

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan suatu biokatalisator yang banyak dimanfaatkan saat ini. Bioteknologi enzim telah banyak digunakan dalam industri. Banyak industri telah mengganti proses produksi konvensional yang menggunakan bahan kimia dengan proses secara enzimatik. Proses-proses konvensional diganti karena berdampak negatif terhadap lingkungan dan peralatan. Selain itu proses produksi secara enzimatik memiliki beberapa keunggulan di antaranya menghasilkan lebih sedikit produk samping, tidak beracun jika digunakan dengan benar, dan dapat diproduksi dalam jumlah yang tidak terbatas (Hartati, 2012).

Enzim selulase memiliki banyak manfaat di bidang industri farmasi dan kesehatan seperti selulase dimanfaatkan untuk menghidrolisis selulosa untuk digunakan sebagai bahan dasar pembuatan produk seperti metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilselulosa, hidrosipropilmetilselulosa, natrium karboksimetil selulosa yang biasa digunakan sebagai bahan pengikat tablet (Cantor *et al.*, 2008), untuk mengatasi *phytobezoar* yaitu kumpulan selulosa, rambut, semen dan bahan tak tercerna lainnya dari tumbuhan yang dapat menjadi tukak lambung (Lee *et al.*, 1977), serta dapat mengurangi dampak negatif dari polusi limbah terhadap lingkungan (Hartanti, 2010). Enzim selulase dapat diperoleh dari tanaman, insekta, ruminansia (Hartati, 2012) serta mikroorganisme seperti fungi dan bakteri (Saropah dkk., 2012). Salah satu bakteri yang dapat menghasilkan selulase adalah *Bacillus sp.* (Sadhu *et al.*, 2013). Dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya, keunggulan kelompok bakteri adalah memiliki

tingkat pertumbuhan yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi selulase menjadi lebih pendek (Alam *et al.*, 2004).

Enzim selulase terdiri atas tiga kelompok enzim yakni endo β -1,4-glukanase, ekso β -1,4-glukanase dan β -1,4-glukosidase. Tiga kelompok enzim selulase ini bekerja sinergis dalam proses perombakan selulosa menjadi glukosa. Endo β -1,4-glukanase (CMCase atau *carboxy methyl cellulase*) bekerja menghidrolisis struktur selulosa secara acak dan membentuk selooligosakarida. Ekso β -1,4-glukanase (*avicelase* atau *cellobiohydrolase*) mendegradasi selooligosakarida menjadi selodekstrin atau selobiosa. Hasil hidrolisis Endo β -1,4-glukanase dan Ekso β -1,4-glukanase adalah unit-unit sakarida yang lebih kecil yakni selobiosa yang dapat didegradasi oleh selobiase atau β -1,4-glukosidase menjadi glukosa (Whitaker, 1971; Karmakar and Ray, 2011).

Enzim selulase menghidrolisis substrat berdasarkan struktur substratnya. Struktur substrat yang berkristal lebih sulit dihidrolisis dibandingkan dengan substrat yang berstruktur amorf. Substrat selulosa dibagi menjadi dua kategori yakni substrat yang larut dalam air dan substrat yang tidak larut dalam air. Substrat selulosa yang larut dalam air contohnya adalah turunan selulosa dengan rantai panjang yakni CMC dan substrat selulosa tidak larut dalam air contohnya selulosa kristalin yakni avicel (Zhang *et al.*, 2006).

Penggunaan enzim dalam industri harus memenuhi persyaratan tertentu seperti harus stabil dan tahan pH ekstrim. Banyak penelitian seperti isolasi enzim, karakterisasi ekstrak enzim, pemurnian serta penentuan substrat spesifik suatu enzim dilakukan agar didapatkan enzim yang berdaya guna. Susanto (2012) mengisolasi bakteri selulolitik dari ampas tebu yang diketahui dari genus *Bacillus* yang kemudian diberi nama SF01. Selanjutnya Ariputri (2014) melalui analisis homologi gen penyandi 16S

rRNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* strain B7 dan isolat *Bacillus subtilis* SF01 memiliki kedekatan homologi tertinggi yaitu 99%. Karakterisasi lanjutan dilakukan Utami (2015) dan ditemukan waktu panen yang optimal untuk *Bacillus subtilis* SF01 pada jam ke-17 sampai ke-24, sedangkan waktu optimum untuk produksi ekstrak kasar enzim selulase adalah pada jam ke-20 dengan suhu produksi 37°C. Enzim selulase yang dihasilkan dari *Bacillus subtilis* SF01 ini memiliki aktivitas optimum pada suhu 60°C dengan pH 5,0. Pemberian ion-ion logam berat diketahui dapat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Umumnya ion logam berat akan merusak sisi aktif enzim sehingga menghambat aktivitas dan degradasi protein enzim (Prasad & Strzalka, 2002). Penelitian yang dilakukan Tanwijaya (2016), Oentoro (2016), Pratiwi (2016), Suharto (2015) tentang pengaruh pemberian ion-ion logam terhadap aktivitas ekstrak selulase *Bacillus subtilis* SF01 menunjukkan bahwa ion logam K⁺, Co²⁺, dan Ba²⁺ pada konsentrasi 0,1 mM – 10 mM, ion logam Ni²⁺ dan Sn²⁺ pada konsentrasi 5 mM dan 10 mM, ion logam Al³⁺ konsentrasi 0,5 mM - 10 mM serta penambahan senyawa pereduksi *dithiothreitol* (DTT) konsentrasi 7 dan 9 mM, senyawa 2-merkaptolanol konsentrasi 10 mM - 20 mM dan penambahan glutation konsentrasi 15 mM - 25 mM dapat meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim sedangkan dengan pemberian ion Cu²⁺ konsentrasi 5 mM – 100 mM dan ion logam Hg²⁺ konsentrasi 1 mM, 5mM dan 10 mM dapat menurunkan aktivitas ekstrak kasar enzim.

Karakterisasi enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis* SF01 ini dapat dilanjutkan dengan menentukan jenis ekstrak kasar dari enzim tersebut yakni endoglukanase, eksoglukanase atau β-glukosidase. Penentuan tersebut dapat dilakukan dengan melihat hasil hidrolisis substrat oleh ketiga enzim selulase tersebut. Metode yang dapat digunakan dalam menentukan

spesifisitas substrat adalah dengan mengetahui nilai parameter kinetika enzim terhadap masing-masing substrat. Uji parameter kinetika pada enzim dapat dilakukan jika enzim tersebut dalam keadaan murni. Metode lain yang dapat digunakan dalam menentukan spesifisitas substrat dengan menganalisis jenis substrat yang bisa dihidrolisis oleh enzim tersebut, dengan mengidentifikasi produk reaksi enzimatik yang dihasilkan. Analisis produk dapat dilakukan dengan berbagai metode. Namun analisis melibatkan pemisahan akan sangat berguna misalnya Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Analisis KLT adalah metode analisis kualitatif yang cukup sederhana menggunakan fase diam dan fase gerak yang sesuai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 yang ditunjukkan oleh produk hasil hidrolisis ekstrak kasar enzim pada substrat-substratnya dengan metode KLT-Densitometri. Substrat yang digunakan mewakili penggolongan enzim selulase yakni CMC Na sebagai substrat yang cocok untuk penggolongan enzim endoglukanase, avicel PH 101 digunakan dalam penggolongan enzim eksoglukanase, dan *p*-NPG sebagai substrat spesifik untuk β -glukosidase (Ozioko *et al.*, 2013). Hidrolisis endoglukanase menghasilkan selooligosakarida dan hidrolisis avicel oleh eksoglukanase menghasilkan selobiosa (Sakti, 2012). Fase diam yang digunakan adalah plat silika gel dan fase geraknya adalah etil asetat : air : metanol (40:15:20) (Sookavatana, 2001) dan butanol : asam asetat : air (2:1:1) (Takahashi *et al.*, 2010). Hasil elusi produk hidrolisis masing-masing enzim terhadap substratnya akan divisualisasikan menggunakan reagen penampak bercak. Setelah didapatkan senyawa hasil hidrolisis maka selanjutnya dicek menggunakan densitometer.

Hipotesa penelitian ini adalah jenis enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 adalah jenis endoglukanase karena pada proses produksi

bakteri terdahulu menggunakan substrat CMC sebagai *inducer* dan didapat aktivitas yang cukup tinggi. Diketuinya jenis ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 diharapkan berguna dalam pengaplikasiannya di industri. Pengaplikasian enzim yang tepat dapat memaksimalkan hasil yang didapat. Selain itu, diharapkan juga penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut terhadap ekstrak kasar enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan maka dirumuskan masalah adalah :

Bagaimana profil kromatogram dan spektrum hasil hidrolisis substrat oleh ekstrak kasar enzim selulase asal isolat bakteri *Bacillus subtilis* SF01 ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Mengetahui jenis ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01.

1.4 Hipotesa Penelitian

Hipotesa penelitian ini adalah enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 adalah jenis enzim endoglukanase.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait jenis ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis* SF01 sehingga dalam pengaplikasiannya dapat dilakukan dengan tepat.