

PRODUKSI ENZIM SELULASE TERMOSTABIL DARI BAKTERI NG2 MENGGUNAKAN BERBAGAI SUMBER SELULOSA ASAL LIMBAH PERTANIAN DAN PERKEBUNAN
(Production of Thermostable Cellulase Enzyme by NG2 Bacteria Using Various Cellulose Sources from the Agriculture Waste)

Rahmad Fani Ramadhan¹, Montesqrit², dan Yetti Marlida²

¹Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

²Program Studi Ilmu Peternakan Fakultas Peternakan, Universitas Andalas

Email: fani.rahmad@gmail.com

ABSTRACT

This experiment aimed to determine the best cellulose sources from the agricultural by product on the production of the thermostable cellulase enzymes by thermophilic bacteria (NG2) and also to find out the best concentration level of the selected sources of cellulose. The experiment was conducted in two stages using a completely randomized design (CRD). In phase 1, four cellulose sources were used, namely A: corn cobs, B: rice straw, C: coconut fiber, and D: oil palm trunk, in which the replication for each source was five. In phase 2, the best sources of cellulose from the phase 1 was used at four different levels of concentration, i.e., A: 2%, B: 3%, C: 4%, and D: 5%, in which replication for each concentration was five. The result of phase 1 showed that the corn cobs was the best cellulose source in producing cellulase enzyme. This was indicated by the activity of 0.329 U/ml, the enzyme protein of 0.0328 mg/ml, and the specific activity of 10.165 U/mg, which were significantly higher ($P < 0.01$) than those of other cellulose sources. The results of phase 2 showed that the concentration of 4% (w/v) had the highest ($P < 0.01$) specific activity of 44.002 U/mg compared with those of the other concentrations. In conclusion, the highest production of cellulase enzyme using thermophilic bacteria (NG2) was obtained at the concentration of 4% (w/v) using the corn cobs as the cellulose source.

Keywords: Cellulase, Thermophilic, NG2 bacteria, Thermostable, Corn cobs

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mencari sumber selulosa terbaik dari limbah pertanian dan perkebunan dalam menghasilkan enzim selulase oleh bakteri termofilik NG2 dan mencari konsentrasi tertinggi dari sumber selulosa terpilih. Penelitian dilakukan 2 tahap secara eksperimen, masing-masing menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pada tahap 1, digunakan 4 sumber selulosa sebagai perlakuan yaitu A: tongkol jagung; B: jerami padi; C: sabut kelapa; dan D: batang kelapa sawit, masing-masing diulang sebanyak 5 kali. Pada tahap 2 digunakan materi dari selulosa yang menghasilkan konsentrasi enzim selulase tertinggi pada tahap 1, dengan 4 konsentrasi sumber selulosa yang meliputi A: 2%; B: 3%; C: 4%; D: 5%, dengan ulangan sebanyak 5 kali. Hasil penelitian Tahap 1 menunjukkan bahwa sumber selulosa tertinggi dalam memproduksi enzim selulase adalah tongkol jagung dengan aktivitas sebesar: 0,329 U/ml, protein enzim sebesar: 0,0328 mg/ml dengan aktivitas spesifik yaitu: 10,165 U/mg berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dari sumber selulosa yang lainnya. Pada Tahap 2 diperoleh hasil bahwa konsentrasi 4% (w/v) tongkol jagung dengan aktivitas spesifik tertinggi yaitu 44,002 U/mg berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dari konsentrasi yang lainnya. Kesimpulan penelitian ini adalah produksi enzim selulase menggunakan bakteri termofilik NG2 tertinggi diperoleh menggunakan 4% (w/v) dengan sumber selulosa terbaik yaitu tongkol jagung.

Kata Kunci: Selulase, Termofilik, Bakteri NG2, Termostabil, Tongkol jagung

PENDAHULUAN

Limbah pertanian dan perkebunan pada saat ini mempunyai peluang untuk dimanfaatkan

secara optimal sebagai pakan ternak dan pengelolaannya perlu dilakukan secara tepat sehingga ketersediaannya berkesinambungan. Permasalahan dalam pemanfaatan limbah

pertanian dan perkebunan, seperti tongkol jagung, jerami padi, sabut kelapa dan batang kelapa sawit adalah limbah yang memiliki kandungan serat kasar yang tinggi termasuk selulosa, lignin dan tanin yang sangat sukar dicerna oleh ternak non-ruminansia (Lubis, 1992).

Pada umumnya bahan limbah pertanian dan perkebunan mengandung kadar serat yaitu hemiselulosa, selulosa dan lignin yang tinggi. Limbah pertanian dan perkebunan yang mengandung selulosa tinggi yaitu tongkol jagung sebesar 41% (Lorenz dan Kulf, 1991), jerami padi 33% (Hardjo, 1989), sabut kelapa 21,07% (Tyas, 2000) dan batang kelapa sawit 34% (Aliman dan Bejo, 1995). Berbeda dengan tenak ruminansia, saluran pencernaan ternak unggas tidak dapat mencerna hemiselulosa dan selulosa.

