Journal Matematika dan Pengetahuan Alam
Vol. 4, No. 1, Th. 1995 ISSN: 0853-0033

AMOBILISASI ENZIM ENDOGLUKANASE (Cx) DARI *Volvariella volvacea*

(IMMOBILIZATION ENDOGLUCANASE (Cx) ENZYME FROM *Volvariella volvacea)*

Anthoni Agustien
Staf Pengajar Biologi FMIPA UNAND

ABSTRACT

Cellulase is very interesting multienzyme because it hydrolyzed cellulose substrate, the main component of agricultural wast product. Endoglucanase enzyme is necessary of cellulase complex. Enzyme immobilization with ionic binding method, using DEAE-sephadex A-50 as its support could improved the enzyme specific activity. The optimum pH of the immobilized endoglucanase (Cx) remained constant, but the optimum temperature was increased to 55° C. The stability of the immobilized enzyme when operated continously indicated that the activity enzyme could be maintained for 85 hours. After operating for about 120 hours the immobilized enzyme activity was still about 50%. The stability of the immobilized enzyme whwn operated repeatedly for 10 times still indicated a enzyme activity of 70%.

PENDAHULUAN

Sumber limbah selulosa yang banyak di Indonesia adalah jerami padi dan bagase tebu. Menurut Biro Pusat Statistik Indonesia (1985), luas areal tanaman padi di Indonesia adalah 9102274 ha dengan tingkat produksi 3871 kg gabah kering/ha. Dari data tersebut dapat diperkirakan telah dihasilkan 70,5 juta ton limbah selulosa dalam bentuk jerami.

Jamur *Volvariella volvacea* merupakan salah satu jamur penghasil enzim selulase ekstraseluler. Jamur ini dapat hidup dengan baik pada limbah kapas dan berpotensi untuk mendegradasi selulosa kristalin (Chang and Steinkraus, 1982).

Enzim selulase terdiri dari tiga komponen enzim yaitu C1, Cx dan ß-glukosidase. Endoglukanase atau dikenal dengan Cx memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa amorf secara acak, menghasilkan selobiosa dan selodekstrin. Endoglukanase sangat aktif memutus turunan selulosa yang dapat larut seperti

karboksil metil selulosa (CMC), hidroksi etil selulosa (HEC), selotetraosa dan selopentosa. Aktivitasnya meningkat dengan semakin panjangnya rantai selulosa yang akan dihidrolisis (Mandels, 1982).

Untuk meningkatkan efisiensi kerja katalitik enzim, digunakan teknik amobilisasi enzim endoglukanase. Penggunaaan teknik amobilisasi enzim dilakukan mengingat beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dibandingkan jika digunakan enzim bebas, antara lain penggunaan enzim amobil dapat dilakukan secara kontinu dan terkendali, serta berulang, hasil produk yang diinginkan dapat dengan mudah dipisahkan dan stabilitas enzim dapat ditingkatkan (Kennedy dan Cabral).

Enzim amobil didefinisikan sebagai enzim yang secara fisik ditempatkan pada suatu tempat atau ruang tertentu sedemikian rupa sehingga aktivitas katalitiknya masih tetap ada dan dapat digunakan berulang kali (Chibata, 1978). Berdasarkan cara pembuatannya amobilisasi enzim dapat dibedakan menjadi tiga tipe yaitu tipe "entrapping" (penjebakkan), tipe ikatan silang dan tipe pengikatan pada pengemban yang terjadi melalui adsorpsi fisik, ikatan ion dan ikatan kovalen (Trevan, 1980). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi, pola operasional dan pemakian berulang enzim glukanase (Cx)amobil.

METODOLOGI PENELITIAN

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup jamur *Volvariella volvacea*, media Mandels dan Reese. Semua zat kimia berderajat pro analis, kecuali bila disebut lain. CMC, glukosa, pereaksi Somogyi-Nelson A, pereaksi Somogyi-Nelson B, pereaksi Arsenomolibdat, DEAE-sephadex A-50, bufer sitrat 0,05 M, pereaksi Lowry A, pereaksi Lowry B, pereaksi Folin-ciocalteu, larutan bufer sitrat 0,05 M, NaCl, dll.

2. Alat

Alat yang digunakan meliputi, alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia serta instrumen penunjang lainnya seperti, ultrasentrifuga, spektrofotometer UV/VIS, Vortex, Penangas air, shaking inkubator, pH meter.

