Jurnal Kimia Andalas, ISSN : 0853-8018
Vol. 2, No. 1, 1995 (13-18)

FERMENTASI MENGHASILKAN ENZIM SELULASE DARI *Trichoderma* reesei

Elida Mardiah Dan Armaini

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

INTISARI

Untuk mengetahui aktivitas enzim selulase dari Trichoderma reesei dilakukan proses fermentasi dengan tiga jenis media cair yaitu media cair yang mengandung selulosa, yang mengandung sukrosa dan yang mengandung glukosa. Pertmbuhan Trichoderma reesei diamati pada masing-masing media dengan menimbang berat sel keringnya. Pertumbuhan maksimum pada media selulosa diperoleh setelah fermentasi berlangsung 35 jam, pada media sukrosa diperoleh setelah 42 jam dan pada media glukosa diperoleh setelah 28 jam. Setelah dilakukan uji terhadap enzim selulase yang dihasilkan ternyata hanya media yang mengandung selulosa yang yang memberikan hasil positif. Aktivitas enzim selulase kasar yang diperoleh adalah 3,6794 unit dan aktivitas spesifiknya 1765 unit/mg protein.

ABSTRACT

The activity of cellulase enzyme was determined through fermentation processesusing three liquid media containing celludose, sucrose and glucose respectively. The growth of Trichoderma *reesei was observed in each medium by weighing the dried cell. The optimum growth in cellulose medium was found after 35 hours of fermentation, in sucrose medium was after 42 hours fermentation and in glucose medium was after 28 hours of fermentation. Only the enzyme from cellulose media showed a positive result toward enzyme cellulose test. The activity obtained was 3,6794 unit with a specific activity of 1765 unit/mg protein.*

PENDAHULUAN

Enzim selulase merupakan enzim hidrolase yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisa ikatan ß-1,4 glukan 4-glukano hidrolase (E.C 3.2.1.4). Penelitian terhadap enzim selulase sangat penting karena enzim selulase dapat dimanfaatkan untuk industri dan mengatasi masalah lingkungan dari limbah selulosa. Enzim selulase menguraikan selulosa menjadi go-longan kecil yang kemudian dapat diuraikan lebih lanjut menjadi monomernya yaitu glukosa. Glukosa yang dihasilkan dapat dimanfaatkan dalam bidang industri seperti industri makanan dan obat-obatan[1,2].

Enzim selulase yang dihasilkan secara fermentasi dari berbagai jenis mikroorganisme, salah satunya adalah jamur *Trichoderma* reesei. Enzim mikroorganisme dapat dikelompokan atas enzim konstitutif dan induktif. Enzim konstitutif merupakan enzim yang selalu diperoleh setiap saat, tidak tergantung kepada macam medium tempat mikroorganisme tumbuh. Apabila suatu sel tidak memproduksi enzim konstitutif akan berakibat tidak berjalannya metabolisme yang amat penting bagi kehidupan sel tersebut. Enzim induktif merupakan enzim yang dalam keadaan normal hanya terdapat dalam jumlah kecil. Jumlah tersebut akan meningkat menjadi 1000 kali atau lebih apabila ada substrat yang menginduksinya, terutama bila substrat penginduksi merupakan satu-satunya sumber karbon[2].

Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah enzim selulase yang dihasilkan *Trichoderma* reesei bersifat induktif atau konstitutif. Disamping itu bagaimana pengaruh pemberian selulosa, sukrosa dan glukosa kedalam medium terhadap pertumbuhan *Trichoderma* reesei serta terhadap aktivitas enzim selosa yang dihasilkan juga ditentukan. Aktivitas enzim selulase ditentukan dengan metoda Somogy Nelson. 1 unit aktivitas enzim selulase didefenisikan sebagai jumlah enzim yang dapat membebaskan 1 µg produk glukosa permenit pada kondisi optimumnya.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Jamur *Trichoderma reesei* (diperoleh dari laboratorium mikrobiologi FMIPA Unand), medium patato dextrosa agar (PDA), 3 macam medium cair yaitu mengandung selulosa, yang mengandung sukrosa dan yang mengandung glukosa, reagen nelson, reagen arseno molibdat dan buffer asetat.

