

ISOLASI DAN PENAPISAN BAKTERI SELULOLITIK DARI BERBAGAI JENIS TANAH SEBAGAI PENGHASIL ENZIM SELULASE

Seprianto

Program Studi Bioteknologi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul
Jl. Arjuna Utara No. 09 Kebun Jeruk, Jakarta 11510
seprianto@esaunggul.ac.id

Abstract

Cellulose is an enzyme that hydrolyzes β -1,4-glycosidic bonds on cellulose molecules to produce glucose. The utilization of cellulase enzymes is currently increasing in the food, paper, detergent and agricultural industries. This research was aimed at obtaining cellulolytic bacterial isolates capable of producing cellulose enzyme where enzyme activity was measured daily by DNS method and to add bacterial isolate collection which will be used for further research. Screening of cellulolytic bacteria from soil led to detection of one potential isolate, designated as 6.2 showed highest activity among others which occurred on the 11th day with activity value of 0,0189 μ mol/minute and the lowest activity of cellulase enzyme was not observed its activity, while the highest dissolved protein content occurred on the sixth day with activity of 0,408240784 mg/ml and the lowest protein content on day 2th of 0,167673552 mg / ml. The highest activity of specific enzyme occurred on the 11th day with a value of 0,0538 U/mg, while the lowest activity of specific enzyme was not activity with value of 0 U/mg.

Keywords : screening, cellulolytic bacteria, cellulose

Abstrak

Enzim selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa. Pemanfaatan enzim selulase saat ini semakin meningkat dalam dunia industri makanan, industri kertas, industri detergen dan industri pertanian. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan spesies bakteri selulolitik yang potensial menghasilkan enzim selulase dan melihat aktivitas enzim dengan metode pengukuran DNS serta menambah koleksi isolat bakteri dari biakan murni yang akan digunakan untuk penelitian selanjutnya. Dari hasil penelitian penapisan bakteri selulolitik yang diisolasi dari berbagai jenis tanah didapatkan satu isolat yang potensial yaitu Isolat 6.2 menunjukkan aktivitas lebih baik diantara yang lainnya dengan aktivitas enzim ekstrak kasar tertinggi terjadi pada hari ke-11 dengan nilai 0,0189 μ mol/menit dan aktivitas enzim selulase terendah tidak teramati aktivitas enzimnya atau sama dengan nilai 0 μ mol/menit, sedangkan kadar protein terlarut tertinggi terjadi pada hari ke-6 dengan nilai 0,408240784 mg/ml dan kadar protein terendah pada hari ke-2 sebesar 0,167673552 mg/ml. Aktivitas enzim spesifik tertinggi terjadi pada hari ke-11 dengan nilai 0,0538 U/mg, sedangkan aktivitas enzim spesifik terendah tidak memiliki aktivitas atausama dengan nilai 0 U/mg.

Kata kunci : penapisan, bakteri selulolitik, enzim selulase

Pendahuluan

Enzim selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa (Afsahi et al., 2007). Enzim ini merupakan suatu protein yang terdiri dari 434 residu asam amino dengan beberapa sisi aktif yang terletak di beberapa bagian pada rantai protein diantaranya pada glutamat 212, aspartat 214, glutamat 217, histidin 228, glutamat 295. Selulase mengandung *noncatalitics carbohydrate-binding module* (CBM s) yang terletak di ujung N-termini atau atom C dari sisi katalitiknya (Zhang et al., 2006).

Enzim selulase dapat diproduksi dari mikroba selulolitik baik kapang maupun bakteri. Kapang selulolitik yang biasa digunakan dari jenis *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium* (Lynd et al., 2002). Beberapa spesies bakteri selulolitik

dilaporkan berasal dari tanah antara lain *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Bacilli*, dan beberapa *actinomycetes* (Lederberg, 2014). *Bacillus pumilis*, *lichniformis Bacillus*, *Paenibacillus dendritiformis*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri hasil isolasi ampas tebu yang berpotensi sebagai bakteri selulolitik dan etanologenik untuk menghasilkan etanol yang berperan dalam bidang bioenergi (Chaudhary et al., 2015).

