

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Indonesia merupakan negara yang mempunyai hasil pertanian dan perkebunan yang cukup tinggi. Indonesia merupakan salah satu sumber penghasil selulosa utama di dunia dalam bentuk limbah produk pertanian dan perkebunan. Jika dimanfaatkan secara optimal limbah kaya kandungan selulosa ini dapat menjadi sumber energi baru dari alam (Khianggam *et al.*, 2014). Beberapa produk hasil hidrolisis selulosa antara lain adalah bioetanol, asam laktat dan glukosa (Gautam & Sharma, 2014).

Di alam, selulosa merupakan biomassa yang paling melimpah dan banyak ditemukan dalam tanaman karena selulosa merupakan komponen utama penyusun tanaman. Sekitar 50% biomassa tanaman atau berat kering dari tanaman adalah selulosa (Patagundi *et al.*, 2014). Selulosa terdiri dari unsur C, O, dan H. Selulosa memiliki rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Pikukuh *et al.*, 2011). Selulosa merupakan biopolimer yang tersusun dari ratusan rantai linier atau ribuan unit D-glukosa melalui ikatan $\beta(1\rightarrow4)$ glikosidik. Hidrolisis sempurna selulase menjadi glukosa dilakukan secara sinergis oleh enzim kompleks selulase, yang terdiri dari endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase, dan 1,4- β -D-glukosidase (Ozioko *et al.*, 2013).

Enzim selulase merupakan enzim yang kompleks, yang terdiri dari selobiohidrolase (eksoglukanase), endoglukanase atau karboksimetil selulase (CMC-ase) dan α -glukosidase. Enzim selulase diproduksi oleh mikroorganisme yang proses hidrolisanya terjadi di luar sel sehingga enzim selulase tergolong enzim ekstraseluler. Hasil enzim ekstraseluler disekresikan keluar sel dan berdifusi ke dalam media, jadi tidak perlu

dilakukan lisis sel untuk memperoleh enzimnya. Kerja enzim ekstraseluler yaitu memecah atau mengurai molekul-molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana, sedangkan enzim intraseluler bekerja di dalam sel. Organisme yang mampu memproduksi selulase antara lain fungi, bakteri, dan ruminansia. Bakteri-bakteri selulolitik yang telah diisolasi antara lain *Acetobacter xylinum* (Klemm *et al.*, 1998), *Clostridium*, *Actinomycetes*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, dan *Methanobrevibacter ruminantium* (Gupta *et al.*, 2011). Disamping itu fungi juga mampu memproduksi selulase, beberapa diantaranya adalah *Trichonympha* (Nelson & Cox, 2008), *Chaetomium*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, dan *Aspergillus* (Gupta *et al.*, 2011). Selulase juga dapat diproduksi oleh tumbuhan, salah satunya adalah benih dari tanaman kapas atau batang tanaman tahunan seperti jerami gandum atau bambu (Klemm *et al.*, 1998).

Enzim selulase digunakan dalam industri pengolahan pati, minuman beralkohol, fermentasi gandum dan bir, penjernihan jus, pemutihan kertas, industri tekstil dan untuk pakan ternak (Khianggam *et al.*, 2014). Dalam bidang farmasi enzim selulase dapat digunakan sebagai suplemen untuk membantu proses sistem pencernaan. Produk hidrolisis enzim seperti metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilmetilselulosa, hidroksi-propilselulosa, natrium karboksimetilselulosa sering digunakan sebagai bahan penyalut, pengikat, pengisi, penghancur, pelicin pada proses pembuatan tablet, dan *suspending agent* (Cantor *et al.*, 2008).

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi empat isolat dari bakteri selulolitik asal limbah ampas tebu. Salah satu isolat tersebut dimurnikan lebih lanjut dan isolat murni yang diperoleh diberi kode SF01 (Hartanti *et al.*, 2014^a). Hasil karakterisasi makroskopis, mikroskopis, biokimia dan analisis homologi gen penyandi 16S rRNA menunjukkan

bahwa isolat SF01 tersebut merupakan bakteri *Bacillus subtilis* yang memiliki kedekatan filogenetik dengan *Bacillus subtilis* strain B7 (Hartanti *et al.*, 2014^b). *Bacillus subtilis* strain SF01 pada media MHB dan karboksimetilselulosa memasuki fase logaritmik setelah 2 jam fase adaptasi dan fase stasioner dicapai setelah 21 jam fermentasi. Selulase mulai diproduksi pada fermentasi jam ke-4 serta mencapai aktivitas maksimum pada fermentasi jam ke-21 (Hartanti *et al.*, 2014^a). Enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01 ini memiliki aktivitas optimum pada pH 5 dan suhu 60°C (Hartanti *et al.*, 2014^b).

Di samping kondisi pH, suhu optimum, kestabilan pH dan termal, aktivitas suatu enzim juga dipengaruhi oleh ion-ion logam. Ion-ion logam yang berperan sebagai kofaktor akan meningkatkan aktivitas suatu enzim, sedangkan ion-ion logam yang mengurangi atau menghambat aktivitas enzim disebut sebagai inhibitor enzim. Telah ada penelitian yang menyatakan bahwa ion logam Mn^{2+} dan Co^{2+} merupakan kofaktor dari selulase yang berasal dari *Bacillus subtilis* YJ1 yang berasal dari fermentasi beras, ion-ion K^+ , Na^+ dan NH_4^+ tidak mempengaruhi aktivitas dari enzim selulase, sedangkan ion-ion logam Cd^{2+} , Fe^{2+} dan Hg^{2+} bersifat menonaktifkan enzim tersebut (Yin *et al.*, 2010). Penelitian dari sumber lain mengenai pengaruh ion logam terhadap enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari ladang padi juga menunjukkan bahwa ion Mn^{2+} berperan sebagai kofaktor, sedangkan ion-ion Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Na^{2+} , dan Zn^{2+} berperan sebagai inhibitor (Vijayaraghavan & Vincent, 2012).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh ion logam Mn^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , dan Mg^{2+} terhadap aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu. Masing-masing ion logam tersebut akan diuji pada beberapa variasi konsentrasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan menentukan ion-ion apa saja yang mampu meningkatkan

atau menghambat aktivitas dari enzim selulase *Bacillus subtilis* SF01, serta untuk menentukan pada konsentrasi berapa ion logam tersebut efektif meningkatkan aktivitas enzim selulase *Bacillus subtilis* SF01. Informasi mengenai pengaruh ion-ion logam terhadap aktivitas enzim selulase ini akan sangat bermanfaat dalam pemilihan media produksi enzim maupun substrat reaksi enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01, untuk memperoleh kondisi yang memberikan aktivitas enzim yang optimal pada aplikasinya di berbagai bidang.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang timbul pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan bagaimana pengaruh ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ dalam meningkatkan atau menghambat aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 di berbagai konsentrasi 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM ?
2. Pada konsentrasi berapa ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ dapat meningkatkan atau menghambat aktivitas enzim selulase *Bacillus subtilis* SF01 ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan manakah diantara ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ yang dapat meningkatkan atau menghambat aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01.
2. Menentukan pada konsentrasi berapa ion logam dapat meningkatkan/ menghambat aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Penambahan ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan Na^+ diperkirakan dapat menghambat aktivitas enzim selulase.
2. Penambahan ion logam Mn^{2+} diperkirakan dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah informasi mengenai pengaruh ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Na^+ terhadap aktivitas selulase asal *Bacillus subtilis* SF01. Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan diperoleh informasi lebih lanjut dalam penentuan komposisi media untuk produksi enzim selulase dengan memperhatikan komposisi media agar tidak mengandung ion logam tertentu yang diduga dapat menghambat aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01. Produksi enzim selulase asal *Bacillus subtilis* SF01 dapat ditambahkan ion logam tertentu yang dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase sehingga aktivitas yang dihasilkan dapat lebih tinggi. Selain itu dapat digunakan pada pengaplikasian di berbagai bidang seperti pengolahan limbah pertanian, industri pangan, industri farmasi, dan bidang industri lainnya dalam penggunaan skala besar.