyak 1 mL reagen DNS ditambahkan untuk menghentikan reaksi dan dididihkan dalam *waterbath* pada suhu 100°C selama 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan dengan 1 mL KNa-tartrat. Tabung reaksi didinginkan dan ditambahkan dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan. Jumlah gula reduksi yang dilepaskan ditentukan dengan pengukuran spektrofotometer panjang gelombang 540 nm (Jennifer dan Thiruneelakandan, 2015). Sampel merupakan reaksi substrat dan enzim dengan perlakuan inkubasi, kemudian ditambahkan dengan DNS. Kontrol merupakan campuran antara substrat dan enzim tanpa inkubasi yang kemudian ditambahkan dengan DNS. Sedangkan blanko merupakan campuran antara substrat, DNS dan akuades (Maranatha, 2008).

Nilai absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar pada prosedur sebelumnya untuk mengetahui konsentrasi produk glukosa pada sampel. Satu unit aktivitas enzim selulase dinyatakan sebagai jumlah μmol produk glukosa hasil hidrolisis enzim selulase tiap satu menit pada kondisi pengujian. Nilai aktivitas selulase ditentukan berdasarkan perhitungan sebagai berikut (Kombong, 2004).

$$AE = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan :

- AE = Aktivitas Enzim (Unit/mL)
- C = Konsentrasi Glukosa
- BM = Berat Molekul Glukosa (180 g/mol)
- t = Waktu Inkubasi (menit)
- H = Volume Total Enzim-Substrat (mL)
- E = Volume Enzim (mL)

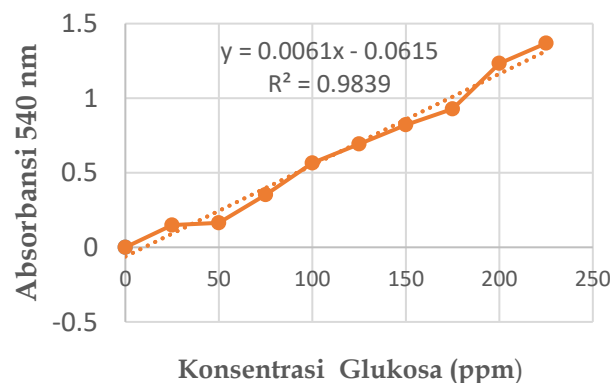
Karakterisasi ekstrak kasar enzim selulase dilakukan dengan mereaksikan ekstrak kasar enzim selulase pada variasi suhu dan pH. Penentuan suhu optimum enzim dilakukan dengan cara mereaksikan 1 mL enzim dengan 1 mL substrat pada suhu sesuai perlakuan yaitu 35 - 75°C dan ditambah variasi pH dengan penambahan buffer sitrat 0,05 M pH 4, buffer sitrat fosfat 0,05 M untuk pH 6 dan 7, buffer Tris-HCl 0,05 M untuk pH 8 dan 9 dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 30 menit (Chasanah dkk., 2013). Aktivitas enzim selulase diukur dengan metode DNS sesuai dengan prosedur sebelumnya.

HASIL

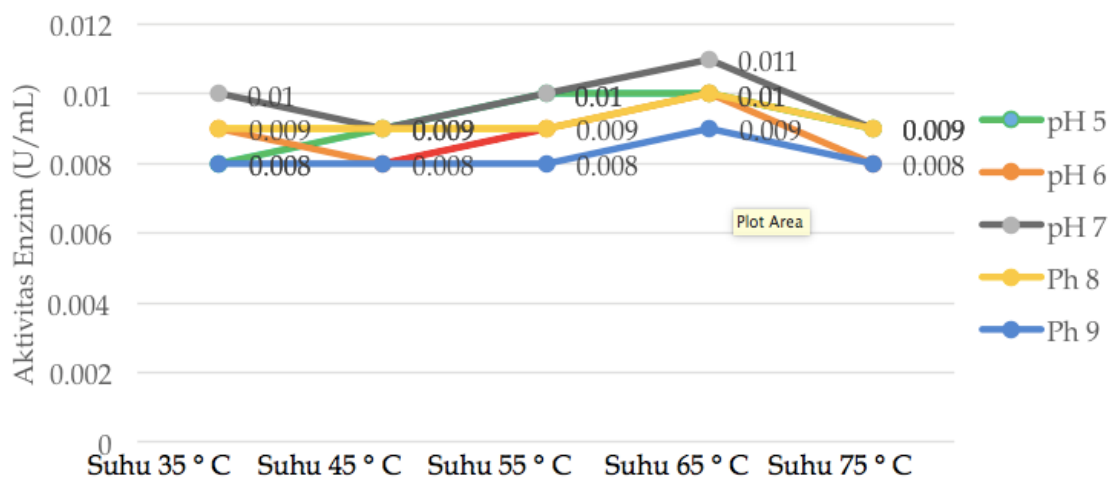
Hasil penelitian diperoleh dari pengukuran larutan standar glukosa, perhitungan aktivitas selulase ekstraseluler bakteri selulolitik EG 2 dengan perlakuan berbagai variasi suhu dan pH adalah sebagai berikut:

Pembuatan larutan standar glukosa dilakukan sebagai proses sebelum pembuatan kurva standar glukosa dengan berbagai konsentrasi glukosa yaitu 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 dan 225 ppm yang nantinya akan direaksikan dengan reagen DNS untuk mengetahui gula reduksi dengan melihat konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya. Hasil pembuatan kurva standar glukosa terdapat dalam Gambar 1.

Pengukuran aktivitas enzim selulase menggunakan metode DNS berdasarkan estimasi jumlah glukosa (gula reduksi) sebagai hasil hidrolisis selulosa (Jennifer dan Thiruneelakandan, 2015). Aktivitas selulase ekstraseluler bakteri selulolitik EG 2 terdapat pada Gambar 2.



Gambar 1. Kurva standar glukosa



Gambar 2. Kurva pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase.

Aktivitas selulase ekstraseluler optimal pada suhu 65° C dan pH 7 dengan aktivitas selulase sebesar 0,011 U/mL (Gambar 1 dan 2). Aktivitas selulase ini semakin menurun ketika suhu dan pH diturunkan sampai suhu 35°C, begitu juga ketika pH diturunkan menjadi 5 dan dinaikkan menjadi pH 9 maka aktivitas enzim juga menurun.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan aktivitas selulase pada kisaran suhu dan pH dibawah rentang suhu dan pH optimal disebabkan karena kurangnya frekuensi tumbukan antara enzim dan substrat sehingga produk glukosa yang dihasilkan sedikit (Putri, 2016).

PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas CMC-ase dilakukan dengan mengukur gula pereduksi yang dihasilkan selama proses hidrolisis substrat oleh enzim. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan metode DNS berdasarkan estimasi jumlah glukosa (gula reduksi) sebagai hasil hidrolisis selulosa (Jennifer dan Thiruneelakandan, 2015). DNS merupakan senyawa aromatis yang akan bereaksi dengan gula reduksi yang membentuk asam 3-amino-5-dinitrosalisilat yang merupakan suatu senyawa yang mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm (Sastrohamidjojo, 2005).

Kadar gula reduksi ditentukan dengan membuat kurva standar glukosa yang berfungsi untuk mengetahui konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya. Larutan glukosa dipilih sebagai larutan untuk pembuatan kurva standar karena glukosa termasuk gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa oleh enzim selulase. Kurva standar dibuat dengan variasi konsentrasi glukosa 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, dan 225 ppm (Putri, 2016). Hasil kurva standar glukosa memiliki persamaan linier $y = 0,0061x - 0,0615$ dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0,9839.

Reaksi antara gula reduksi dengan DNS merupakan reaksi redoks pada gugus aldehid gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Sementara itu, DNS sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino dan 5 - nitrosalisilat. Reaksi ini berlangsung dalam suasana basa dan suhu tinggi sekitar 90-100°C. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan (Kusmiati dan Agustini, 2010). Semakin gelap warna DNS maka jumlah gula yang tereduksi semakin banyak (Rosyada, 2015).

Pereaksi DNS dapat bekerja dengan adanya komponen pendukung seperti NaOH, fenol, sodium sulfite dan KNa-Tartrat. (Putri, 2016) menjelaskan bahwa pereaksi DNS berfungsi mereduksi glukosa dalam keadaan basa yang dibantu dengan adanya penambahan NaOH. KNa-Tartrat berfungsi untuk menghilangkan pengaruh senyawa yang mengganggu sehingga kompleks warna tetap stabil. Selain itu, fenol berfungsi untuk mempertahankan kestabilan kompleks warna sekaligus dapat dilakukan penundaan pengukuran absorbansi pada selang 24 jam dan warna yang terbentuk yaitu warna merah

jingga kemerahan -bata kecoklatan, sedangkan sodium sulfit dapat menghalangi kelarutan oksigen yang dapat mengoksidasi gula pereduksi (Ruswandi, 2018).

Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme mempunyai karakteristik yang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti, suhu, pH lingkungan tempat enzim bekerja, konsentrasi substrat tertentu dan waktu inkubasi. Setiap enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis mikroorganisme. Kondisi suhu dan pH yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisis suatu reaksi dengan baik. Sedangkan suhu dan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang (Putri, 2016).

Suhu memainkan peranan yang sangat penting dalam reaksi enzimatik untuk aktivitas enzim menentukan sifat pertumbuhan mikroorganisme. Peningkatan suhu secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (Saropah dkk., 2012).

Aktivitas tertinggi dihasilkan pada perlakuan suhu 65°C dengan aktivitas selulase sebesar 0,011 U/mL (Gambar 2). Berdasarkan hal tersebut maka suhu optimum untuk aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat bakteri EG 2 adalah suhu 65°C. Tarigan dkk., (2015) menjelaskan bahwa pada suhu optimal, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif, sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat semakin mudah dan produk yang dihasilkan meningkat. Nam *et al.* (2004) menyebutkan bahwa kisaran suhu 45–80°C termasuk ke dalam golongan enzim termofilik. Berdasarkan hal tersebut, maka aktivitas enzim selulase dari isolat EG 2 bersifat termostabil (tahan terhadap panas).

Aktivitas enzim selulase mengalami penurunan dibawah suhu optimal. Pada pH optimum 7 suhu 55°C aktivitas selulase lebih rendah dibandingkan pada suhu 65°C yaitu sebesar 0,009 U/mL. Aktivitas selulase ini semakin menurun pada perlakuan suhu terendah yaitu 35°C dengan aktivitas enzim yang dihasilkan hanya 0,009 U/mL. Penurunan aktivitas selulase pada kisaran suhu dibawah suhu optimal disebabkan karena kurangnya frekuensi tumbukan antara enzim dan substrat sehingga produk glukosa yang dihasilkan sedikit. Sari (2010) menjelaskan bahwa rendahnya aktivitas enzim pada rentang suhu diduga disebabkan oleh kurangnya frekuensi tumbukan antara enzim dan substrat. Suhu inkubasi berbanding lurus dengan frekuensi tumbukan yang terjadi antara enzim dengan molekul CMC. Suhu yang rendah mengakibatkan frekuensi tumbukan antar molekul menjadi berkurang sehingga molekul CMC yang dapat berikatan dengan sisi aktif enzim menjadi sedikit. Akibatnya, jumlah molekul CMC terhidrolisis juga sedikit.

Peningkatan suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan. Hal ini terlihat pada hasil aktivitas enzim yang semakin meningkat pada kurva Gambar 2 yang disajikan. Berdasarkan grafik tersebut, aktivitas enzim selulase meningkat seiring dengan peningkatan suhu. Pada suhu 35°C aktivitas enzim sebesar 0,008 U/mL dan mengalami peningkatan dengan perlakuan suhu yang lebih tinggi yaitu suhu 45°C yang menghasilkan aktivitas enzim sebesar 0,009 U/mL. Aktivitas enzim selulase terus meningkat dengan perlakuan suhu selanjutnya yaitu suhu 55°C dengan aktivitas enzim sebesar 0,012 U/mL dan mencapai puncaknya pada suhu 65°C dengan aktivitas enzim sebesar 0,011 U/mL. Tarigan dkk. (2015) menjelaskan bahwa suhu yang semakin tinggi dapat meningkatkan energi kinetik, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dengan enzim. Tumbukan yang sering terjadi akan mempermudah pembentukan kompleks enzim-substrat, sehingga produk yang dihasilkan semakin banyak.

Namun peningkatan suhu selanjutnya menyebabkan penurunan aktivitas enzim selulase. Hal ini dibuktikan dengan nilai aktivitas enzim selulase pada perlakuan suhu 65°C menurun drastis dari 0,011 U/mL pada suhu 75°C menjadi 0,008 U/mL. Suhu yang terlalu tinggi menyebabkan kinetika molekul-molekul enzim menjadi besar sehingga memecahkan ikatan-ikatan sekunder yang mempertahankan enzim dalam bentuk aslinya, akibatnya struktur sekunder dan tersier hilang sehingga aktivitas enzim menurun (Putri, 2016). Adanya peningkatan suhu juga dapat mempengaruhi ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik yang berperan dalam menjaga konformasi molekul enzim. Perubahan konformasi akan mempengaruhi sisi aktif enzim, kondisi panas tertentu menyebabkan ikatan hidrogen tersebut akan putus. Putusnya satu ikatan hidrogen akan menyebabkan mudahnya pemutusan ikatan

hidrogen selanjutnya dalam rantai polipeptida, sehingga protein enzim mengalami denaturasi (Whitaker, 1994).

Semua enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme bekerja pada rentang suhu tertentu (Putri, 2016). Sebagian besar enzim memiliki aktivitas optimum pada rentang suhu 20–50°C. Enzim yang aktif bekerja pada rentang suhu tersebut termasuk ke dalam golongan mesozim (Saropah dkk., 2012). Sedangkan enzim selulase memiliki aktivitas optimum pada rentang suhu 50–80°C termasuk ke dalam golongan termozim atau sering disebut dengan termostabil atau tahan panas (Meryandini dkk., 2009). Berdasarkan hal tersebut, maka enzim selulase yang dihasilkan dari isolat bakteri EG 2 termasuk dalam golongan termozim yang stabil pada suhu tinggi.

Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sonia dan Kusnadi (2010), isolat bakteri OS-16 memiliki suhu optimum untuk aktivitas selulasenya adalah 85°C, isolat bakteri RF-10 pada suhu 50°C (Sari, 2010), *Bacillus pumillus* Galur 55 pada suhu 50°C (Fitriani, 2003) dan *Bacillus* sp. pada suhu 50°C (Tarigan dkk., 2015). Perbedaan suhu optimum pada masing-masing bakteri selulolitik mengindikasikan bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh setiap mikroba memiliki karakteristik yang berbeda-beda (Volk dan Wheeler, 1993).

Jika dibandingkan dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Nugrahini (2016) juga melakukan pengukuran aktivitas enzim selulase mengenai pengaruh waktu dan konsentrasi enzim selulase pada proses hidrolisis tandan kosong kelapa sawit menjadi glukosa, diperoleh hasil bahwa enzim selulase bekerja pada substrat selulosa pH 5 dan temperatur 60°C. Odeniyi *et al.*, (2009) meneliti tentang produksi selulase oleh strain *Bacillus coagulans* dari residu industri buah kelapa sawit mampu menghasilkan aktivitas enzim sebesar 0,031 U/mL pada suhu 55°C maka aktivitas enzim yang dihasilkan oleh isolat EG 2 pada penelitian ini tergolong lebih rendah. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa selain dipengaruhi oleh karakteristik masing-masing isolat bakteri (Sonia dan Kusnadi, 2015), aktivitas enzim selulase juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan awal tempat mikroba hidup (Dali dkk., 2013).

Faktor pH berpengaruh terhadap struktur dan aktivitas enzim. Enzim sebagai protein maka aktivitasnya dipengaruhi oleh pH (Idiawati dkk., 2014). Perubahan pH akan menyebabkan denaturasi pada protein penyusun enzim itu sendiri, sehingga setiap enzim yang dihasilkan oleh mikroba memiliki pH optimum yang berbeda-beda (Putri, 2016).

Aktivitas selulase optimum ditunjukkan pada perlakuan pH 7 dengan nilai aktivitas sebesar 0,011 U/mL (Gambar 2). Hasil penelitian lain yang mengidentifikasi mikroba yang memiliki aktivitas selulase dengan pH optimum yang sama adalah *Bacillus* sp. (Rasul *et al.*, 2015), *Bacillus subtilis* (Verma *et al.*, 2012) dan kapang *Enhalus* sp. (Oktavia dkk., 2014). Kaur *et al.* (2007) menjelaskan bahwa enzim selulase yang aktif pada rentang pH 6,0–10,0 banyak digunakan dalam industri tekstil dan detergen. Berdasarkan hal tersebut, menunjukkan bahwa enzim selulase yang berasal dari isolat EG 2 berpotensi untuk dikembangkan pada industri enzim.

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat terjadi penurunan aktivitas enzim selulase pada suhu optimum 65°C pH asam yakni pada pH 6 dengan aktivitas sebesar 0,010 U/mL dan pH 5 dengan aktivitas sebesar 0,009 U/mL. Hal ini disebabkan oleh pada kondisi asam yang rendah dapat menyebabkan perubahan struktur enzim, hal ini terjadi karena gugus bermuatan (-NH₃⁺ atau -COO⁻) yang jauh dari terikatnya substrat akan mengalami perubahan muatan pada pH berbeda, hal ini akan menyebabkan terganggunya ikatan ionik sehingga struktur dasar enzim berubah. Perubahan struktur enzim akan menyebabkan aktivitas enzim akan menjadi menurun (Irawati, 2016).

