BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Enzim adalah biokatalisis atau polimer biologis yang dihasilkan oleh tubuh untuk mengkatalisis reaksi kimia dan meningkatkan laju reaksi yang terjadi dalam jaringan tubuh dengan cara menurunkan energi aktivasi sehingga suatu reaksi dapat berjalan dengan cepat (Montgomery *et al.*, 1993). Enzim merupakan katalis yang sangat selektif dan bersifat spesifik untuk macam-macam tipe reaksi yang dikatalisis maupun substrat yang berhubungan erat (Kennelly & Rodwell, 2009). Telah diketahui bahwa sebagian besar enzim adalah protein. Beberapa enzim digolongkan ke dalam protein sederhana karena hanya memerlukan struktur protein untuk aktivitas katalitiknya, sedangkan beberapa lainnya tergolong protein terkonjugasi karena memerlukan suatu komponen non protein yang disebut kofaktor (Amstrong, 1995).

Enzim selulase termasuk golongan hidrolase, yang terdiri atas tiga enzim utama yaitu *endo- β -glucanase* (EC 3.2.1.4), *exo- β -glucanase* (EC 3.2.1.91), dan *β -glucosidase* (EC 3.2.1.21) (Crueger and Crueger, 1984). Ketiga enzim ini bekerja secara bersama mendegradasi selulosa dan menghasilkan gula reduksi sebagai produk akhirnya. Enzim selulase merupakan salah satu dari sekian banyak enzim yang permintaannya paling banyak atau cukup tinggi di pasaran. Hal ini dikarenakan peningkatan produksi bioetanol yang berasal dari bahan berselulosa. Enzim selulase memegang peranan penting dalam

biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi protein sel tunggal, makanan ternak, etanol dan lain-lain (Chalal, 1983). Selulase juga digunakan dalam berbagai bidang industri seperti industri tekstil, detergen, pulp, pengolahan limbah kertas dan sampah, serta pengolahan kopi (Frazier, 1981). Dalam bidang farmasi, selulase digunakan untuk menghidrolisis selulosa yang digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilselulosa, hidroksipropilmetilselulosa, dan natrium karboksimetilselulosa, yang merupakan bahan-bahan tambahan yang biasa digunakan dalam proses pembuatan tablet atau sebagai *suspending agent* (Cantor *et al*, 2008).

Enzim selulase dapat diproduksi dari mikroba selulolitik baik kapang maupun bakteri. Beberapa kapang dan bakteri selulolitik yang dapat menghasilkan selulase di antaranya adalah *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, dan *Sporasphytophaga*. *Tricoderma reesei* adalah kapang selulolitik yang paling banyak diteliti, karena mampu mensekresikan selulase sekitar 80% (Lynd *et al.*, 2002). Enzim selulase yang dihasilkan oleh masing – masing mikroorganisme memiliki karakteristik yang berbeda – beda. Hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH, lingkungan tempat enzim bekerja, konsentrasi substrat, dan waktu inkubasi. Semua jenis enzim memiliki rentang suhu optimum untuk bekerja yang berbeda – beda pada tiap jenis mikroorganisme. Sebagian besar enzim yang tergolong dalam mesozim memiliki aktivitas optimum pada suhu 20° – 50°C (Volk and Wheeler, 1984).

Penelitian mengenai isolasi enzim selulase baik dari bakteri, kapang maupun tumbuhan telah banyak dilakukan, di antaranya dari tanah (Meryandini *et al.*, 2009; Lisdiyanti *et al.*, 2012). Tanah merupakan habitat yang didominasi oleh berbagai macam jenis mikroorganisme seperti bakteri, fungi, alga, dan protozoa (Subba, 1995). Mangunwardoyo *et al.* (2011) telah melaporkan kapang penghasil selulase yang diisolasi dari tanah, air sungai dan sedimen Taman Nasional Gunung Halimun. Isolasi selulase dari rumput laut *Ulva lactuca* telah dilaporkan oleh Trivedi *et al.* (2011). Isolasi selulase dari spons laut *Dendrilla nigra* juga telah dilaporkan oleh Shanmughapriya *et al.* (2010) dan juga bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah sekitar mangrove (Gao *et al.*, 2010). Selain beberapa penelitian di atas, masih banyak lagi penelitian mengenai enzim selulase yang diisolasi dari berbagai bakteri selulolitik. Meskipun penemuan mengenai sumber enzim selulase telah banyak dilaporkan, tidak menutup kemungkinan penemuan sumber baru yang dapat menghasilkan enzim selulase dengan karakteristik yang berbeda dari yang sudah ada.

Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Susanto (2012) diketahui bahwa dari limbah ampas tebu dapat diisolasi bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik. Isolat bakteri ini kemudian dilakukan karakterisasi secara visual meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis, dengan dan tanpa pewarnaan, karakterisasi biokimia, dan uji KIT biokimia. Hasil karakterisasi mengarahkan kesimpulan bahwa bakteri yang diisolasi dari limbah ampas tebu ini termasuk dalam genus *Bacillus* (Susanto, 2012). Isolat bakteri ini

kemudian disebut sebagai isolat *Bacillus subtilis strain* SF01 (Susanto, 2012). Penelitian lanjutan yang dilakukan terhadap isolat ini adalah analisis homologi gen penyandi 16S rRNA dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom, pengujian elektroforesis DNA, amplifikasi, dilanjutkan dengan sekuensing gen penyandi 16S rRNA. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat bakteri selulolitik asal limbah ampas tebu memiliki kemiripan dengan *Bacillus subtilis strain* B7 dengan prosentase homologi 99% . Isolat bakteri ini kemudian disebut sebagai isolat *Bacillus subtilis strain* SF01 (Ariputri, 2014).

Perbedaan yang hanya 1% dengan *Bacillus subtilis strain* B7 ini menunjukkan bahwa walaupun terdapat perbedaan yang sangat kecil bisa saja menjadi ciri khas dari isolat *Bacillus subtilis strain* SF01 ini. Penelitian selanjutnya yang dilakukan yaitu karakterisasi dari isolat *Bacillus subtilis* secara spesifik meliputi waktu panen, waktu optimum untuk produksi dan suhu optimum. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa waktu panen yang optimal untuk isolat *Bacillus subtilis* adalah pada jam ke-17 sampai ke-24, sedangkan waktu optimum untuk produksi ekstrak kasar enzim selulase dari isolat ini adalah pada jam ke-20 dengan suhu optimum untuk produksi adalah 37⁰C. Aktivitas optimum untuk isolat ini adalah pada suhu 60⁰C dengan pH 5. Karakteristik spesifik dari isolat *Bacillus subtilis strain* SF01 ini selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk proses produksi dan pengujian lanjutan ekstrak kasar enzim selulase (Utami,2015)

Mengingat bahwa isolat *Bacillus subtilis strain* SF01 ini merupakan spesies bakteri selulolitik pertama yang diisolasi dari limbah ampas tebu, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk

mengetahui bahan-bahan apa saja yang dapat meningkatkan aktivitas enzim atau yang biasa disebut kofaktor atau aktivator serta bahan-bahan yang dapat menurunkan aktivitas enzim atau inhibitor. Peran aktivator maupun inhibitor berbeda pada masing – masing enzim tergantung pada bagian mana kofaktor atau inhibitor tersebut berikatan baik secara kovalen yang merupakan ikatan kimia kuat maupun ikatan kimia yang lebih lemah seperti hidrogen, *van der Waals* dan lain-lain yang dapat menyebabkan penurunan atau peningkatan aktivitas dari suatu enzim. Beberapa ion logam diketahui memiliki aktivitas sebagai kofaktor dari suatu enzim, seperti misalnya ion Cu^{2+} sebagai aktivator pada enzim sitokrom oksidase, Fe^{2+} atau Fe^{3+} selain sebagai aktivator pada sitokrom oksidase, juga sebagai aktivator pada enzim katalase dan peroksidase, ion K^+ pada piruvat kinase, Mg^{2+} pada heksokinase dan piruvat kinase, dan sebagainya (Nelson & Cox, 2004).