Mikroorganisme yang menghasilkan enzim selulase mampu memecah selulosa menjadi bentuk sederhana seperti glukosa, sehingga glukosa dengan mudah dapat dimanfaatkan oleh ternak. Selanjutnya menurut Kenedi (2012), bakteri NG2 merupakan bakteri gram negatif, berspora dan berbentuk batang. Kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri NG2 diperoleh pada pH 7,0, dengan suhu 60°C, lama inkubasi 30 jam dan menghasilkan aktifitas spesifik 59,45 U/mg.

Aplikasi enzim kedalam pakan ternak bertujuan untuk membantu mendegradasi senyawa kompleks menjadi sederhana diluar tubuh ternak dan dilanjutkann di dalam saluran pencernaan. Aplikasi enzim sebagai tambahan bahan pakan ke dalam ransum di Eropa dan Amerika sudah tidak asing lagi, namun tidak demikian dengan di Indonesia. Dengan demikian pengembangan aplikasi enzim dalam pakan ternak selain untuk industri dan pengolahan limbah sangat berpotensi untuk dikembangkan.

Proses produksi enzim harus memperhatikan bahan yang murah dan mudah didapat terutama bahan penginduksi produksi enzim, pada enzim selulase bahan penginduksinya adalah selulosa, pada produksi enzim selulase secara komersil biasanya menggunakan selulosa murni seperti *carboxy methyl cellulose* (CMC), karena mahalnya CMC tersebut maka perlu diganti dengan bahan yang murah seperti yang berasal dari limbah pertanian dan perkebunan yang mengandung selulosa tinggi seperti tongkol jagung, jerami padi, sabut kelapa dan batang kelapa sawit. Yeti

et al. (2003) menemukan bahwa semakin tinggi kandungan selulosa dari suatu bahan semakin tinggi kemampuannya dalam menginduksi produksi enzim selulase. Tongkol jagung, jerami padi, sabut kelapa dan batang kelapa sawit mempunyai potensi besar sebagai substrat penginduksi produksi enzim selulase dengan harga murah.

Tongkol jagung mempunyai kandungan selulosa yang lebih tinggi dari jerami padi, sabut kelapa, dan batang kelapa sawit, dan diharapkan akan menghasilkan produksi enzim selulase yang tinggi. Dalam memproduksi enzim dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, semakin tinggi konsentrasi substrat maka semakin tinggi produktifitas enzimnya. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian untuk melihat limbah pertanian dan perkebunan yang dapat memproduksi enzim selulase tertinggi dan juga perlu diketahui konsentrasi substrat dari sumber selulosa yang dapat menghasilkan produksi enzim selulase sehingga dapat menggantikan substrat selulosa pengganti CMC.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pakan Universitas Andalas dan terdiri atas dua tahap percobaan.

Percobaan tahap I

Percobaan ini bertujuan mencari sumber selulosa dari limbah pertanian dan perkebunan terbaik dalam memproduksi enzim selulase. Percobaan ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Keempat perlakuan tersebut adalah (A: Tongkol jagung; B: Jerami padi; C: Sabut kelapa; dan D: Batang kelapa sawit).

Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) digunakan untuk melihat perbedaan antar perlakuan (Steel and Torrie, 1993).

Peremajaan bakteri NG2

Bakteri NG2 yang berasal dari sumber air panas Kab. Solok Selatan yang disimpan pada media NA (*Nutrient Agar*) di dalam freezer disegarkan kembali pada medium cair (*Nutrien Broth/NB*). Ke dalam 10 ml media NB steril diinokulasikan bakteri NG2 dari media NA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 60°C dalam shaker water bath untuk

membiarkan bakteri tumbuh dengan baik di mana diperoleh populasi sekitar 10^6 CFU/ml (Yetti *et al.*, 2003).

Penyiapan sumber selulosa

Sumber selulosa yang berasal dari limbah pertanian dan perkebunan berupa: tongkol jagung, jerami padi, sabut kelapa dan batang kelapa sawit dikeringkan sampai bahan keringnya (BK) mencapai 85%. Kemudian sampel tersebut digiling sampai ukuran 5-10 mm. Selanjutnya masing-masing sampel disimpan di dalam plastik dan diberi label menjelang digunakan.

Produksi enzim selulase

Media produksi enzim selulase adalah: sumber selulosa (1%), yeast ekstrak (0,2 gram), Na_2HPO_4 (1,5 gram), Amonium chloride (0,5 gram), TE (1,17 ml), semua bahan dilarutkan dalam masing-masing 100 ml aquades, dengan pH larutan 7, kemudian diautoklaf lebih kurang selama 15 menit pada suhu 121°C , tekanan 1 atm, kemudian media didinginkan dan diinokulasi dengan inokulum bakteri NG2 sebanyak 2% (v/v) yang sebelumnya telah ditanam ulang pada medium NB. Kemudian medium diinkubasi pada suhu 60°C dalam *shaker water bath* dengan kecepatan 90 rpm/jam, selama 30 jam (Kenedi, 2012). Setelah 30 jam, enzim dipanen dimana sebelumnya pH akhir produk diukur menggunakan pH meter, selanjutnya produk disentrifus pada kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Supernatan diambil atau bagian atas larutan diambil dan endapannya dibuang, supernatan adalah enzim selulase kasar yang siap diukur aktivitas dan kandungan proteinnya.

Pecobaan tahap II

Tahap ini bertujuan mencari konsentrasi sumber selulosa terpilih dari percobaan tahap I untuk memproduksi enzim selulase. Percobaan ini dilakukan menggunakan sumber selulosa terpilih dari percobaan tahap I dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan level selulosa dan diulang 5 kali. Level selulosa yang diuji masing-masing: 2% (A), 3% (B), 4% (C), dan 5% (D). Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) digunakan untuk melihat perbedaan antar perlakuan (Steel and Torrie, 1993).

Pelaksanaan percobaan pada Tahap II ini sama dengan percobaan pada Tahap I yaitu di mulai dari peremajaan bakteri NG2, penyiapan

sumber selulosa terpilih dari percobaan Tahap I, dan produksi enzim selulase.

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dari kedua tahap percobaan adalah: aktivitas enzim selulase (Nelson, 1944); protein enzim (Bradford, 1976) dan aktivitas spesifik enzim selulase.

Uji aktivitas selulase

Uji aktivitas enzim di lakukan dengan menurut Metode Nelson (1944) yaitu dengan mengambil 1 ml enzim selulase kasar di tambah pada 1 ml substrat (0,1 % CMC dalam buffer phospat 0,01 M pH 4,8), kemudian dicampur menggunakan vortek, setelah itu direaksikan di dalam *shaker water bath* selama 30 menit pada suhu 60°C . Selanjutnya reaksi dihentikan dengan meletakkan pada air mendidih selama 5 menit. Kemudian produk hidrolisis disentrifius pada kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Sebanyak 1 ml hidrolisat, ditambahkan reagen nelson A dan nelson B (1 ml), dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit, ditambahkan reagen phosphomolibdat (1 ml), ditambahkan aquades (7 ml), kemudian glukosa yang dibebaskan dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 575 nm.

Aktivitas enzim selulase dihitung berdasarkan data kadar selulosa relatif yang dirombak menjadi glukosa sebagai jumlah glukosa yang dihasilkan oleh kerja enzim selulase. Satu unit aktifitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya μg glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa oleh 1 ml ekstrak kasar enzim selulase selama masa inkubasi. Untuk melihat besarnya satu unit aktifitas enzim tersebut digunakan rumus :

$$AE = \frac{MG}{BMg \times MI} \times 1000$$

di mana :

- AE = Aktifitas enzim (Unit/ml filtrat enzim)
- MG = Mikrogram glukosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis
- BMg = Berat Molekul glukosa, 180,06
- MI = Masa Inkubasi, 30 menit

Uji protein enzim

Konsentrasi protein terlarut ditentukan dengan cara mengambil larutan enzim kasar

sebanyak 100 µl ditambah 1 ml reagen Bradford. Kemudian diamati perubahan warna dan dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm dengan menggunakan *Bovine Serum Albumine* (BSA) sebagai protein standar (Bradford, 1976).

Aktivitas spesifik

Aktivitas spesifik enzim didefinisikan sebagai berapa unit enzim yang terdapat pada satu mg protein. Berdasarkan definisi tersebut maka aktivitas spesifik enzim menunjukkan kemurnian suatu enzim, dengan demikian semakin besar aktifitas spesifiknya menunjukkan bahwa kemurnian enzim tersebut semakin tinggi. Aktivitas spesifik dapat di cari dengan cara membagikan aktivitas enzim dengan protein enzim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan Tahap I

Pengaruh berbagai sumber selulosa terhadap aktivitas selulase

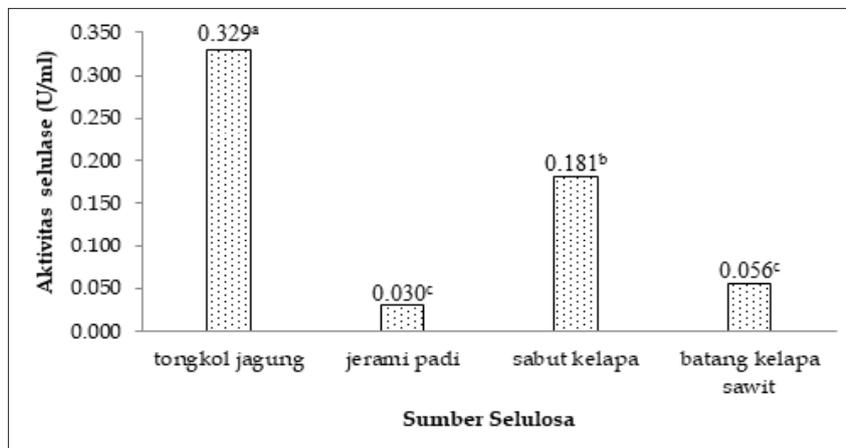
Hasil pengamatan aktifitas enzim selulase dari berbagai sumber selulosa pada Gambar 1 menunjukkan bahwa tongkol jagung memiliki aktifitas enzim selulase paling tinggi yaitu 0,329 Unit/ml diikuti oleh sabut kelapa (0,181 unit/ml), batang kelapa sawit (0,056 unit/ml) dan jerami padi (0,030 Unit/ml). Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase oleh bakteri NG2 pada berbagai sumber selulosa berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Setelah dilakukan uji lanjut, diperoleh hasil bahwa aktivitas enzim selulase pada perlakuan tongkol jagung nyata lebih tinggi ($P < 0,01$)

dibanding dengan perlakuan jerami padi, sabut kelapa dan batang kelapa sawit. Sementara pada perlakuan jerami padi aktivitas enzim tersebut tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan batang kelapa sawit.

Tingginya aktivitas enzim selulase pada tongkol jagung menunjukkan bahwa tongkol jagung dapat dijadikan sumber energi dengan baik oleh bakteri NG2 sehingga jumlah populasi bakteri NG2 yang tumbuh pada tongkol jagung diperkirakan lebih banyak dibandingkan pada sumber selulosa lainnya, sehingga tongkol jagung dapat menginduksi produksi enzim selulase lebih cepat. Hal ini disebabkan tongkol jagung mengandung selulosa lebih tinggi dibandingkan dengan jerami padi, sabut kelapa maupun batang kelapa sawit (Gambar 1).

Hal yang sama juga terjadi pada produksi enzim xilanase yang dilaporkan oleh Santi (2012) bahwa bakteri NG2 lebih baik tumbuh dan produksi enzim xilanase lebih tinggi menggunakan bagase tebu, karena kandungan xilan dari bagase tebu lebih tinggi. Silvia (2012) menambahkan bahwa bakteri NG2 tumbuh baik dan menghasilkan enzim manannase tertinggi menggunakan bungkil kelapa sebagai sumber karbon, dimana bungkil kelapa juga mengandung manan yang lebih tinggi dibandingkan ampas kelapa dan bungkil inti sawit. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri NG2 dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik apabila di tumbuhkan pada media yang mengandung sumber karbon yang tinggi. Berbeda dengan temuan yang diperoleh oleh Besty (2008), dimana jerami padi menghasilkan aktivitas enzim selulase tertinggi yaitu 179×10^{-3} nkat/ml dibandingkan dengan tongkol jagung yang menghasilkan hanya 128×10^{-3} nkat/ml menggunakan bakteri isolate CM



Gambar 1. Aktivitas enzim selulase (unit/ml) pada berbagai sumber selulosa

11-1. Perbedaan ini disebabkan setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda tergantung dari gen yang dimiliki bakteri dan sumber karbon yang digunakan.

Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini merupakan substrat selulosa yang tidak murni, dimana komponen selulosa terbungkus dan terikat secara kovalen maupun non kovalen pada lignin dan hemiselulosa (Perez *et al.*, 2002). Hemiselulosa maupun lignin akan mengganggu aktivitas enzim selulase yang hanya spesifik memotong ikatan β -1-4-glikosidik pada selulosa, sehingga aktivitas enzim selulase yang diperoleh pada penelitian ini lebih kecil bila dibandingkan dengan hasil yang diperoleh Kenedi (2012), yang menggunakan selulosa murni (CMC, *carboxymethyl cellulose*).

Pengaruh berbagai sumber selulosa terhadap protein enzim

Hasil pengamatan protein enzim dari berbagai sumber selulosa dapat dilihat pada Gambar 2. Penelitian ini menunjukkan bahwa batang kelapa sawit memiliki protein enzim yang paling tinggi yaitu sebesar 0,038 mg/ml di bandingkan dengan tongkol jagung (0,033 mg/ml), diikuti oleh jerami padi (0,012 mg/ml), dan sabut kelapa (0,030 mg/ml). Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa sumber selulosas yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap protein enzim yang dihasilkan.

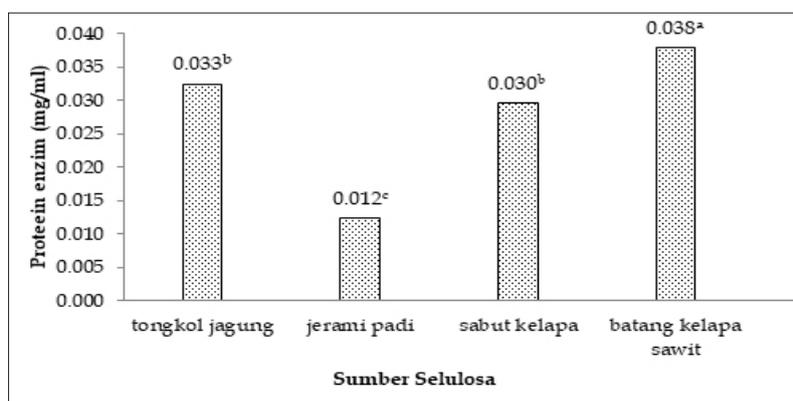
Berdasarkan hasil uji lanjut, diketahui protein enzim selulosa yang berasal dari batang kelapa sawit nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding semua sumber selulosa, sementara tongkol jagung dan sabut kepala tidak menunjukkan adanya perbedaan protein enzim. Diantara semua perlakuan, selulosa asal jerami

pada menunjukkan protein enzim yang nyata lebih rendah ($P < 0,05$) dibanding perlakuan lainnya.

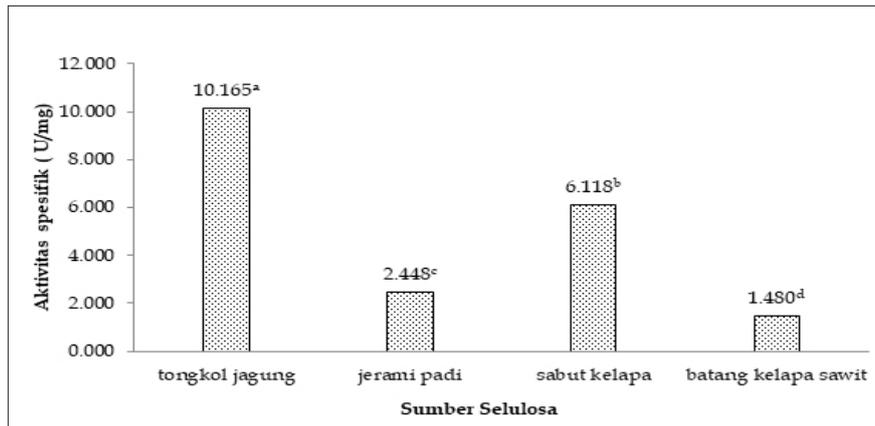
Kadar protein menunjukkan jumlah protein yang terkandung dalam enzim kasar. Enzim kasar mengandung protein enzim, protein dapat berasal dari bahan penyusun medium (Richana, 2006) dan Saat fermentasi ada kemungkinan kadar protein berkurang karena di konsumsi oleh bakteri sebagai sumber nitrogen. Bakteri memerlukan protein sebagai salah satu nitrogen organik dalam pertumbuhannya (Rachman, 1989).

Tingginya aktivitas enzim yang dihasilkan pada tongkol jagung mengakibatkan kebutuhan akan nitrogen lebih tinggi dibandingkan pada jerami padi, sabut kelapa, dan batang kelapa sawit. Sehingga kebutuhan akan nitrogen diambil dari protein yang terlarut yang mengakibatkan jumlah protein pada tongkol jagung berkurang, dibandingkan dengan batang kelapa sawit. Sedangkan tingginya protein pada batang kelapa sawit dikarenakan kandungan protein yang terdapat pada batang kelapa sawit lebih tinggi dari jerami padi dan sabut kelapa dan aktifitas selulosanya lebih rendah sehingga kebutuhan akan nitrogen tidak diambil dari protein yang terlarut sehingga protein pada batang kelapa sawit lebih tinggi dari sumber selulosa lainnya.

Berdasarkan struktur sumber selulosa yang digunakan, selulosa yang terdapat pada tongkol jagung lebih mudah terdegradasi oleh enzim selulase selama fermentasi karena lignin yang menyelimuti selulosa lebih rendah, sehingga kemungkinan protein dari sumber selulosa juga menjadi tambahan untuk protein enzim. Tidak demikian dengan sabut kelapa dan jerami padi, kedua bahan ini mempunyai struktur lignin yang kuat sehingga tidak saja aktivitas selulase yang rendah, protein enzim juga kecil.



Gambar 2. Protein enzim selulase dari berbagai sumber selulosa (mg/ml)



Gambar 3. Aktivitas spesifik enzim selulase dari berbagai sumber selulosa (U/mg)

Pengaruh berbagai sumber selulosa terhadap aktivitas spesifik

Hasil pengamatan aktifitas spesifik dari berbagai sumber selulosa dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan sumber selulosa memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas spesifik enzim selulase. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa tongkol jagung memiliki aktivitas spesifik enzim yang nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibanding sumber selulosa yang lainnya yaitu sebesar 10,165 U/mg. Aktivitas spesifik enzim tongkol jagung tersebut diikuti oleh perlakuan sabut kelapa (6,118 U/mg), sementara jerami padi batang kelapa sawit menunjukkan aktivitas enzim yang nyata lebih rendah, masing-masing sebesar ((2,448 dan 1,480 U/mg)

Aktivitas spesifik adalah jumlah unit enzim per miligram protein. Aktivitas spesifik di tentukan dengan membandingkan antara aktivitas enzim dengan protein enzim. Tingginya aktivitas enzim dan rendahnya nilai protein enzim yang dihasilkan oleh tongkol jagung sebagai sumber selulosa mengakibatkan tingginya aktivitas spesifik yang dihasilkan. Aktivitas spesifik menggambarkan tingkat kemurnian suatu enzim, semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim semakin murni enzim tersebut. Aktivitas spesifik yaitu banyaknya substrat yang dipecah oleh enzim yang dinyatakan dalam mg/menit per mg protein.

