

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Selulase merupakan salah satu enzim yang dapat dihasilkan oleh beberapa kelompok hewan yang mengandung bakteri selulolitik, tumbuhan dan beberapa jenis fungi. Contoh dari bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik adalah *Trichonympha*, *Clostridium*, *Actinomycetes*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, *Methanobrevibacter ruminantium* (Gupta *et al.*, 2011), *Cellulomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* dan *Micrococcus sp.* (Shanmuga priya *et al.*, 2012). Fungi yang memiliki aktivitas selulolitik adalah *Chaetomium*, *Fusarium myrothecium*, *Trichoderma*, *Penicillium* dan *Aspergillus* (Gupta *et al.*, 2011). Banyak manfaat yang diperoleh dari enzim selulase ini, salah satu contohnya adalah untuk penanganan limbah pertanian secara biologi (Meryandini *et al.*, 2009). Pada bidang industri sering digunakan pada industri tekstil, makanan, dan kertas (Zhang and Zhang, 2013). Pada bidang kefarmasian enzim selulase digunakan untuk melancarkan pencernaan atau memproduksi bahan-bahan yang berfungsi sebagai pengikat tablet seperti metilselulosa, etilselulosa, hidroksipropilselulosa (Cantor *et al.*, 2008).

Enzim selulase yang telah dihasilkan oleh mikroorganisme dapat memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi karakteristik enzim selulase adalah faktor lingkungan seperti, pH, suhu, konsentrasi substrat tertentu, waktu inkubasi, dan lingkungan tempat enzim bekerja. Sebagian besar enzim memiliki suhu optimum pada 20-50°C dan kenaikan suhu tersebut pada umumnya dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia suatu enzim, tetapi suhu yang terlalu

tinggi dapat menyebabkan denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim. Waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim selulase terbilang singkat, hal tersebut dikarenakan mikroorganisme dari kelompok bakteri penghasil enzim selulase memiliki pertumbuhan yang cepat (Forgaty & Weshoff, 1983).

Beberapa penelitian mengatakan bahwa banyak sumber yang dapat menghasilkan enzim selulase. Meskipun sumber yang dapat menghasilkan enzim selulase banyak ditemukan, tidak menutup kemungkinan penemuan sumber enzim dari mikroorganisme dan sumber baru lainnya dapat menghasilkan enzim selulase baru dengan karakteristik yang berbeda. Berdasarkan data penelitian terdahulu oleh Susanto (2012) diketahui bahwa limbah dari ampas tebu dapat menghasilkan isolat bakteri murni yang memiliki aktivitas selulolitik penghasil enzim selulase. Setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis, dengan dan tanpa pewarnaan, karakterisasi biokimia, dan uji kit dengan menggunakan *Microbact: Gram-negative identification system*, mikroorganisme penghasil enzim selulase dapat disimpulkan termasuk dalam genus *Bacillus*. Isolat bakteri ini selanjutnya diberi kode isolat SF01 (Sutanto, 2012). Pada penelitian 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). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ada kemiripan homologi yang dekat dari bakteri selulolitik asal ampas tebu tersebut dengan *Bacillus subtilis* strain B7 dengan persentase homologi 99%. Namun perbedaan 1% menunjukkan keunikan isolat tersebut sehingga selanjutnya disebut sebagai isolat *Bacillus subtilis* Strain SF01 (Ariputri, 2014). Pada penelitian selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat *Bacillus subtilis* Strain SF01 maupun enzim yang dihasilkannya. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa

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 (Utami, 2014; Hartanti *et al.*, in press).

Bacillus subtilis SF01 adalah bakteri selulolitik spesies pertama yang berasal dari ampas tebu, sehingga perlu diteliti lebih lanjut dengan menentukan bahan-bahan apa saja yang berfungsi sebagai peningkat aktivitas (kofaktor) maupun penurun aktivitas (inhibitor). Ion-ion logam seperti K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , 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 (Nelson & Cox, 2004). Seperti yang kita ketahui beberapa penelitian menemukan pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim selulase yang dapat meningkatkan ataupun menurunkan aktivitas enzim selulase, ada juga ion logam yang tidak memberikan efek terhadap aktivitas enzim selulase. Contohnya ion-ion seperti K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ba^{2+} dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase. Namun tidak semua ion logam memiliki efek yang sama terhadap satu enzim dan enzim lain, seperti yang sudah dibuktikan oleh penelitian-penelitian dan yang sudah ditulis di beberapa jurnal. Ion K^+ pada konsentrasi 1 mM dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase dengan meningkatkan aktivitas enzim selulase asal *Bacillus thuringiensis* strains (Lin *et al.*, 2012) ada juga yang mengatakan bahwa ion K^+ pada konsentrasi 1 mM; 5 mM; dan 10 mM tidak berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* YJ1 (Yin *et al.*, 2010). Sedangkan pada penelitian lainnya menyimpulkan bahwa ion K^+ dengan konsentrasi 10 mM dapat menurunkan aktivitas enzim

selulase asal *Bacillus subtilis* yang di isolasi dari tanah (Pokhrel *et al.*, 2014). Ion logam lainnya yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase adalah Co^{2+} dan Fe^{3+} dengan konsentrasi 5mM dapat menurunkan aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* C1AC5507 (Padilha *et al.*, 2014). Pada penelitian lainnya mengatakan bahwa Co^{2+} dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase sedangkan Fe^{3+} dapat menurunkan aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* YJ1 pada konsentrasi 10mM (Yin *et al.*, 2010). Pada artikel lain ditemukan bahwa ion Ba^{2+} dan K^+ dapat berfungsi meningkatkan aktivitas enzim selulase, tetapi ion logam Fe^{3+} berfungsi menurunkan aktivitas enzim selulase asal *Bacillus subtilis* (Li *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh ion K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} dan Ba^{2+} terhadap aktivitas enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01. Produksi selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 dilakukan dengan fermentasi bakteri di media Nutrient Broth + Carboxymethyl Cellulose (CMC) 1% selama 21 jam. Enzim yang digunakan adalah enzim ekstraseluler yang kadarnya ditentukan dengan metode *Bradford* dengan pembandingan *Bovine Serum Albumin* (BSA). Aktivitas selulase diuji menggunakan substrat CMC 1% pada pH 5,0 suhu 60°C selama 45 menit. Gula pereduksi yang dihasilkan direaksikan dengan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan diamati secara spektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm dan dibandingkan dengan glukosa. Pada pengujian pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim, sebelum reaksi dengan substrat enzim dinkubasi terlebih dulu dengan larutan ion logam berbagai konsentrasi selama 20 menit.

Maka 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 dengan melihat pengaruh ion K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} dan Ba^{2+} terhadap

aktivitas enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 yang mungkin saja terdapat dalam reagen atau bahan-bahan yang digunakan dalam proses produksi dan purifikasi enzim selulase terhadap enzim selulase dari *Bacillus subtilis* strain SF01.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan maka dirumuskan masalah sebagai berikut bagaimanakah pengaruh penambahan ion logam K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} dan Ba^{2+} dengan variasi konsentrasi 0; 0,1; 0,5; 1; 5; 10 mM terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan logam K^+ , Fe^{3+} , Co^{2+} dan Ba^{2+} dilihat dari variasi konsentrasinya terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* SF01.

1.4 Hipotesa Penelitian

Pada penelitian ini dapat ditarik hipotesa :

1. Penambahan logam K^+ , Co^{2+} , Ba^{2+} akan meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 pada konsentrasi 0,1 mM – 10 mM.
2. Penambahan logam Fe^{3+} akan menurunkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat *Bacillus subtilis* strain SF01 pada konsentrasi 0,1 mM – 10 mM.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai ion logam 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.