Enzim selulase umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti teknologi pangan, tekstil, pakan ternak, kertas, pertanian, dan dalam pengembangan penelitian. Selulase dapat diaplikasikan juga untuk memperhalus bubur kertas pada industri kertas, menjaga warna kain agar tetap cemerlang pada industri tekstil, meningkatkan kualitas pada industri pangan, sebagai dekomposer

bahan - bahan organik, meningkatkan nutrisi pakan ternak, berperan penting dalam biokonversi selulosa menjadi berbagai komoditas senyawa kimia dan dapat mengurangi dampak negatif dari polusi limbah terhadap lingkungan (Hartanti, 2010).

Sumber selulosa dari lingkungan yang banyak dimanfaatkan oleh bakteri selulolitik diantaranya Serasah ini diduga sebagai substrat bagi bakteri yang mempunyai enzim selulase (Meryandini et al., 2009), pupuk kompos yang berasal dari dekomposisi limbah organik (Alam et al., 2013), tanah hutan yang kaya akan serasah (Ashwani et al., 2014) dan *vermicomposting* tandan kosong kelapa sawit (Azizah, 2013).

Penapisan bakteri selulolitik sebagai bakteri penghasil selulase dari berbagai jenis tanah menjadi sangat penting untuk mendapat kandidat bakteri selulolitik dengan karakteristik enzim selulase yang baik. Penelitian yang berkaitan tentang skrining bakteri selulolitik dan karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan sudah banyak dilakukan sebelumnya, namun hanya pada jenis tanah tertentu saja. Akan tetapi, dalam penelitian ini sampel tanah yang diambil berasal dari berbagai sumber yaitu dari tanah bawah kayu lapuk, tanah comberan, tanah perkebunan, tanah disekitar kandang ayam, tanah disekitar kandang sapi, tanah kebun pisang, dan tanah pembuangan sampah. Penapisan dilakukan dengan mengisolasi bakteri selulolitik dari tanah tersebut dengan tujuan untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan, sehingga diperoleh biakan murni yang potensial menghasilkan enzim selulase dengan melakukan pengujian aktivitas enzimnya dan dari isolat terpilih tersebut nantinya akan dikembangkan ketahanan produksi dalam skala yang lebih besar.

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri

Sampel tanah diambil 1 gr kemudian dihaluskan dengan menambahkan 10 larutan fisiologis NaCl menggunakan mortal didekat nyala api bunsen untuk mencegah mencegah kontaminasi hingga bercampur homogen. Pengenceran dilakukan bertingkat (perbandingan 1 : 9) dengan menambahkan 9 ml larutan NaCl fisiologis pada 1 ml sampel yang digerus untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Kemudian diambil 1 ml sampel dari masing-masing tabung 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} untuk dikultur pada media agar CMC, kemudian sampel disebar dengan menggunakan batang penyebar dan diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu ruang.

Pengamatan Morfologi dan Inokulasi Bakteri

Pengamatan dilakukan pada koloni bakteri yang tumbuh pada media CMC padat dengan mengamati ciri-ciri koloni yang meliputi warna koloni, bentuk tepi koloni, dan bentuk koloni. Mencatat jumlah total koloni tunggal bakteri dan menginokulasi pada media baru untuk mendapatkan biakan murni.

Penyeleksian Bakteri Selulolitik dengan Pewarna Congored 0.1%

Koloni yang diambil dengan metode goresan, benar-benar koloni tunggal yang merupakan goresan pengenceran kedua atau ketiga. Totolkan isolat terpilih pada media CMC pada bagian tengah untuk melihat kemampuan bakteri untuk mendegradasi enzim selulase dengan terbentuknya zona bening pada media yang diinkubasi selama 48 jam dengan memberi larutan congored 0.1 % dalam alkohol 96% selama 15 menit, kemudian mencucinya dengan NaCl 0.2 M sebanyak 3 kali. Setelah diinkubasi selama 48 jam, bakteri yang mampu menguraikan enzim selulase akan membentuk zona bening pada pinggiran koloni. Kemudian hitung nilai Indeks Potensial (IP) dari zona bening yang terbentuk dengan rumus :

$$\begin{aligned} \text{Ø Kolonibakteri} &= (d_1 + d_2) / 2 \\ \text{Ø Kolonizonabening} &= (D_1 + D_2) / 2 \\ \text{IP} &= \frac{\text{Ø Koloni zona bening} - \text{Ø Koloni bakteri}}{\text{Ø Koloni bakteri}} \end{aligned}$$

