

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK TERMOFILIK DAN PENENTUAN
KONDISI OPTIMUM ENZIM SELULASE ISOLAT *C1a RP***

Skripsi Sarjana Kimia

Oleh :

Meffy Tessa Yosephsa
05932028



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

ABSTRAK

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK TERMOFILIK DAN PENENTUAN KONDISI OPTIMUM ENZIM SELULASE ISOLAT *Cla RP*

Oleh :

Meffy Tessa Yosephsa (05932028)

Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas

Penelitian isolasi dan optimasi produksi enzim selulase dari bakteri termofilik ini dilakukan untuk menggali potensi lokal Indonesia dalam memproduksi enzim selulase yang selama ini terpenuhi melalui impor. Bakteri termofilik untuk produksi enzim selulase termostabil ditapis dari Sumber Air Panas Rimbo Panti Pasaman. Dari hasil penapisan diperoleh 12 isolat yang merupakan bakteri selulolitik. Ini terlihat dari terbentuknya zona bening pada medium yang mengandung CMC setelah diwarnai dengan congo red. Untuk selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas dan optimasi terhadap isolat *Cla RP* yang merupakan isolat hasil penapisan dari titik 2 meter dari pusat semburan sumber 1. Hasil fermentasi dalam medium cair memperlihatkan bahwa isolat *Cla RP* memiliki aktivitas maksimum pada lama fermentasi 6 jam pada substrat CMC 2 % (b/v) dalam buffer asam pospat pH 7,8, yaitu sebesar 0,053 $\mu\text{mol}/\text{menit}$. Penentuan kondisi optimum dilakukan terhadap 3 parameter, yaitu suhu inkubasi, lama inkubasi, dan konsentrasi substrat. Enzim selulase dari isolat *Cla RP* memiliki kondisi optimum pada suhu inkubasi 50 °C, lama inkubasi 50 menit, dan konsentrasi substrat CMC 3 % (b/v). Berdasarkan optimasi konsentrasi substrat, dapat diperoleh nilai $-1/K_M = -1,719$, sehingga nilai konstanta Michealis-Menten (K_M) dari reaksi enzimatik, yaitu sebesar 0,582 %. Sedangkan nilai $1/V_{\text{max}} = 18,1$, maka nilai V_{max} sebesar 0,055.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan energi setiap tahun semakin meningkat, sehingga banyak dilakukan penelitian yang berhubungan dengan bahan bakar alternatif. Salah satunya adalah penelitian mengenai bioetanol. Bioetanol merupakan sumber energi yang ramah terhadap lingkungan, sehingga hanya sedikit memberikan kontribusi terhadap penumpukan CO₂ di atmosfer dan dapat mengurangi efek rumah kaca dan global warming, tidak seperti bahan bakar fosil.

Produksi bioetanol yang telah dilakukan selama ini adalah dengan menggunakan bahan-bahan yang mengandung lignoselulosa. Penggunaan bahan lignoselulosa sebagai bahan pembuatan bioetanol, prinsipnya adalah degradasi selulosa menjadi glukosa. Proses ini dapat berlangsung secara enzimatik dan nonenzimatik. Secara enzimatik, tahap ini melibatkan enzim selulase untuk memecah selulosa menjadi molekul glukosa^[1].

Enzim selulase dapat dihasilkan dari aktivitas mikroorganisme. Penggunaan mikroorganisme dalam produksi enzim selulase sangat menguntungkan. Selain mudah dibiakkan, mikroorganisme mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi dan mudah dikontrol pertumbuhannya.^[2,3]

Penelitian terhadap enzim selulase ini sangat penting, karena enzim selulase dapat dimanfaatkan untuk penguraian bahan yang mengandung selulosa menjadi monomernya, yaitu glukosa. Glukosa ini dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, seperti industri bioetanol, industri kertas, industri makanan, dan industri obat-obatan.^[4]

Mikroorganisme potensial yang sering digunakan untuk memproduksi enzim selulase adalah *Trichoderma viridae* yang merupakan golongan jamur. Selain jamur *Trichoderma*, masih banyak golongan bakteri yang dapat memproduksi enzim selulase, terutama enzim selulase termostabil. Bakteri tersebut dapat ditapis dari sumber air panas dan tanah^[5].

Kondisi alam Indonesia yang banyak gunung berapi, sehingga juga memiliki banyak sumber air panas. Sumber air panas memiliki potensi besar bakteri termofilik. Bakteri tersebut ada yang memiliki aktivitas selulase

termostabil. Lingkungan hidup yang ekstrim menjadikan mikroorganisme ini mempunyai ketahanan terhadap temperatur tinggi.

Selama ini kebutuhan akan enzim selulase untuk industri dipenuhi secara impor. Padahal kondisi alam Indonesia sangat mendukung untuk produksi enzim selulase melalui mikroba lokal terseleksi. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini untuk memperoleh mikroba termofilik lokal yang potensial sebagai penghasil enzim selulase termostabil.