Hasil optimum diperoleh pada pH 7 (netral) dimana aktivitas enzim paling besar dalam mengubah substratnya menjadi unit sederhana yakni glukosa, dengan aktivitas enzim sebesar 0,011 U/mL. Pada kondisi pH netral asam amino dapat dapat mengaktifkan sisi aktif enzim dan pada kondisi ini aktivitas enzim meningkat (Irawati dan Rosyida, 2016).

Kondisi pH 8 (basa) terjadi penurunan aktivitas yakni dengan aktivitas enzim selulase sebesar 0,010 U/mL. (Putri, 2016) menjelaskan bahwa perubahan pH basa dapat menyebabkan perubahan molekul enzim, sehingga memengaruhi aktivitas enzim. Kondisi pH basa dapat menyebabkan asam amino penyusun enzim inaktif (Sari, 2010).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri selulolitik EG 2 menghasilkan enzim selulase optimum pada suhu 65°C dengan aktivitas selulase sebesar 0,011 U/mL dan isolat bakteri selulolitik EG 2 menghasilkan enzim selulase optimum pada pH 7 (netral) dengan aktivitas selulase sebesar 0,011 U/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Fahmi AA, Marantik VM, Fauzan H and Puspitasari, D, 2017 Isolasi Bakteri Selulolitik pada Bungkil Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Sebagai Bahan Pakan Ternak Terbaharukan. In *Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*. Vol. 14 (1): 277.
- Coral G, Arikan B, Unaldi MN and Güvenmez H, 2001. Some properties of crude carboxymethyl cellulose of *Aspergillus niger* Z10 wild-type strain. *Journal of Biology*. Vol. 26: 209-213.
- Chasanah E, Dini IR and Mubarik NR, 2013. Karakterisasi Enzim Selulase PMP 0126Y dari Limbah Pengolahan Agar. *JPB Perikanan*. Vol. 8 (2): 103-114.
- Dali S, Arfah R, Karim A and Patong AR, 2013. Eksplorasi Enzim Amilase dari Mikroba yang Diisolasi dari Sumber Air Panas di Sulawesi Selatan dan Aplikasinya dalam Produksi Maltodekstrin. *Laporan Akhir*. Makassar: Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin
- Demain AL and Adrio JL, 2008. Contributions of microorganisms to industrial biology. *Journal of Molecular Biotechnology*. Vol. 38: 41-55.
- Fitriani, E, 2003. *Aktivitas Enzim Karboksimetil Selulase Bacillus pumilus Galur 55 pada Berbagai Suhu Inkubasi*. Bogor: Kimia FMIPA IPB.
- Gayang F, 2013. Konversi Ligneselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Gula Pereduksi Menggunakan Enzim Xilanase dan Selulase Komersil. Departemen Biokimia, FMIPA, IPB.
- Hames D and Hooper N, 2005. *Biochemistry (BIOS Instant Notes)*. Taylor & Francis.
- Howard RL, Abotsi E, Rensburg van J and Howard S, 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 2: 602-619.
- Idiawati N, Harfinda EM and Arianie L, 2014. Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus Niger* Pada Amapas Sagu. *Jurnal Natur Indonesia*. Vol. 16 (1): 1-9.
- Irawati and Rosyida, 2016 Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim Selulase Kasar Yang Diproduksi Oleh *Bacillus Circulans*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Jennifer, V and Thiruneelakandan, G. 2015. Enzymatic Activity of Marine *Lactobacillus* Species from South East Coast of India. *IJISET*. Vol. 2 (1): 542-546.
- Kaur J, Chadha BS, Kumar BA and Saini HS, 2007. Purification and Characterization of Two Endoglucanases from *Melanocarpus* sp. MTCC 3922. *Journal of Bioresource Technology*. Vol. 98: 74-81.
- Kombong, H. 2004. Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 5: 16-20.
- Kotchoni SO, Gachomo EW, Omafuvbe BO and Shonukan OO. 2006. Purification and biochemical characterization of carboxymethyl cellulase (CMCase) from a catabolite repression insensitive mutant of *Bacillus pumilus*. *International Journal of Agriculture and Biology*. Vol. 8: 286-292.
- Kusmiati and Agustini NWS, 2010. Pemanfaatan Limbah Onggok untuk Produksi Asam Sitrat dengan Penambahan Mineral Fe dan Mg pada Substrat Menggunakan Kapang *Trichoderma* sp. dan *Aspergillus niger*. *Seminar Nasional Biologi*.
- Louime C, Abazinge M and Johnson E. 2006. Location, formation and biosynthetic regulation of cellulases in the gliding bacteria *Cytophaga hutchinsonii*. *International Journal of Molecular Science*. Vol. 7: 1-11.
- Meryandini A, Widosari W, Besty M, Sunarti T.C, Rachmania N and Satria H, 2009. Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains*. Vol. 13 (1): 33-38.
- Mukminin, A. 2015. Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Pacet Mojokerto dan Pengujian Aktivitas Enzim Selulase. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA and Rodwell VW. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Ed ke-26. San Francisco: McGraw-Hill.
- Nam ES, 2004. B-galactosidase Gene of *Thermus thermophilus* KNOUC112 Isolated from Hot Springs of a Volcanic Area in New Zealand: Identification of the Bacteria, Cloning and Expression of the Gene in *Escherichia coli*. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. Vol. 17: 1591-1598.
- Nurani D, Sukotjo S and Nurmalasari I, 2013. Optimasi Produksi Tepung Talas (*Colocasia esculenta*, L. Schott) Termodifikasi secara Fermentasi. *Jurnal IPTEK*. Vol. 8 (1): 65-71.

- Odeniyi OA, Onilude AA and Ayodele MA, 2009. Production characteristics and properties of cellulase/polygalacturonase by a *Bacillus coagulans* strain from a fermenting palm-fruit industrial residue. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 3:407-417.
- Oktavia Y, Andhikawati A, Nurhayati T and Tarman K, 2014. Karakterisasi Enzim Kasar Selulase Kapang Endofit dari Lamun. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 6 (1): 209-218.
- Pertiwi P, 2017. Karakterisasi Enzim Selulase Yang dihasilkan Khamir Candida Utilis. *Disertasi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Putri S, 2016. Karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada variasi suhu, ph dan konsentrasi substrat. *Disertasi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rasul F, Afroz A, Rashid U, Mehmood S and Zeeshan N, 2015. Screening and Characterization of Cellulase Producing Bacteria from Soil and Waste (Molasses) of Sugar Industry. *International Journal of Bioscience*. Vol. 6 (3): 230-238.
- Rosyada N, 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat dengan Aktivitas Selulolitik pada Saluran Pencernaan Mentok (*Cairina moschata*). *Skripsi*. Surakarta: Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Ruswandi R, 2018. Determination of Fructose Content resulted by Inulin Hydrolysis with DNS as Oxidizer. *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*. Vol. 19 (1): 14-23.
- Sari RF, 2010. Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler dari Isolat Bakteri RF-10. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Saropah A, Jannah A and Maunatin A, 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*. Vol. 2 (1): 34-45.
- Sitompul H and Putra DR, 2016. Pengaruh Waktu dan Konsentrasi Enzim Selulase Pada Proses Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. Vol. 1 (1).
- Sonia NMO and Kusnadi J, 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 (4): 11-19.
- Tarigan WF, Sumardi and Setiawan WA, 2015. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus* sp. Seminar Nasional Sains dan Teknologi VI.
- Volk WA and Wheeler MF, 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan Markam. Jakarta: Erlangga.
- Whittaker JR, 1994. *Principle of Enzymology for The Food Science Second Edition*. New York: Marcel Decker.
- Yoo JS, Jung YJ, Chung SY, Lee YC and Choi YL, 2004. Molecular cloning and characterization of CMCCase gene (celC) from *Salmonella typhimurium* UR. *Journal of Microbiology*. Vol. 42: 205-210.
- Zhang YHP, Himmel ME and Mielenz JR, 2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. *Biotechnology Advance*. Vol. 24: 452-481.

Published: 31 Januari 2020

Authors:

Dian Puspitasari, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: diaanpuspitasari@mhs.unesa.ac.id
 Muslimin Ibrahim, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: musliminibrahim@unesa.ac.id

How to cite this article:

Puspitasari D, Ibrahim M, 2020. Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler Isolat Bakteri EG 2 Isolasi dari Bungkil Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* jacq.). *LenteraBio*; 9(1): 42-50