Peremajaan dan Subkultur Bakteri Terpilih

Peremajaan isolat bakteri terseleksi dilakukan pada media agar CMC miring, koloni bakteri dari media agar miring diinokulasikan pada media CMC cawan petri dengan cara menggores penuh pada setengah bagian media. Isolat bakteri disimpan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 24 jam. Subkultur isolat bakteri dengan cara mengambil 3 *cockborer* kultur bakteri dari media agar CMC dan menginokulasikan pada media cair CMC 25 ml di dalam erlenmeyer 250 ml, inokulasi isolat dilakukan dalam *safety cabinet Laminar air flow*, isolat yang disubkulturkan kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan dishaker pada kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Diambil sebanyak 10 ml yang selanjutnya dimasukkan ke dalam media cair CMC 100 ml dalam erlenmeyer 250 ml. Volume subkultur yang dimasukkan ke dalam media produksi sebesar 1 ml (10^6 sel/ml).

Pengukuran Harian Aktivitas Enzim Selulase Ekstrak Kasar

Proses pengukuran aktivitas enzim harian dengan mengambil 5 ml kultur isolat bakteri yang telah ditumbuhkan pada media cair CMC 100 ml. Pengambilan kultur bakteri dengan mikropipet dilakukan secara aseptis di *laminar air flow*, masukan ke dalam tabung sentrifuse. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 20 menit. Sebanyak 0,5 ml supernatannya untuk mengukur aktivitas enzim dan kadar protein terlarut dalam enzim ekstrak kasar. Tambahkan 0,5 CMC 1% kemudian vortek dan inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Tambahkan 1 ml DNS, kemudian panaskan pada suhu 100⁰ C selama 15 menit. Sampel didinginkan dan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Prosedur kerja dari sampel, kontrol dan blanko dilakukan secara bersamaan. Pengukuran aktivitas enzim selulase harian dilakukan selama 11 hari.

Kurva Standar Glukosa

Pembuatan kurva standar glukosa adalah membuat larutan stok glukosa, 1 gram (1000 mg) glukosa dilarutkan dalam 100 ml H₂O steril, berarti dalam 1 ml stok larutan mengandung 10 mg glukosa, yang diperlukan dalam membuat kurva standar glukosa adalah konsentrasi 1 mg/ml glukosa, sehingga 100 µl larutan stok diencerkan dengan 900 µl H₂O steril. Masing – masing larutan di tambahkan 2 ml pereaksi DNS, kemudian di inkubasi pada suhu 100⁰C selama 15 menit. pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 540 nm.

Hasil dan Pembahasan

Penapisan Bakteri Selulolitik

Hasil isolasi bakteri tanah diperoleh dengan metode pengenceran bertingkat yang diambil beberapa koloni tunggal dari pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵. Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Hasil pengamatan morfologi dari semua koloni tumbuh pada media CMCA (*Carboxymethylcellulase Agar*) yang merupakan media selektif untuk bakteri selulolitik meliputi jumlah koloni, warna koloni, tepian koloni serta bentuk koloni. Sampel tanah yang berasal dari kandang ayam total koloni diperoleh dari pengenceran 10⁻³ sebanyak 121 koloni yang didominasi dengan koloni berwarna *cream* dengan bentuk sirkular, pada pengenceran 10⁻⁴ diperoleh sebanyak 81 koloni serta pada pengenceran 10⁻⁵ sebanyak 20 koloni. (Tabel 1). Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel

(Hadioetomo, 1993). Penampakan koloni bakteri pada media agar menunjukkan warna, bentuk dan tepian koloni yang berbeda. Perbedaan warna koloni terjadi karena pigmen intraseluler yang dihasilkan oleh bakteri. Tepian koloni pada cawan agar dapat berupa tepian licin, tak beraturan, bergerigi dan berombak (Cappicino dan Sherman, 2005).