3. Cara kerja

Jamur *Volvariella volvacea* diinokulasikan pada media Mandels dan Reese dengan sedikit modifikasi. Setelah 12 hari inkubasi dilakukan isolasi enzim dan selanjutnya dilakukan tahapan pemurnian enzim dengan metoda "salting out", kromatografi filtrasi gel dan kromatografi penukar ion. Kemudian enzim dikarakterisasi meliputi

penentuan pH dan suhu optimum enzim. Selanjutnya dilakukan pembuatan enzim amobil, dengan cara sebanyak 20 mg DEAE-sephadex A-50 dan ditambahkan larutan enzim 16,7 ml. Kocok campuran reaksi dengan shaker pada suhu 4° selama 30 menit, pisahkan supernatan dan cuci enzim amobil dengan bufer sitrat. Enzim amobil dikarakterisasi meliputi penentuan pH dan suhu optimum, kemudian penentuan pola operasional enzim amobil secara kontinu pada kolom 1,6x12 cm, kec. alir 10 mL/jam, suhu inkubasi 55° C. Fase stasioner dalam kolom adalah enzim amobil 24 mL dan fase geraknya adalah substrat CMC 1% 15 mL yang dialirkan ke dalam fase stasioner secara "re- cycling". Setiap selang waktu 5 jam sebanyak 0,6 mL effuen di uji aktivitasnya. Pemakaian berulang enzim amobil dilakukan dengan cara penentuan aktivitas enzim glukanase dengan menmakai enzim glukanase amobil yang sama yang digunakan berulang kali. Sebelum digunakan kembali, terlebih dahulu enzim amobil tersebut dicuci dengan bufer sebanyak tiga kali. Penentuan aktivitas enzim glukanase berdasarkan jumlah gula pereduksi yang ditentukan dengan metoda Somogyi-Nelson.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amobil

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amobil dapat dilihat pada Gambar 1. pH optimum enzim amobil dan enzim bebas adalah sama, pada pH 6,0; tidak terjaldi pergeseran pH. Menurut Wira-hadikusumah dan Madayanti (1990), pengaruh pH terhadap reaksi enzim amobil, pada beberapa enzim amobil, dapat atau tidak mengalami pergeseran pH optimum dan kurva pH Vs aktivitas. Hal ini tergantung pada muatan protein enzim dan atau penegemban tidak larut dalam air yang digunakan.

2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amobil

Suhu optimum enzim amobil 55° C, sedangkan suhu optimum enzim bebas 50° C, terjadi pergeseran suhu optimum dari enzim bebas ke enzim amobil. Seperti halnya dengan pengaruh pH, suhu optimum dapat bergeser dapat juga tidak. Dari Gambar 2 kurva pengaruh suhu pada enzim bebas berbeda dengan enzim yang diamobil, hal ini kecepatan peningkatan dan penurunan aktivitas enzim amobil relatip lebih konstan, kecilnya perubahan aktivitas terhadap fluktuasi suhu menunjukkan konformasi enzim enzim amobil lebih stabil dibandingkan dengan enzim bebas.

3. Pola operasional enzim amobil

Operasional enzim amobil yang dilakukan secara kontinu dapat dilihat pada gambar 3. Aktivitas glukanase (Cx) dari enzim amobil tetap dipertahankan sampai enzim tersebut beroperasi 85 jam. Setelah 85 jam baru mulai terlihat adanya penurunan aktivitas. Penurunan aktivitas setelah enzim amobil tersebut beroperasi 120 jam adalah 49,54%. Stabilnya aktivitas enzim amobil sampai jam ke 120 hal ini disebabkan enzim masih terlindung oleh bahan pendukungnya sehingga tidak konformasi enzim akibat faktor yang mempengaruhi enzim tidak langsung berinteraksi dengan enzim.

4. Pola pemakaian berulang enzim amobil

Aktivitas enzim amobil tetap dipertahankan sampai enzim amobil tersebut dapat dipakai berulang sebanyak 7 kali (5,25 jam). Setelah 5,25 jam baru mulai terlihat adanya penurunan aktivitas. Penurunan aktivitas setelah enzim amobil tersebut dipakai berulang 10 kali (7,5 jam) adalah 70% (gambar 4). Adanya penurnan aktivitas enzim amobil, disebabkan stabilitas dan daya katalisis enzim dipengaruhi oleh faktor lingkungan terhadap gugus fungsi reaktip pada pusat aktip enzim. Bila suatu enzim sering digunakan, maka seringnya interaksi antara substrat dengan enzim akan mempengaruhi gugus reaktip enzim sehingga terjadi perubahan konformasi enzim.