Pada penelitian ini aktivitas spesifik enzim selulase menggunakan tongkol jagung jauh lebih tinggi dibandingkan sumber selulosa lainya berarti pada sumber selulosa tongkol jagung enzim selulase yang dihasilkan mempunyai kemampuan memecah substrat lebih tinggi per mg protein. Hal yang sama juga dilaporkan oleh

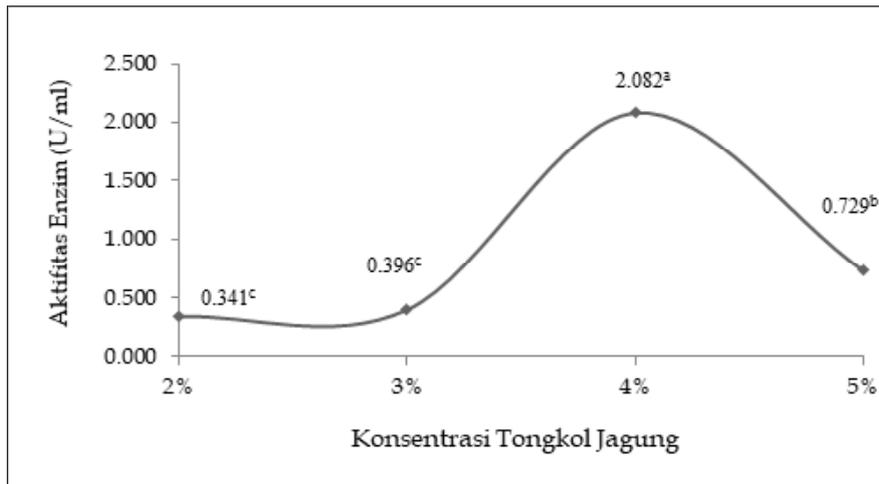
Sakthivel *et al.* (2010) dan Bai *et al.* (2012) bahwa sumber selulosa yang bersifat lebih kompleks dapat memaksa suatu mikroba mengeluarkan enzim lebih banyak dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi.

Percobaan Tahap II

Pengaruh konsentrasi tongkol jagung terhadap aktivitas selulase

Hasil pengamatan aktifitas enzim selulase dari berbagai konsentrasi tongkol jagung dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase tertinggi dan nyata ($P < 0,05$) pada perlakuan konsentrasi tongkol jagung 4% dibandingkan konsentrasi lainnya. Selain itu, Gambar 4 juga menunjukkan bahwa pada level yang lebih rendah (2 dan 3%), aktivitas enzim nyata lebih rendah dibanding konsentrasi 4%. Peningkatan konsentrasi hingga 5% nyata ($P < 0,05$) meningkatkan aktivitas enzim dibanding konsentrasi 2 dan 3%, namun demikian, masih jauh lebih rendah dibanding konsentrasi 4%. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi tongkol jagung 4% yang diujicobakan pada penelitian merupakan konsentrasi optimum yang memberikan aktivitas enzim selulase tertinggi.

Semakin meningkat konsentrasi sumber selulosa terlihat semakin tinggi aktivitas selulase yang dihasilkan sampai mencapai konsentrasi 4% tongkol jagung, namun apabila konsentrasi dinaikan sampai 5% aktivitas selulase mengalami penurunan yang tajam. Hal ini mungkin disebabkan terjadinya inhibisi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ray *et al.* (2007) yang melaporkan bahwa sumber karbon dalam medium harus mencukupi untuk kebutuhan



Gambar 4. Aktivitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi tongkol jagung

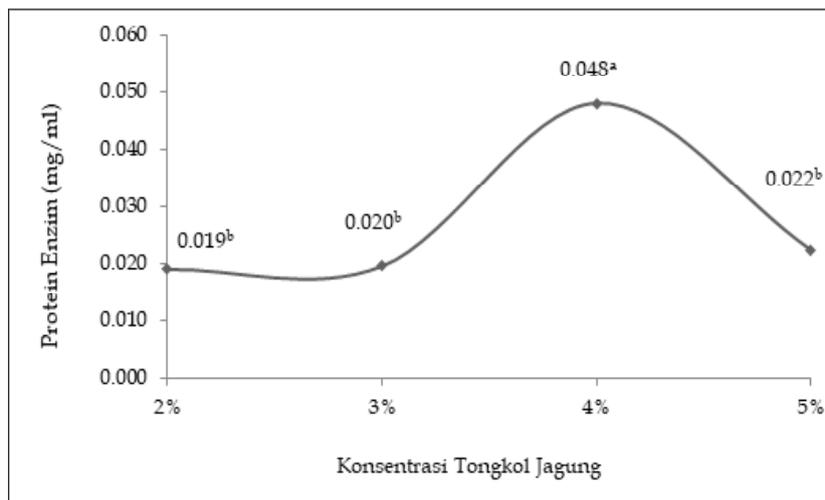
sel biomasa dan produksi enzim. Dengan kata lain semakin banyak sumber karbon yang terdapat dalam media pertumbuhan, maka selulase yang diekspresikan akan semakin meningkat. Akan tetapi kelebihan sumber karbon dalam media pertumbuhan juga dapat menghambat pertumbuhan sel melalui pengurangan jumlah oksigen dalam media tersebut, sehingga terjadi penurunan produksi selulase dari mikroorganisme tersebut. Tiap mikroba memerlukan jumlah maksimum inducer yang berbeda. Penelitian Robson *et al.* (1994) menggunakan hingga 1% (w/v) celobiosa dalam memproduksi selulase dari *Bacillus*. Akhtar (1998) melaporkan, selulase yang diproduksi oleh *Bacillus subtilis* optimum dengan penggunaan 0,5% (w/v) pada berbagai inducer yaitu, arabinosa, xilosa, avicel dan CMC. Ariffin *et al.* (2006) menggunakan 1% (w/v) CMC untuk memproduksi selulase dari *Bacillus pumilus* EB3.

Pengaruh konsentrasi tongkol jagung terhadap protein enzim

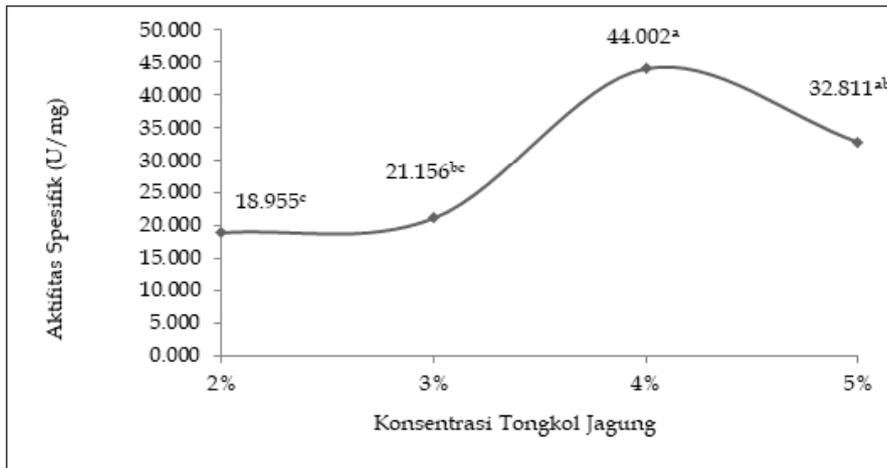
Hasil pengamatan protein enzim dari berbagai konsentrasi tongkol jagung dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan kadar protein enzim yang sejalan dengan aktivitas enzim. Penggunaan tongkol jagung 4% nyata ($P < 0,05$) meningkatkan protein enzim hingga 0.048 mg/ml. Sementara konsentrasi lainnya (2, 3 dan bahkan 5%) menunjukkan nilai yang nyata lebih rendah dibanding konsentrasi 4%. Meningkatkan konsentrasi tongkol jagung hingga 5% tidak menunjukkan peningkatan protein enzim yang berarti dibanding konsentrasi yang lebih rendah (2 dan 3%), namun justru menunjukkan tren penurunan yang nyata ($P < 0,05$) dibanding konsentrasi 4%.

Peningkatan kadar protein yang setara dengan peningkatan aktivitas selulase



Gambar 5. Protein enzim dari berbagai konsentrasi tongkol jagung



Gambar 6. Aktivitas spesifik enzim selulase dari berbagai konsentrasi tongkol jagung

menggambarkan bahwa tingkat pertumbuhan bakteri NG2 juga sangat pesat sesuai dengan peningkatan sumber karbon. Peningkatan kadar protein dari 2% (w/v) sampai 4% (w/v) tongkol jagung menunjukkan telah terjadi peningkatan jumlah sel. Hal ini diduga bahwa isolat NG2 mengalami kenaikan komponen makromolekul seperti protein. Sel mempersiapkan semua perangkat untuk berkembangbiakan selanjutnya termasuk mensintesis berbagai jenis enzim hidrolase ekstraseluler (Brock *et al.*, 1986). Sedangkan penurunan kadar protein pada konsentrasi 5% (w/v) dapat dikatakan secara langsung bahwa jumlah sel menurun karena kadar protein hanya mencerminkan besarnya protein ekstraseluler yang dilepas bakteri tersebut.

Penurunan kadar protein ini diduga karena dalam media pertumbuhannya yang miskin, bakteri tersebut mendegradasi protein ekstraseluler yang tidak diperlukan seperti protease, lipase serta amilase dan hanya mensintesis protein ekstraseluler yang dibutuhkan saja yaitu selulase. Susanti (2011) menambahkan bahwa sifat ekspresi selulase yang harus diinduksi terlebih dahulu dalam media terbatas yang hanya mengandung sumber karbon selulosa.

Pengaruh konsentrasi tongkol jagung terhadap aktivitas spesifik

Hasil pengamatan aktifitas spesifik dari berbagai konsentrasi tongkol jagung (Gambar 6) aktifitas enzim yang menggunakan tongkol jagung sebagai sumber selulosa pada konsentrasi 4% memiliki aktifitas enzim selulase yang paling tinggi 44,002 U/mg. Pada konsentrasi yang lebih tinggi (5%) nilai aktivitas enzim

hanya nyata lebih tinggi dibanding konsentrasi 2% dan tidak berbeda dibanding konsentrasi 3 dan 4%. Aktivitas enzim selulase menunjukkan kecenderungan peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi tongkol jagung yang digunakan dengan nilai optimum pada perlakuan 4%. namun demikian, penurunan aktivitas diketahui terjadi apabila konsentrasi tongkol jagung ditingkatkan hingga 5%.

Aktifitas spesifik dihasilkan dari perbandingan aktifitas enzim dengan protein enzim. Aktifitas enzim tongkol jagung dan protein enzim tongkol jagung pada konsentrasi 4% memiliki nilai yang berbanding lurus sehingga ketika di cari aktifitas spesifiknya dengan cara membandingkan aktifitas enzim dengan protein enzim maka di dapatkan aktifitas spesifik yang lebih tinggi di bandingkan dengan konsentrasi tongkol jagung 2%, 3% dan 5%.