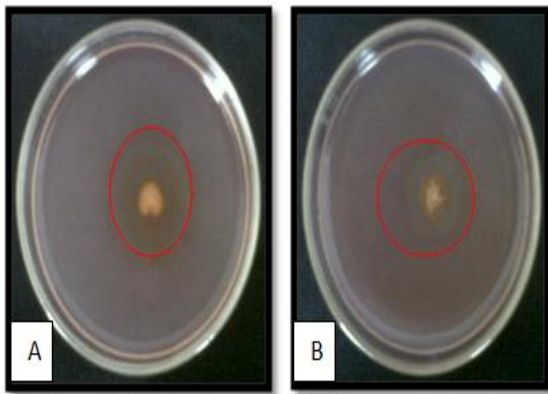
Koloni tunggal diperoleh dengan metode gores kuadran (*Streak quadrant*) dengan tujuan mendapatkan biakan murni. Cara ini dilakukan dengan membagi cawan petri menjadi 4 bagian dan masing – masing bagian merupakan pengenceran dari *streak* sebelumnya.

Tabel 1
Hasil pengamatan koloni bakteri pada media agar CMC

Pengenceran	Σ Koloni	Ciri-ciri morfologi koloni		
		Warna/ Jumlah	Tepian	Bentuk
10 ⁻³	121	Putih susu (8)	<i>Entire</i>	<i>Circular</i> (94)
		Kuning (2)	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i> (25)
		<i>Cream</i> (111)	<i>Filiform</i>	<i>Filamentos</i> (2)
10 ⁻⁴	81	Putih susu (8)	<i>Entire</i>	<i>Circular</i> (56)
		Kuning (1)	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i> (22)
		Putih (3)	<i>Filiform</i>	<i>Filamentos</i> (3)
10 ⁻⁵	20	<i>Cream</i> (69)		
		<i>Cream</i> (16)	<i>Entire</i>	<i>Circular</i> (16)
		Putih susu (3)	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i> (4)
		Putih (1)		

Pengukuran Zona Bening dan Indeks Potensial pada Isolat Terpilih

Penapisan secara cepat mikroba selulolitik dapat dilakukan dengan pengukuran zona bening (*clear zone*). Pengukuran diameter setiap koloni bakteri, pengukuran diameter 1 (D1) + diameter 2 (D2) kemudian dibagi 2. Setelah didapatkan rata-rata diameter koloni bakteri selanjutnya pada media ditambahkan congoed 0.1 % dalam alkohol 96% selama 15 menit, pencucian dilakukan dengan NaCl 3M sebanyak 3 kali. Menyimpan koloni bakteri yang telah dicuci dalam kulkas selama 48 jam pada suhu 4⁰C. Dari sekian banyak isolat yang diperoleh, terpilih empat isolat bakteri yang baik dalam mendegradasi substrat CMC dengan ditandainya terbentuknya zona bening pada media CMC yang telah ditambahkan congoed 0.1%. Isolat tersebut adalah isolat 2.3 yang diisolasi dari tanah comberan, isolat 10.1 dari tanah hasil pembuangan sampah sedang kan 2 isolat lagi yaitu isolat 6.1 dan isolat 6.2 berasal dari tanah kandang ayam (Gambar 1).



Gambar 1

Zona bening isolat bakteri setelah pewarnaan congoed 0.1 % (A). Isolat 6.1 (B) isolat 6.2