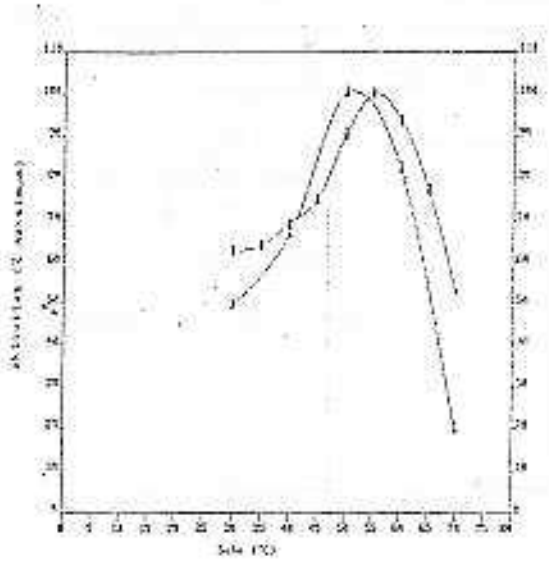
KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

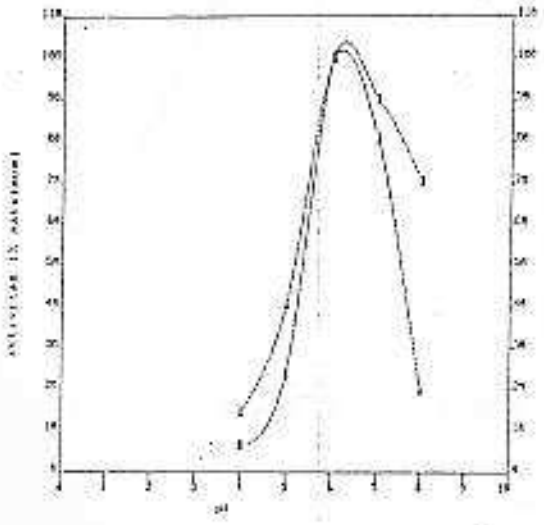
1. pH optimum enzim amobil tidak tidak bergeser (pH 6,0), tetapi suhu optimum enzim amobil bergeser menjadi 55°.

2. Pola operasional enzim amobil menunjukkan bahwa aktivitas enzim amobil masih tetap setelah enzim tersebut beroperasi 85 jam.

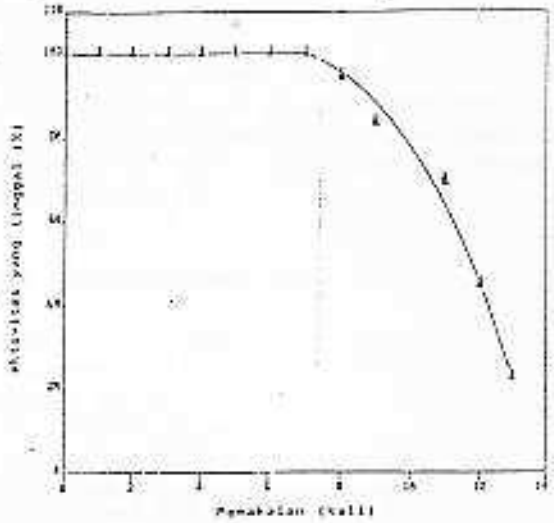
3. Pemakaian berulang enzim amobil dalam jangka waktu 5,25 jam (7 kali pemakaian), tidak menunjukkan perubahan aktivitas.



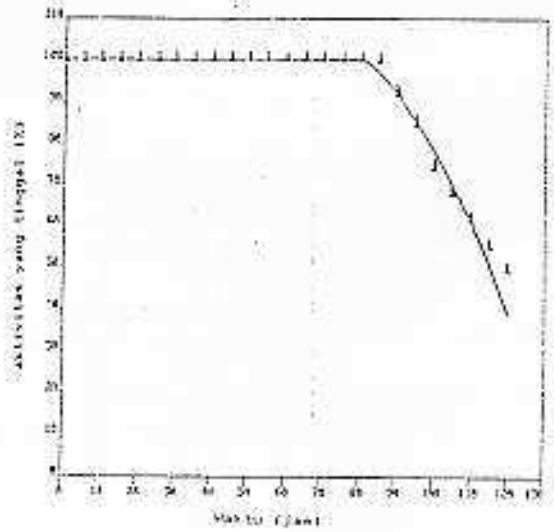
Gambar 2 Pengaruh suhu terhadap aktivitas
Ex. (A-A) : Enzim bebas, (I-I):
Enzim amobil



Gambar 1 Pengaruh pH terhadap aktivitas
Ex. (A-A) : Enzim bebas, (I-I):
Enzim amobil



Gambar 4 Pemakaian berulang oncim Cs Amobil



Gambar 5 Operasional oncim Cs amobil

DAFTAR PUSTAKA

Chang, S.C. and K.H. Steinkraus, (1982) Lignocellulolytic Enzyme Produced by *Volvariella volvacea*. J. Appl. Environmen, 43, 440-446.

Chibata, I., (1978) Immobilized Enzymes. Research and Development, Tokyo.

Kennedy, J.F. and J.M.S. Cabral, Enzyme Immobilization, Biotechnology, 7a. Weinheim. 4. Mandels, M., (1982) Annual reports on fermentation processes New York.

Trevan, M.D., (1980) Immobilized Enzyme, Chichester.

Wirahadikusumah, M dan F. Madyanti, (1990) Teknologi enzim, ITB, Bandung.