

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Selulase merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 pada rantai selulosa. Selulase dapat diproduksi oleh fungi, bakteri, protozoa, tumbuhan dan binatang yang memiliki aktivitas selulolitik. Beberapa bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik antara lain *Trichonympha*, *Clostridium*, *Actinomycetes*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, *Methanobrevibacter ruminantium* (Gupta *et al.*, 2011) *Cellulomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Micrococcus sp.* (Shanmugapriya *et al.*, 2012). Fungi yang memiliki aktivitas selulolitik antara lain *Chaetomium*, *Fusarium myrothecium*, *Trichoderma*, *Penicillium* dan *Aspergillus* (Gupta *et al.*, 2011). Selulase menghidrolisis selulosa dengan menggunakan kombinasi tiga tipe selulosa, yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Untuk menghidrolisis selulosa, mikroorganisme penghasil selulase harus mensekresi selulase untuk membebaskan ikatan antar permukaan sel. Selulase banyak digunakan pada berbagai industri seperti industri tekstil, industri kertas dan industri makanan, selain itu dapat pula digunakan sebagai bahan tambahan dalam deterjen dan membantu pencernaan pada hewan (Zhang & Zhang, 2013). Pada bidang farmasi, selulase digunakan untuk menghidrolisis selulosa sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan produk seperti metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilselulosa, hidroksipropilmetilselulosa dan natrium karboksimetil selulosa yang biasa digunakan sebagai bahan pengikat tablet (Cantor *et al.*, 2008) .

Telah banyak enzim selulase yang dihasilkan dari berbagai sumber dengan karakteristik yang bisa saja berbeda. Berdasarkan penelitian terdahulu, telah dihasilkan isolat murni bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik yang dapat menghasilkan enzim selulase dari limbah ampas tebu. Setelah dilakukan karakterisasi visual meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis dengan dan tanpa pewarnaan, karakterisasi biokimia serta Uji Kit dengan menggunakan *Microbact: Gram-negative identification system*, diperoleh kesimpulan bahwa bakteri dari ampas tebu ini termasuk dalam genus *Bacillus* (Susanto, 2012). Selanjutnya dilakukan analisis homologi gen penyandi 16S rRNA terhadap isolat tersebut dengan melakukan isolasi DNA kromosom dan amplifikasi gen penyandi 16S rRNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki homologi terdekat dengan *Bacillus subtilis* strain B7 dengan homologi 99%, dan selanjutnya isolat bakteri dari ampas tebu ini disebut sebagai *Bacillus subtilis* strain SF01 (Ariputri, 2014).

Meskipun kecil, ada perbedaan 1 % antara isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 dan *Bacillus subtilis* strain B7 yang dapat menjadi ciri khas dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01. Setelah dilakukan karakterisasi dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01, didapatkan karakter yang spesifik seperti waktu panen isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 yang optimal pada jam ke-17 sampai ke-24 sedangkan waktu optimum untuk produksi ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 adalah pada jam ke-20 dengan suhu produksi 37° C. Ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01 memiliki aktivitas optimum pada suhu 60° C dengan pH 5. Karakteristik spesifik dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 ini selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk proses produksi & proses pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim selulase (Utami, 2015).

Mengingat *Bacillus subtilis* strain SF01 adalah spesies bakteri selulolitik pertama yang diisolasi dari ampas tebu, maka perlu dilakukan karakterisasi lanjut seperti menentukan bahan-bahan apa saja yang dapat meningkatkan aktivitas (kofaktor) atau menurunkan aktivitas (inhibitor) enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01. Ion-ion seperti Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} dan Zn^{2+} diketahui memiliki peran sebagai kofaktor. Namun peran sebagai kofaktor ditentukan pada enzim mana kofaktor tersebut dapat berikatan kovalen secara kuat pada gugus prostetik enzim, misalnya ion Cu^{2+} pada enzim sitokrom oksidase, Fe^{2+} atau Fe^{3+} pada sitokrom oksidase, katalase dan peroksidase, ion K^+ pada piruvat kinase, Mg^{2+} pada heksokinase dan piruvat kinase, Zn^{2+} pada alkohol dehidrogenase, dan sebagainya. Inhibitor enzim dapat menurunkan aktivitas maupun menghentikan aktivitas enzim. Inhibitor enzim dibagi menjadi dua jenis yaitu *reversible* dan *irreversible*. Inhibitor *reversible* adalah inhibitor yang dapat dilepaskan kembali setelah terikat dengan enzim. Ada dua jenis inhibitor *reversible* yaitu, *competitive inhibitor* yang bekerja dengan cara berkompetisi dengan substrat untuk menduduki sisi aktif enzim dan *non-competitive inhibitor* yang bekerja dengan menempati sisi lain enzim selain sisi aktif dan tidak mengganggu substrat. Sedangkan inhibitor *irreversible* merupakan inhibitor yang tidak dapat dilepaskan setelah terikat dengan enzim dan bersifat merusak enzim (Nelson & Cox, 2004).