Gambar 1 menunjukkan isolat 6.1 dan isolat 6.2 membentuk zona bening pada media CMC setelah ditambahkan *congoed* 0.1%. Adanya zona bening ini diakibatkan oleh proses degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik. Selulosa yang terhidrolisis pada medium agar jika digenangi oleh *congoed* akan menghasilkan zona bening karena *congoed* tidak dapat berikatan dengan medium tanpa adanya ikatan β -1,4-glikosidik yang terkandung dalam polimer selulosa, hal ini disebabkan karena adanya enzim selulase sehingga ikatan polimer selulosa ini terhidrolisis (Jo et al., 2011). Pembilasan dengan NaCl akan melunturkan *congoed* terutama di daerah sekitar koloni yang mengandung turunan selulase yang terhidrolisis seperti selodekstrin, selobiosa dan glukosa karena *congoed* tidak terikat secara kuat sehingga terlihat zona bening. Aktivitas CMC-ase koloni bakteri selulolitik pada media agar CMC membentuk zona bening disekitar koloni. Umumnya bakteri yang diketahui dapat menghasilkan xilanase (Ardiningsih, 2002).

Zona bening dapat diukur berdasarkan indeks potensial (IP) yaitu perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni. Adanya indeks potensial ini menunjukkan bahwa adanya enzim selulase ekstraseluler yang dihasilkan dari isolat bakteri. Hasil Perhitungan diperoleh Indeks potensial selulase dari isolat koloni bakteri 6.2 sebesar 1 dengan diameter zona bening 1.50 cm dan diameter koloni 0.75 cm. Namun indeks potensial yang paling baik terdapat pada isolat 6.1 dengan indeks potensial 1.67 dengan diameter zona bening 2 cm dan diameter koloni 0.75 cm. Namun isolat 6.2 memiliki zona bening lebih terang dan lebih jelas dibandingkan dengan yang lainnya, artinya proses degradasi selulosa oleh isolat 6.2 lebih sempurna (Tabel 2).

Tabel 2

Hasil pengukuran indeks potensial isolat bakteri selulolitik

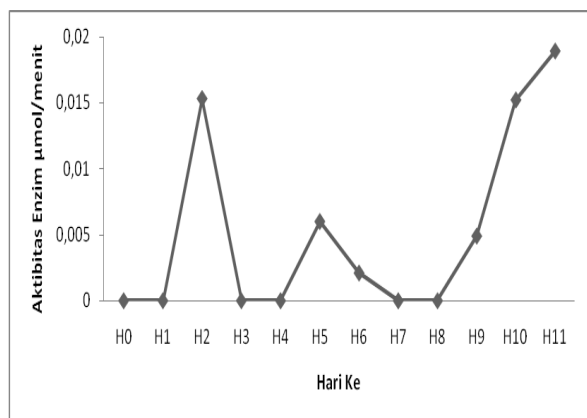
Isolat Bakteri	Diameter koloni bakteri (cm)	Diameter zona bening (cm)	Nilai Indeks Potensial
2.3	0.75	1.85	1.47
6.1	0.75	2.00	1.67
6.2	0.75	1.50	1
10.1	0.75	1.40	0.88

Pengukuran Aktivitas Enzim Ekstrak Kasar (EEK) Harian

Pembuatan kurva standar glukosa dengan perhitungan kadar glukosa sebagai produk dari reaksi enzim selulase terhadap substrat CMC dengan mengkonversikan nilai absorbansi yang diperoleh (Zhang et al., 2009). Pengukuran dilakukan hanya pada isolat 6.2 dikarenakan isolat ini secara kualitatif memiliki aktivitas degradasi selulosa yang baik dibandingkan isolat lain (Gambar 1). Pengukuran dilakukan selama 11 hari berturut – turut dengan waktu panen pada pukul 12:00 WIB. Enzim ekstrak kasar didapatkan dari dalam media produksi CMC cair diambil sebanyak 5 ml, Pemisahan supernatan (enzim ekstrak kasar) dengan pelet yang mengandung sel-sel bakteri dengan teknik sentrifugasi. Aktivitas CMC-ase dan aviselase ditentukan menurut metode Haggett et al., (1979) dengan modifikasi dimana satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan 1 μ mol glukosa per menit dalam kondisi essay (Zhang et al., 2009), CMC-ase terhadap substrat CMC, sedangkan aviselase terhadap substrat Sigmacell 20. Kadar glukosa ditentukan dengan DNS (dinitrosalisilat) dengan standard glukosa secara spektrofotometri pada λ optimum 540 nm (Jo et al., 2011).