Hasil penelitian pada tahap ini, baik aktivitas selulase, protein enzim maupun aktivitas spesifik enzim selulase diperoleh tertinggi pada konsentrasi 4%. Pada konsentrasi 4% tongkol jagung merupakan konsentrasi yang tepat dalam mengekspresikan produksi selulase. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Saliu and Sani (2012) menyatakan bahwa tongkol jagung adalah substrat yang paling baik dalam menginduksi produksi enzim selulase maupun dalam menghasilkan bioethanol pada konsentrasi 1-12%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Sumber selulosa yang berasal dari tongkol jagung dengan konsentrasi 4%

memiliki pengaruh yang paling baik dalam memproduksi enzim selulase dari bakteri NG2 dengan menghasilkan aktifitas enzim 2,082 U/ml, protein enzim 0,048 mg/ml dan aktivitas spesifik 44,002 U/mg.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kepada peneliti selanjutnya di sarankan untuk dapat mengaplikasikan enzim ini pada pembuatan pellet broiler berbasis bahan pakan yang tinggi selulosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, M. S. 1998. Bioconversion of Cellulasic Materials by the Action of microbial Cellulases. Thesis. Institut of Chemistry University of the Punjab.
- Aliman, A.R. and M. H. Bejo. 1995. Feeding systems based on oil palm by-products in Malaysia. 1st Int. Symp. on Integration of Livestock to Oil Palm Production. MSAP/FAO and UPM. 25-27 June. Kuala Lumpur, Malaysia
- Ariffin, H., N. Abdullah, K. Umi, Y. Shirai, and M. A. Hassan. 2006. Production and characterisation of cellulase by *Bacillus pumilus* EB3. Int. J. Eng. Technol., 3(1): 47-53.
- Bai, S., M. R. Kumar, D. J. M. Kumar, P. Balashanmugan, M. D. Balkumaran, and P. T. K. Chelvan. 2012. Cellulose production by *Bacillus subtilis* isolate from cow dung. Archives Appl. Sci., 2012. 4(1): 269-279.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Brock., T. D, M.T. Madigan, J. M. Martinko and J. Parker. 1986. Biology of Microorganism. Seventh Edition. Prentice-Hall International, Inc., New York.
- Hardjo, S. 1989. Biokonversi Pemanfaatan Limbah Industry Pertanian Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Dir-Jen Pendidikan Tinggi. PAU Pangan dan Gizi, IPB Bogor.
- Kenedi, D. 2012. Isolasi, Seleksi dan Optimasi Pertumbuhan Bakteri Penghasil Enzim Sellulase Thermostabil dari Sumber Air Panas Kabupaten Solok Selatan. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
- Lorenz, K. L., and K. Kulp. 1991. Handbook of Cereal Science and Technology. Marcel Dekker Inc., New York USA.
- Lubis, D. A. 1992. Ilmu Makanan Ternak. Cetakan ke-3. PT. Pembangunan, Jakarta.
- Nelson, N. 1944. A Photometric Adaption of Somogyi Method for Determination of Glucose, J. Biol. Chem., 153-375.
- Perez, J., J. M. Dorado, T. Rubia, and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview. Int. Microbiol., 5: 53-63.
- Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Intitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ray, A. K., A. Bairagi, K. S. Ghosh, and S. K. Sen. 2007. Optimization of fermentation conditions for cellulose production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. Acta Ichthyol. Piscat., 37(1): 47-53.
- Robson, L. M., and G. H. Chambliss. 1984. Characterization of the cellulolytic activity of a *Bacillus* isolate. Appl. Environ. Microbiol., 47(5): 1039-1046.
- Sakthivel, M., N. Karthikeyan, R. Jayaveny, and P. Palani. 2010. Optimization of culture conditions for the production of extracellular cellulase from *Corynebacterium lipophiloflavum*. J. Ecobiotechnology 2: 6-13.
- Saliu, B. K and A. Sani. 2012. Bioethanol potential of corn cob hydrolysed using cellulose of *Aspergillus niger* And *Penicillium decumbens*. Exeli Journal, 11:468-479.
- Santi, M. 2012. Pengaruh Berbagai Sumber Karbon dalam Memproduksi Xilanase Termostabil dalam Bakteri NG2. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
- Silvia. 2012. Pengaruh Berbagai Sumber Manan dalam Memproduksi Enzim Mananase oleh Bakteri NG2 Asal Sumber Air Panas Kabupaten Solok Selatan. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
- Susanti, E. 2011. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Sistem Selulase dari *Bacillus circulans* strain Lokal dengan Induser Avicel. Jurnal Ilmu Dasar, 12(1): 40 - 49.
- Tyas, S. I. S. 2000. Studi netralisasi limbah serbuk sabut kelapa (*Cocopeat*) sebagai media tanam. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yetti, M., G. Gusmanizar, dan Agushan. 2003. Isolasi dan produksi enzim selulase oleh kapang endophytic dan aplikasinya dalam meningkatkan kualitas pakan ruminansia. Laporan hibah X. 2002/2003.