Metode Penelitian

Jamur *Trichoderma reesei* diperbanyak pada medium PA, diinkubasi selama 4 hari pada suhu kamar. Suspensi spora dibuat dengan menambahkan 10 ml aquades steril kedalam tabung reaksi yang berisi jamur. Gesek dengan jarum ose sehingga sporanya terangkat. 1 ml suspensi spora dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi media cair yang masing-masingnya mengandung selulosa, sukrosa dan glukosa. Kemudian dikocok menggunakan shaker.

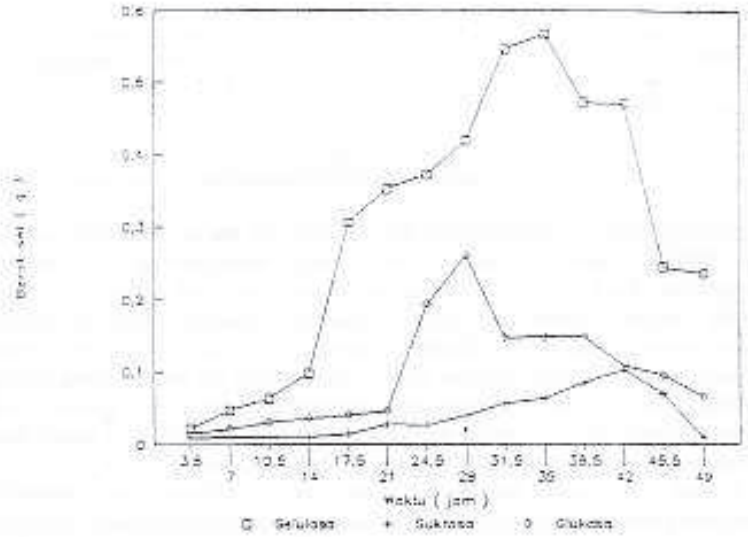
Untuk memperoleh kurva pertumbuhan jamur, dilakukan pengamatan setiap 3,5 jam. Setiap fermentasi berlangsung 3,5 jam diambil 1 erlenmeyer, media disaring dengan menggunakan corong buchner dan kertas saring yang telah ditimbang. Kertas yang berisi endapan jamur dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering sel jamur.

Setelah pertumbuhan maksimum tercapai ditentukan aktivitas enzim selulosa yang dihasilkan. Substrat yang digunakan adalah karboksi metil selulosa. Aktivitas enzim ditentukan dengan menghitung konsentrasi produk glukosa yang terbentuk. Konsentrasi glukosa diukur secara spektrofotometri menurut metoda Somogy Nelson.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari ketiga jenis media yang digunakan ternyata jamur *Trichoderma* reesei mempunyai kurva pertumbuhan yang berbeda seperti terlihat pada Gambar 1.

Pada media yang mengandung selulosa, *Trichoderma* reesei mempunyai fasa yang selama 14 jam, pada media glukosa mempunyai fasa lag 21 jam dan pada media sukrosa 24,5 jam. *Trichoderma* reesei mempunyai fasa lag yang lebih lama pada media yang mengandung sukrosa karena jamur ini lama menyesuaikan diri dengan media sukrosa. Sedangkan pada media yang mengandung selulosa fasa lagnya lebih cepat, berarti *Trichoderma* reesei cepat menyesuaikan diri pada media ini karena secara alami jamur *Trichoderma* reesei bisa tumbuh pada lingkungan yang mengandung selulosa[5].



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Trichoderma* reesei pada media yang mengandung selulosa, sukrosa dan glukosa.