Berdasarkan data hasil pengukuran aktivitas enzim selulase Isolat 6.2, dapat dilihat aktivitas enzim ekstrak kasar yang naik turun (fluktuasi). Namun aktivitas enzim ini cukup baik karena aktivitas tertinggi terjadi pada hari terakhir (kesebelas) dengan nilai 0,018970 μ mol/menit, sedangkan aktivitas enzim selulase terendah terdapat di beberapa hari diantaranya hari ke-3, ke-4, ke-7, ke-8 dengan tidak teramati aktivitasnya atau sama dengan 0 μ mol/menit (Gambar 2). Uraian diatas juga konsisten dengan pengukuran aktivitas CMC-ase yang dilakukan seperti ditunjukkan pada Gambar 2 . Hari ke-2 selulase belum diproduksi oleh bakteri tersebut karena bakteri masih pada fase adaptasi, namun pada hari ke-3 terdapat aktivitas sebesar 0,0153 μ mol/menit. Setelah fase ini terlewati, maka hari ke-4 terjadi penurunan kembali. Aktivitas CMC-se terekspreasi dengan baik atau dapat dikatakan bahwa produksi sistem selulase optimum pada hari

ke-11. Penurunan yang sangat tajam pada hari ke-8 diduga karena sumber karbon telah berkurang sehingga selulase yang diproduksi juga menurun. Hasil pengukuran yang bervariasi dalam pengujian aktivitas enzim selulase terhadap substrat menjadi rumit dikarenakan heterogenitas fisik bahan selulosa pada substrat dan kompleksitas selulase sehingga menghasilkan uji aktivitas yang fluktuatif (Lynd et al., 2005).



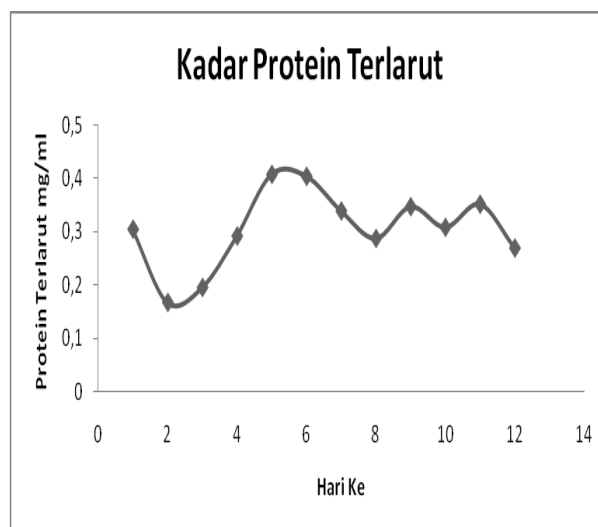
Gambar 2
Aktivitas enzim ekstrak kasar selulase isolat 6.2

Pengukuran Kadar Protein Terlarut

Konsentrasi protein ditentukan dengan menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai standar dengan persamaan $y = 2,764x + 0,020$. Pengukuran kadar protein terlarut dimulai dengan mengambil masing-masing cairan supernatan/enzim ekstrak kasar setiap hari inkubasi dari Isolat 6.2 sebanyak 0,2 ml dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml pereaksi Bradford (Bradford, 1976). Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Dari nilai absorbansi standar BSA. Pada hari ke-0 diperoleh absorbansi sampel adalah 0.385 mg/ml dan 0.358 mg/ml dari ekstrak enzim kasar yang diperoleh dari isolat 6.2. Dari nilai rata-rata yang dimasukkan ke dalam persamaan regresi, maka rata-rata kadar proteinnya adalah 0.061 µg/µl dan disamakan satuan ke dalam protein terlarut menjadi 0.305 mg/ml larutan EEK (Gambar 3).

Berdasarkan data hasil pengukuran kadar protein terlarut harian Isolat 6.2, dapat dilihat data kadar protein yang fluktuasi (naik turun) terlihat pada Gambar 3. Kadar protein tertinggi terjadi pada hari ke-6 dengan nilai 0,408240784 mg/ml, sedangkan kadar protein terendah pada hari ke -2 sebesar 0,167673552 mg/ml. Peningkatan kadar protein antara hari ke-5 menunjukkan telah terjadi peningkatan jumlah sel. Hal ini diduga adalah fase adaptasi pertumbuhan bakteri. Menurut Lisdiyanti et al.(2012) fase adaptasi ditandai dengan kenaikan komponen makromolekul seperti protein. Sel

mempersiapkan semua perangkat untuk perkembangbiakan selanjutnya termasuk mensintesis berbagai jenis enzim hidrolase ekstraselular (Brock et al., 1986). Sedangkan penurunan kadar protein pada hari ke-2 dan ke-8 tidak dapat dikatakan secara langsung bahwa jumlah sel menurun karena kadar protein hanya mencerminkan besarnya protein ekstraseluler yang dilepas bakteri tersebut. Pemikiran ini didukung oleh sifat ekspresi selulase yang harus diinduksi terlebih dahulu dalam media terbatas yang hanya mengandung sumber karbon selulosa (Susanti, 2012).



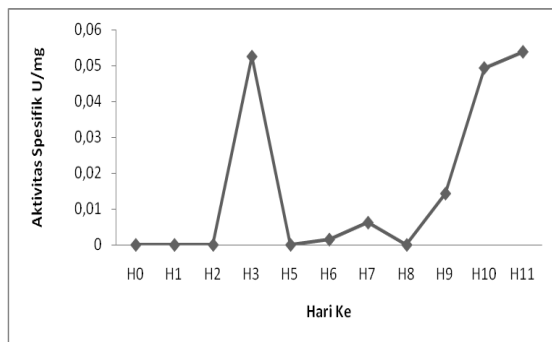
Gambar 3
Kadar protein terlarut isolat 6.2 berdasarkan panen harian

Aktivitas Spesifik Enzim Selulase

Berdasarkan hasil data aktivitas enzim selulase dan kadar protein terlarut, dapat menentukan aktivitas spesifik enzim selulase. Aktivitas enzim spesifik merupakan rasio antara total aktivitas enzim selulase dengan total protein dalam satuan Unit/mg. Berdasarkan data hasil pengukuran aktivitas enzim dan kadar protein terlarut harian Isolat 6.2 dapat menentukan aktivitas spesifik enzim. Data aktivitas spesifik terlihat pada Tabel 6. Aktivitas spesifik enzim tertinggi terjadi pada hari ke-11 dengan nilai 0,053867 U/mg, sedangkan aktivitas enzim spesifik terendah tidak teramati memiliki aktivitas dikarenakan nilai absorbansi yang dihasilkan minus atau disamakan dengan 0 U/mg (Gambar 4).

Gambar 4 menunjukkan aktivitas enzim selulase pada hari kedelapan terjadi penurunan yang sangat signifikan terhadap aktivitas enzim spesifik. Hal ini mengindikasikan kurangnya sumber karbon sebagai nutrisi oleh bakteri sehingga dapat mengganggu metabolismenya. Aktivitas juga menunjukkan grafik yang fluktuatif, selain ditentukan oleh jenis sumber enzim juga sangat

ditentukan oleh komposisi medium dan konsentrasi substrat (Deswal et al., 2011).



Gambar 4.
Aktivitas enzim selulase spesifik isolat 6.2

Kesimpulan

Penapisan bakteri selulolitik penghasil enzim selulase yang diisolasi dari berbagai jenis tanah, terpilih empat isolat bakteri yang baik dalam mendegradasi substrat CMCA dengan ditandainya terbentuknya zona bening (*clear zone*). Isolat tersebut adalah isolat 2.3 yang diisolasi dari tanah comberan, isolat 10.1 dari tanah pembuangan sampah sedangkan 2 isolat lagi yaitu isolat 6.1 dan isolat 6.2 berasal dari tanah kandang ayam. Isolat 6.2 menunjukkan aktivitas lebih baik diantara yang lainnya dengan aktivitas enzim ekstrak kasar harian tertinggi terjadi pada hari terakhir (ke-11) dengan nilai 0,0189 $\mu\text{mol}/\text{menit}$, sedangkan kadar protein terlarut tertinggi terjadi pada hari kelima dengan nilai 0,408240784 mg/ml. Aktivitas enzim spesifik tertinggi terjadi pada hari ke-11 dengan nilai 0,0538U/mg.