Ion – ion logam khususnya logam berat sangat mempengaruhi aktivitas enzim. Pada umumnya, logam berat menghambat aktivitas enzim dengan cara merusak sisi aktif enzim, sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat secara tepat. Hal ini menyebabkan penghambatan aktivitas dan degradasi protein enzim (Prasad & Strzalka, 2002). Ion Al^{3+} dapat meningkatkan aktivitas dari enzim selulase pada konsentrasi di bawah 1 mmol/L. Namun demikian, pada konsentrasi lebih dari 1 mmol/L sampai 10 mmol/L, maka ion logam Al^{3+} dapat menurunkan aktivitas dari enzim selulase yang berasal *Trichoderma reesei* ini (Wang *et al*, 2012). Ion Hg^{2+} pada konsentrasi 1 mM dapat menghambat aktivitas enzim selulase yang berasal dari *Trichoderma viride* (Iqbal *et al*, 2011). Ion logam yang

sama dapat memberikan pengaruh yang sama maupun berbeda pada enzim yang berasal dari sumber yang berbeda, seperti halnya ion logam Hg^{2+} juga dapat menurunkan aktivitas dari enzim selulase yang berasal dari *Bacillus subtilis* YJ1 pada konsentrasi 1mM, 5mM dan 10mM (Yin *et al*, 2010). Mawadza *et al*. (2000) melaporkan bahwa ion logam Ni^{2+} pada konsentrasi 1 mmol/L dapat sedikit meningkatkan aktivitas dari enzim selulase *Bacillus subtilis* CH43 dan HR68 yang diisolasi dari sumber air panas di Zimbabwe. Untuk ion logam Sn^{2+} belum pernah ada yang meneliti pengaruhnya terhadap aktivitas enzim selulase, apakah meningkatkan atau menurunkan aktivitas. Namun demikian, pengaruh ion logam ini telah diteliti pengaruhnya terhadap aktivitas dari enzim α -amilase yang berasal dari *Bacillus megaterium* VUMB109. Pada enzim α -amilase ini, ion logam Sn^{2+} dapat meningkatkan aktivitas dari enzim pada konsentrasi 1mM sampai 10mM (Jana *et al*, 2012).

Pada penelitian lanjutan ini, akan dilakukan pengujian pengaruh ion logam Al^{3+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+} terhadap aktivitas enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01. Pengujian dilakukan pada variasi konsentrasi 0,1mM, 0,5mM, 1mM, 5mM, dan 10mM. Enzim yang digunakan adalah ekstrak kasar selulase yang diperoleh dari isolat *Bacillus subtilis* SF01. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh ion logam-logam ini terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase sehingga ke depannya diharapkan dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan untuk pemilihan bahan-bahan yang akan digunakan untuk proses purifikasi maupun aplikasi enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimanakah pengaruh penambahan ion logam Al^{3+} , Hg^{2+} dengan variasi konsentrasi 0,1mM, 0,5mM, 1mM, 5mM dan 10mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 asal limbah ampas tebu?
2. Bagaimanakah pengaruh penambahan ion logam Sn^{2+} , dan Ni^{2+} dengan variasi konsentrasi 0,1mM, 0,5mM, 1mM, 5mM dan 10mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 asal limbah ampas tebu?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Mengetahui pengaruh penambahan ion logam Al^{3+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+} pada variasi konsentrasi 0,1mM, 0,5mM, 1mM, 5mM dan 10mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu.

1.4 Hipotesa penelitian

Pada penelitian ini dapat ditarik hipotesa:

1. Penambahan ion logam Al^{3+} dan ion logam Hg^{2+} pada konsentrasi $> 0,1$ mM dapat menurunkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu

2. Penambahan ion logam Sn^{2+} dan ion logam Ni^{2+} pada konsentrasi $> 0,1$ mM dapat meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01 asal limbah ampas tebu

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh penambahan ion-ion logam Al^{3+} , Hg^{2+} , Sn^{2+} , dan Ni^{2+} terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase, sehingga kedepannya dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan untuk pemilihan bahan-bahan yang akan digunakan untuk proses produksi, purifikasi maupun aplikasi enzim selulase dari *Bacillus subtilis* SF01.