Fasa eksponensial untuk media selulosa berakhir setelah 35 jam pengocokan, dengan berat sel jamur maksimum yang dihasilkan 0,5667 g. Pada media glukosa, fasa eksponensialnya berakhir setelah 28 jam pengocokan dengan berat sel jamur maksimum 0,2608 g. Sedangkan untuk media sukrosa, fasa eksponensialnya berakhir setelah 42 jam dengan berat sel jamur maksimum 0,1030 g. Pada media sukrosa, berat sel yang didapatkan sedikit karena jamur *Trichoderma* reesei kurang menyukai sukrosa sebagai sumber karbon. Pada media selulosa didapatkan berat sel jamur paling banyak berarti pertumbuhan *Trichoderma* reesei paling baik pada media yang mengandung selulosa ini. Hal ini disebabkan karena jamur *Trichoderma* reesei dapat memetabolisme efektif selulosa sebagai sumber karbon dalam nutriennya.

Pada ketiga jenis media, fasa stasioner tidak terlihat dengan nyata, karena jamur *Trichoderma* reesei tidak bisa bertahan lama hidup dalam kehabisan nutrien. Di dalam media sudah terdapat tumpukan sisa-sisa metabolisme yang merupakan racun bagi sel jamur itu sendiri (1,5).

Setelah fermentasi mencapai pertumbuhan maksimum, terhadap masing-masing media yang mengandung selulosa, glukosa dan sukrosa dilakukan uji kwalitatif terhadap enzim selulase yang dihasilkan. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

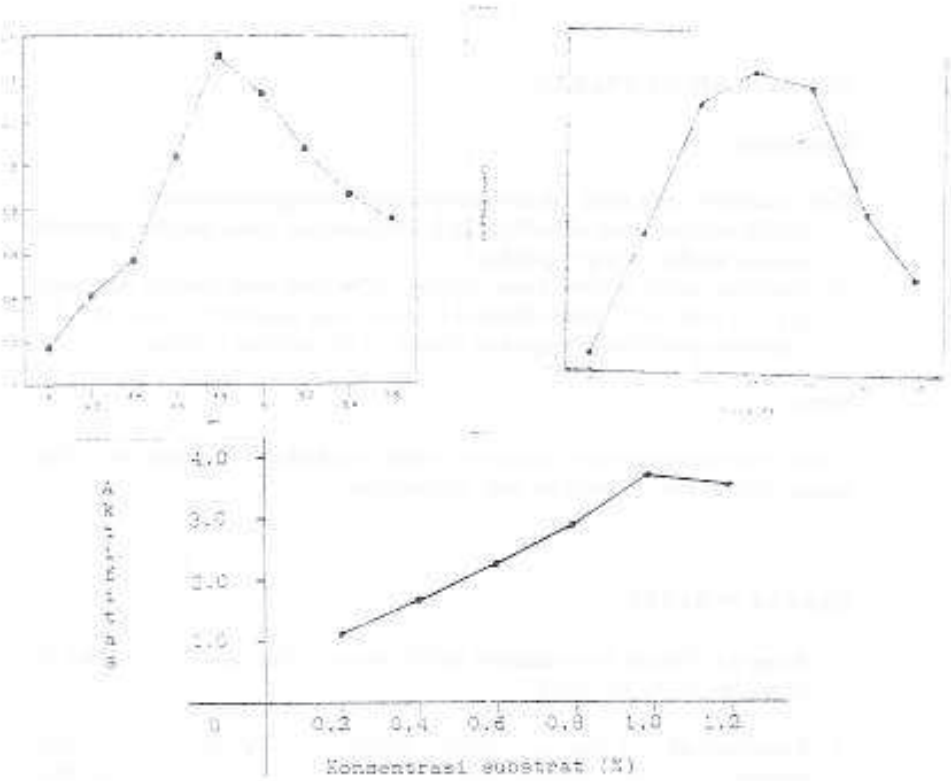
Tabel 1. Hasil uji kwalitatif enzim selulase.