Daftar Pustaka

- Afsahi B, Kazemi A, Kheirolomoom A, Nejati S. (2007). *Immobilization of Cellulase on Non-Porous Ultrafine Silica Particles*. J. of Scientia Iranica, 14(4): 379-383.
- Alam, MS., Sarjono, PR., Aminin, ALN. (2013). *Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah*. Jurnal Sains dan Matematika, 21(2): 48-53.
- Ardiningsih P. (2002). *Produksi dan karakterisasi xilanase isolat dari rayap*. Thesis. Program Pascasarjana UI, Depok, Jawa Barat
- Azizah, SN. (2013). *Skrining Bakteri Selulolitik Asal Vermicomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Jember.
- Bradford, M.M. (1976). *A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein in utilizing the principle of protein-dye Binding*. J. Anal Biochem. 72: 248–254.
- Brock TD, Madigan MT, Martinko JM and Parker J. (1986). *Biology of Microorganism*. Seventh Edition. New York: Prentice-Hall International, Inc.
- Chaudhary N, Qazi JI, Irfan M. (2015). *Isolation and Identification of Cellulolytic and Ethanogenic Bacteria from Soil*. Iranian Journal of Science and Technology Articles in Press.
- Deswal D, Khasa YP, and Kuhad RC. (2011). *Optimization of Cellulase Production by a Brown Rot Fungus Fomitopsis sp. RCK2010 under solid state fermentation*. Bioresour. Technol. 102: 6065–6072.
- Hadioetomo.RS. (1993). *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Haggett D, Gray PP and Dunn NW. (1979). *Crystalline Cellulose Degradation by a Strain of Cellulomonas and Its Mutant Derivatives*. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 8, 183-190.
- Hartanti, (2010). *Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik Termofilik dari Kawah Air Panas Gunung Pancar, Bogor*. Skripsi FMIPA. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jo WS, Park HN, Cho DH, Yoo YB and Park SC. (2011). *Optimal Media Conditions for the Detection of Extracellular Cellulase Activity in Ganoderma neo-japonicum*. Journal of Mycobiologi39(2): 129-132.
- Lederberg, J. (2014). *Encyclopedia of Microbiology*, Four-Volume Set. New York: Academic Press.
- Lisdiyanti P, Suyanto E, Gusmawati NF, and Rahayu W. (2012). *Isolation and Characterization of Cellulase Produced by Cellulolytic Bacteria from Peat Soil of Ogan Komering Ilir, South Sumatera*. International Journal of Environment and Bioenergy. 3(3): 145–153.

- Lynd LR , Vanzyl WH , Mc Bride JE, Laser M . (2005). *Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: An update . Curr. Opin. Biotechnol.* 16 : 577 – 583.
- Lynd LR., Weimer PJ. Vanzyl WH. Pretorius IS. (2002). *Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology.* *Microbiol Mol Biol Rev* 2002;66:506–77.
- Meryandini, A W. Widosari BB., Maranatha, TC., Sunarti, N. Rachmania, H. Satria. (2009). *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya.* *Makara Sains*, Vol. 13, No.1 April 2009: 33-38.
- Susanti E. (2012). *Production Optimization and Cellulose System Characterization of Bacillus circulans Local Strain Using Inducer Avicel.* *Jurnal Ilmu Dasar.* Vol 12, No.1: 40-49
- Zhang Y-HP, Cui J-B, Lynd LR , Kuang LR . (2006). *A transition from cellulose swelling to cellulose dissolution by o-phosphoric acid: Evidences from enzymatic hydrolysis and supramolecular structure .* *Biomacromolecules* 7: 644 – 648.
- Zhang Y-HP, Hong J, Ye X . (2009). *Cellulase assays .* *Methods Mol. Biol.* 581 : 213 – 231.