Ion-ion logam khususnya logam berat seperti Cu^{2+} , Zn^{2+} , dan Fe^{2+} sangat mempengaruhi aktivitas enzim. Umumnya ion logam berat akan merusak sisi aktif dari enzim yang menyebabkan penghambatan aktivitas dan degradasi protein enzim (Prasad & Strzalka, 2002). Ion Fe^{2+} yang biasa digunakan dalam proses Fenton untuk mendegradasi selulosa menjadi biomasa (Bhange *et al.*, 2015), dapat menyebabkan penurunan aktivitas pada enzim selulase dari *Bacillus subtilis subsp. inaquosorum* strain KCTC

13429 dengan konsentrasi 5 mM (Gautam & Sharma, 2014). Ion Cu^{2+} dapat menurunkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis subsp. inaquosorum* strain KCTC 13429 dengan konsentrasi 5 mM (Gautam & Sharma, 2014) dan ion Zn^{2+} memberikan peningkatan aktivitas pada enzim selulase dari *Bacillus sp.* K-11 dengan konsentrasi 5 mM (Caf *et al.*, 2014). Namun demikian ion logam yang sama dapat memberikan pengaruh yang berbeda pada enzim dari sumber organisme yang berbeda. Beberapa contoh adalah penambahan ion logam Fe^{2+} pada enzim selulase dari *Bacillus subtilis* NS7 yang diisolasi dari tanah menunjukkan peningkatan aktivitas dengan konsentrasi 1 mM (Bansal *et al.*, 2012), ion Cu^{2+} dengan konsentrasi 5 Mm dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari bagian rhizosfer cabai (Narasimhan *et al.*, 2013), dan ion Zn^{2+} menurunkan aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis subsp. inaquosorum* strain KCTC 13429 dengan konsentrasi 5 mM (Gautam & Sharma, 2014).

Selain ion logam berat, ion NH_4^+ yang digunakan dalam proses purifikasi, dapat meningkatkan aktivitas pada enzim selulase yang berasal dari *Bacillus subtilis* LFS3 (Rawat & Tewari, 2012). Sama halnya dengan pengaruh ion logam berat, ion NH_4^+ dapat memberikan pengaruh yang berbeda pula, yaitu pada enzim selulase dari *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari tanah menunjukkan penurunan aktivitas dengan konsentrasi pemberian 10 mM (Pokhrel *et al.*, 2014). Ion NH_4^+ dalam bentuk garam sulfat merupakan salah satu kandungan dalam reagen untuk “salting out” proses purifikasi. Ion NH_4^+ akan mengedapkan protein dan meningkatkan aktivitas enzim karena mengurangi kontak pengotor dengan sisi aktif enzim untuk dapat berikatan dengan substrat (Alviyulita *et al.*, 2014). Berdasarkan perbedaan pengaruh ion-ion logam dan ion NH_4^+ terhadap beberapa

aktivitas selulase pada beberapa penelitian sebelumnya tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh ion logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan ion NH_4^+ yang biasa terkandung dalam reagen atau bahan-bahan yang digunakan dalam proses produksi dan purifikasi enzim selulase terhadap enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01 dengan variasi konsentrasi 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM dan 100 mM. Dengan demikian diharapkan dapat diperoleh informasi yang dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan pada pemilihan bahan-bahan untuk proses purifikasi atau aplikasi enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01 yang memiliki efek negatif seminimal mungkin,

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan maka dirumuskan masalah sebagai berikut :

Bagaimanakah pengaruh penambahan ion logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan ion NH_4^+ dengan variasi konsentrasi 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM dan 100 mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Mengetahui pengaruh penambahan ion logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} dan ion NH_4^+ dilihat dari variasi konsentrasi 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM dan 100 mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01.

1.4 Hipotesa Penelitian

Pada penelitian ini dapat ditarik hipotesa :

1. Penambahan ion logam Fe^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} akan menurunkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 mulai pada konsentrasi 5 mM – 100 mM.
2. Penambahan ion NH_4^+ akan meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 mulai pada konsentrasi 10 mM – 100 mM.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai ion yang dapat menghambat atau meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 asal limbah ampas tebu sehingga dapat menunjang proses produksi, purifikasi dan karakterisasi enzim pada penelitian selanjutnya.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menunjukkan karakteristik ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 asal limbah ampas tebu yang dapat diaplikasikan pada berbagai bidang khususnya industri farmasi .