Media	Reagen Nelson
selulosa	+
glukosa	-
sukrosa	-

Selulosa, glukosa da sukrosa habis dikonsumsi oleh jamur *Trichoderma reesei*. Dari Tabel 1 ternyat hanya media yang mengandung selulosa yang memberikan hasil positif terhadap enzim selulase. Hal initerlihat dengan adanya endapan merah bata pada pemanasan sehingga dapat disimpulkan bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur *Trichoderma* reesei bersifat induktif. Adanya indeser berupa substrat dari enzim itu sendiri yang terdapat di dalam media tumbuh jamur akan merangsang keluarnya enzim. Tanpa adanya induser selulosa, enzim selulase mungkin akan dihasilkan tetapi dalam jumlah sedikit sekali sehingga aktivitasnya tidak terlihat (1,2).

Untuk mengetahui besarnya aktivitas enzim selulase yang dihasilkan, dilakukan pemisahan antara jamur dan media dengan menggunakan sentrifuga sehingga diperoleh enzim selulase kasar. Terhadap enzim selulase kasar ditentukan aktivitasnya pada kondisi-kondisi optimum. Kondisi optimum enzim selulase dari *Trichoderma* reesei ini didapatkan seperti pada Gambar 2.

Enzim selulase dari *Trichoderma* reesei mempunyai pH optimum 4,8, suhu optimum 37°C, lama inkubasi optimum 60 menit dan konsentrasi substrat optimu 1 % (b/v). Pada penentuan aktivitas ini substrat yang digunakan adalah karboksimetil selulase (CMC). Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa di atas dan di bawah pH optimum, aktivitas enzim selulase menurun, hal ini mungkin disebabkan karena perubahan muatan dari gugus asam amino yang terdapat pada enzim sehingga enzim tidak stabil dan kemampuan enzim untuk menghidrolisa substrat menurun. Di atas dan di bawah suhu optimu, aktivitas enzim selulase juga menurun. Di bawah suhu optimum, energi kinetik masih rendah untuk mencapai reaksi yang sempurna antara substrat dengan enzim. Di atas suhu optimum terjadi perubahan struktur tertier enzim, sehingga enzim mengalami peristiwa denaturasi disertai dengan menurunnya aktivitas[4].



Gambar 2. Kondisi optimum enzim selulase dari *Trichoderma reesei*.

Enzim selulase meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat sampai pada batas maksimum. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan reaksi enzimatik. Pada saat titik optimum telah tercapai semua enzim telah bergabung dengan substrat, sehingga kenaikan selanjutnya dari konsentrasi substrat tidak menaikan kecepatan reaksi, karena tidak ada lagi enzim yang akan merubah substrat menjadi produk. Hal ini dikatakan bahwa enzim telah jenuh dengan substratnya[4].

Pada kondisi optimum di atas diperoleh aktivitas enzim selulase 5,6794 unit. Kadar protein dari enzim selulase kasar ini didapatkan 208,46 μg/ml dengan menggunakan metoda Lowry dan albumin sebagai standar. Maka enzim selulase kasar yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* ini mempunyai aktivitas spesifik sebesar 17,65 unit/mg protein.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan.

1. Enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma* reesei bersifat induktif dengan selulosa sebagai induktor.
2. Aktivitas enzim selulase kasar adalah 3,6794 unit pada kondisi optimum pH 4,8, suhu 37°C, lama inkubasi 60 menit dan konsentrasi substrat 1 %. Aktivitas spesifiknya didapatkan sebesar 17,65 unit/mg protein.

Saran

Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan pemurnian terhadap enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wang I.C Daniel, Fermentation and Enzyme Technology, John Willey & Sons Inc., 1979, 3-5, 72-73.
2. Kumakura.M and Kaetsu.I, Enzyme Production in Filamentation Fungi Immobilized with Fibeous Substance, Biotech.. *Appl. Biochem.*8.1986, 195-200.
3. Selbg.K, The cellulase of *Trichoderma viside*. Biochem.J, 104, 1967, 716-724.
4. Lehninger.A.L, Dasar-Dasar Biokimia, Penerbit Erlangga, jakarta, 1987, 240-248.
5. Dwijoseputro, Dasar-Dasar Mikrobiologi, Penerbit Djambatan, 1987, 20-35.
6. Callowick and Kaplan, Methods in Enzymology, Vol. XVIII, Academic Press. Inc. Publisher, New York, 1975, 698-727.