1.2. Perumusan Masalah

Mikroorganisme termofilik yang memiliki aktivitas yang menghasilkan enzim termostabil selulase terdapat di lingkungan kita sendiri. Seperti halnya terdapat pada Sumber Air Panas Rimbo Panti, Pasaman Timur, Sumatera Barat. Potensi ini dapat digali untuk menemukan isolat-isolat unggul yang dapat menghasilkan enzim selulase.

Perombakan selulosa menjadi monomer glukosa membutuhkan peran enzim selulase. Selama ini enzim selulase hanya diimpor dari luar negeri, sehingga penelitian ini merumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat bakteri selulolitik termofilik pada Sumber Air Panas Rimbo Panti.
2. Bagaimana kondisi optimum isolat unggul.
3. Bagaimanakah aktivitas enzim selulase dari isolat unggul pada kondisi optimum.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini secara umum adalah sebagai berikut :

1. Menapis mikroba isolat unggul untuk menghasilkan enzim termostabil selulase dari Sumber Air Panas Rimbo Panti.
2. Mencari lama fermentasi optimum untuk produksi enzim selulase dari isolat unggul.
3. Menguji aktivitas enzim selulase dari isolat unggul pada kondisi optimum.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Isolat tunggal *Cla RP* diperoleh melalui penapisan sebanyak 4 kali. Isolat *Cla RP* adalah isolat yang berasal dari titik 2 m dari pusat semburan sumber 1. Pengujian potensi terhadap isolat ini memberikan zona bening pada medium yang mengandung CMC setelah diwarnai dengan congo red.
2. Waktu fermentasi optimum untuk memproduksi enzim selulase dari isolat *Cla RP* adalah pada saat 6 jam dengan aktivitas enzim sebesar 0,052 $\mu\text{mol}/\text{menit}$.
3. Kondisi optimum enzim selulase adalah pada suhu inkubasi 50 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0,053 $\mu\text{mol}/\text{menit}$, waktu inkubasi 55 menit dengan kadar glukosa sebesar 537,829 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan konsentrasi substrat 3 % (b/v) dengan aktivitas enzim sebesar 0,044 $\mu\text{mol}/\text{menit}$.
4. Berdasarkan penentuan optimasi konsentrasi substrat diperoleh nilai konstanta Michelis-Menten (K_M) dari reaksi enzimatik tersebut adalah sebesar 0,582 % dan nilai V_{max} sebesar 0,055.

5.2. Saran

1. Disarankan untuk melakukan identifikasi mikroskopis terhadap bakteri hasil penapisan.
2. Disarankan untuk melakukan fraksinasi dengan aseton dingin untuk mendapatkan enzim yang murni.
3. Disarankan untuk melakukan optimasi pH agar mendapatkan kondisi optimum yang lebih lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hambali, Erliza, dkk. 2007. *Menimba Ilmu Dari Pakar Teknologi Bioenergi*. Jakarta : Agro Media.
- [2] Selby, K. The Cellulose of *Trichoderma viridae*, *J. Biochemistry*, 104 : 716-724 (1967).
- [3] Volk, A. W. and Wheeler, F. M. 2000. *Mikrobiologi Dasar, jilid 2, edisi kelima*. Jakarta : Erlangga. Hal. 319-320.
- [4] Hidayat, Nur, dkk. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta : Penerbit ANDI.
- [5] Rosla, Viona. 2002. *Amobilisasi Enzim Selulase Dari Trichoderma viridae Dengan Matriks Perlit Yang Telah Dimodifikasi*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas.
- [6] Daintith, John, BSc, PhD. *Kamus Kimia Lengkap*. Jakarta : Erlangga. Hal. 94, 171-172.
- [7] Thenawijaya, Maggy. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : Erlangga. Hal. 235-239.
- [8] Montgomery, R., et al. 1993. *Biokimia*. Jilid 1. Edisi keempat. Hal 190-192. Gadjah Mada University Press.
- [9] Murray, Robert K dkk. 1995. *Biokimia Harper*. Edisi ke – 22. EGC.
- [10] Wheny. 2007. *Enzim (Sifat-Sifat Umum)*. Materi Kuliah Jurusan Ilmu Tanah. Yogyakarta : Universitas Pembangunan Nasional Veteran.
- [11] Sumarsih, Sri. 2003. *Diktat Kuliah Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta : Universitas Pembangunan Nasional Veteran.
- [12] Rosmimik. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah. Selulase*. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Bogor. Indonesia. Hal : 219.
- [13] Blair, G.D. and L.A. Kevin. 1999. Cellulase-inducible ultrastructural Protuberances and Cellulose affinity Proteins of Eubacterium cellulosolvens. *Anaerobe*, 5 : 547-554.
- [14] Hidayati. 1996. *Isolasi dan Penentuan Aktivitas Enzim Selulase Dari Trichoderma viride*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas.