

OPTMALISASI ENZIM SELULASE KAPANG HASIL ISOLASI DARI LAHAN PERTANIAN DAERAH WUKIRSARI PASCA ERUPSI MERAPI

THE OPTIMIZATION OF CELLULASE ENZYME OF MOLD ISOLATED FROM AGRICULTURE LAND IN WUKIRSARI AFTER MERAPI ERUPTION

Siti Umniyatie*, Anna Rakhmawati dan Evy Yulianti

Jurusan Pendidikan Matematika, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta

*email: s_umniyati@uny.ac.id

diterima 2 Desember 2014, disetujui 4 Maret 2015

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengembangkan potensi kapang yang telah diisolasi pasca Erupsi Merapi 2010 dari lahan pertanian Wukirsari, Cangkringan, Sleman, Yogyakarta Optimasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dan kadar protein yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.10, A 2.15 dan B 3.18 dalam jenis substrat avicel dan CMC. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, yang bertujuan untuk mengetahui substrat apa dan suhu dan pH berapa yang optimal untuk menghasilkan aktivitas dan kadar protein dari isolat kapang A 2.10, A 2.15 dan B 3.18. variable bebas dalam penelitian ini adalah pengaruh variasi substrat, suhu dan pH. Variabel terikat adalah aktivitas enzim dan kadar protein yang dihasilkan oleh isolat A 2.10, A 2.15 dan B 3.18. Populasi penelitian adalah seluruh enzim kasar yang dihasilkan oleh isolat kapang A 2.10, A 2.15 dan B 3.18, sedangkan sampel penelitian ini menggunakan 1 ml enzim kasar yang diberikan perlakuan kombinasi jenis substrat, suhu dan pH. Hasil menunjukkan bahwa substrat yang optimal untuk menghasilkan aktivitas enzim adalah substrat avicel dengan suhu 25 C pada pH 7 A 2.10 suhu 25 °C pH 7, isolat A 2.15 suhu 25^o C pH 9, dan isolat B 3.18 suhu 30^oC pH 7. Kadar protein tertinggi adalah yang dihasilkan oleh kapang A 2.10 dengan suhu 25C pH 7, menyusul isolat B 3.18 dan A 2.15

Kata kunci: *optimasi, enzim selulase, kapang selulolitik*

Abstract

The aim of this study was to develop potency of mold isolated from agriculture land after Merapi eruption in 2010 at Wukirsari, Cangkringan, Sleman, Yogyakarta. The treatment were temperature and pH optimization to the cellulase enzyme activity and the protein level yield by mold isolate A 2.10, A 2.15 and B 3.18 in different substrate, avicel and carboxymethyl cellulose (CMC). This study was experimental study to find out the substrate, pH and temperature which yield the best activity and protein level from mold isolate A 2.10, A 2.15 dan B 3.18. the population of this study all of the crude enzymes from mold isolate, and the sample was 1 ml of crude enzyme which treated with different substrate, pH and temperature. The result of this study showed that the best substrate was avicel and the optimum temperature and pH for isolate A.2.10 was 25 °C

Keywords: optimization, cellulase enzyme, cellulolytic

Pendahuluan

Penelitian Siti Umniyatie & Victoria Henuhili [1] berhasil mengisolasi 25 isolat kapang dari lahan pertanian yang terkena siraman lahar panas, yaitu di daerah Wukirsari, Cangkringan, Sleman, Yogyakarta. Diantara 25 isolat tersebut berhasil diketahui 7 isolat kapang yang bersifat selulolitik dan 8 isolat kapang bersifat amilolitik.

Banyak produk industri yang dihasilkan oleh mikroba yang aplikasinya sangat luas. Ditinjau dari produk industri yang dihasilkan mikroba, ada beberapa kelompok yaitu produk biokonversi (enzim), produk sel mikroba sebagai (pengendali hayati, untuk inokulum maupun sebagai sumber makanan), dan produk metabolit. Diantara enzim yang dihasilkan oleh mikroba adalah enzim ekstraseluler selulase, yang

bersifat merubah sejenis bahan menjadi bahan baru yang lain. Karena kemampuan inilah enzim ekstraseluler banyak digunakan misalnya dalam pengolahan limbah yang mengandung protein (protease), industri makanan dan minuman (amilase), industri kertas, tekstil, makanan dan minuman.

Enzim ekstraseluler umumnya banyak dihasilkan oleh kapang. Enzim selulase merupakan kompleks enzim yaitu β -D-1,4 glukonase sebagai pengurai selulosa amorf, aviselase sebagai pengurai selulosa mikrokristal dan β -D-1,4 glukosidase sebagai pemotong oligosakarida terutama selobiosa menjadi glukosa; adanya kemampuan selulase ini maka selulase dimanfaatkan dalam pembuatan pakan kaya serat, pengolahan limbah sawit [2].

Isolat penghasil enzim selulase yang ditemukan dilahan pertanian daerah Wukirsari, Cangkringan, Sleman Yogyakarta, sebanyak 7 isolat dan 3 isolat diantaranya memiliki kemampuan selulolitik yang tinggi yaitu isolat A2.10 yang diidentifikasi sebagai Genus *Humicola.sp.*, A2.15 yang belum teridentifikasi dan B2.18 yaitu genus *Acremonium.sp.* Untuk langkah produksi perlu dilakukan optimasi terlebih dahulu untuk mencari kondisi optimal yang mendukung aktivitas maupun kadar protein yang tinggi. Diantarakondisi lingkungan yang berpengaruh terhadap enzim anatara lain jenis dan konsentrasi substrat, oksigen, suhu, pH, dan lama inkubasi. Berdasarkan permasalahan tersebut penelitian ini bertujuan untuk 1) mengetahui substrat apa, suhu dan pH berapa yang optimal untuk menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada isolat kapang A 2.10, A 2.15 dan B 2.18 dan 2) untuk emngetahui substrat apa, suhu dan pH berapa yang optimal untuk menghasilkan protein tertinggi pada isolat kapang A 2.10, A 2.15 dan B 2.18.

Metode Penelitian

Desain penelitian. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan objek penelitian adalah enzim selulase ekstraseluler yang dihasilkan oleh kapang isolat A2.10, A2.15 dan B.318 pada medium yang mengandung CMC. Populasi penelitian adalah enzim selulase yang diisolasi dari isolat kapang mesofilik A 2.10, A 2.15 dan B 3. hasil isolasi dari lahan pertanian Daerah Wukirsari, Cangkringan Sleman Yogyakarta. Sampel dalam penelitian ini adalah 1 ml enzim selulase yang berupa ekstrak kasar

protein yang diberi perlakuan kombinasi suhu dan pH untuk memecah substrat avicel dan CMC.

Alat dan bahan. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah tabung reaksi, LAF, petridish, erlenmeyer, ose, mikropipet, autoklaf, lemari es, inkubator, spektrofotometer, water bath, shaker, vortex, hot plate, kompor. Bahan yang digunakan antara lain adalah isolat kapang A 2.10, A 2.5 dan B 3.18, Mandels, 0,05% ekstrak khamir, 0,075% pepton, 5 ml NaCl-fisiologis, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), 0,2% Na-asida, CMC, avisel Sigmacell 20, larutan baku glukosa konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 mg/L., pereaksi Nelson A dan Nelson B, es, 0,5 ml pereaksi arsenomolibdat, akuades, *bovine serum albumin* (BSA), 0,01 g coomasie brilliant blue (CBB) G-250, 5 ml etanol 95% (v/v), 10 ml asam fosfor 85% (v/v), H₂O steril.

Langkah-langkah penelitian yang dilakukan meliputi :

- Peremajaan isolat kapang A2.10, A2.15 dan B3.18. Peremajaan isolat kapang A2.10, A2.15 dan B 3.18 dengan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 32⁰C pada media PDA.
- Pembuatan media PDB untuk produksi enzim. Pembuatan media PDB 1500 ml dengan ditambah chloramfenicol 10%, dan komposisinya adalah dalam 1 liter PDB adalah CMC 0,5%, KH₂PO₄ 0,05%, K₂SO₄ : 0,05%, (NH₄)₂SO₄ : 0,05%, MgSO₄+h₂O : 0,01%, CaCl₂ : 0,1%, NaCl : 0,6% dan Yeast Ekstrak : 0,01%. Media dibagi kedalam labu erlemeyer masing-masing 50 ml.
- Pembuatan larutan spora isolat kapang A2.10, A2.15 dan B3.18. Melarutkan spora dalam larutan NaCl fisiologis 5 ml, sampai diperoleh jumlah spora 10⁶
- Produksi enzim selulase. Menyiapkan Media kultur Mandels CMC 0,5% masing-masing sebanyak 300 ml yang ditambah 0,05% ekstrak khamir dan 0,075% pepton sebagai sumber karbon dan induser. Media kultur ini dibagi ke labu erlenmeyer masing-masing berisi 50 ml dan selanjutnya diinokulasi dengan larutan spora sebanyak 2 ml untuk masing-masing erlenmeyer. Inkubasi dengan teknik kultur terendam menggunakan inkubator goyang pada kecepatan 150 rpm pada suhu 30⁰C selama 36 jam untuk isolat A 2.10, 60 jam untuk islat A 2.15 dan 84 jam untuk isolat B 3.18

- e. Pemisahan enzim. Kultur yang sudah diinkubasikan sesuai waktunya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 30 menit, untuk memperoleh supernatan bebas sel, sentrifugasi dilakukan 2 kali. Ekstrak enzim kasar disimpan dalam freezer (-10°C) sebelum digunakan. Pembuatan media/substrat Avicel dan CMC
- f. Penentuan aktivitas enzim. Penentuan aktivitas enzim kapang menggunakan buffer asetat pH 5, 7 dan 9 dan dengan suhu 30°C , 50°C , 60°C . Substrat yang digunakan ada dua macam, yaitu CMC dan avisel. Aktivitas CMC-ase dan aviselase ditentukan menurut metode HAGGETT *et al.* (1979) dengan modifikasi. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan $1\ \mu\text{mol}$ glukosa per menit, CMCase terhadap substrat CMC, sedangkan aviselase terhadap substrat Sigmacell 20.
- g. Pembuatan kurva baku larutan glukosa. Sepuluh tabung reaksi masing-masing diisi dengan larutan baku glukosa $0,5\ \text{mL}$ untuk konsentrasi 10, 20, 30, 40, $50\ \text{mg/L}$. Semua tabung ditambah dengan $0,5\ \text{mL}$ campuran pereaksi Nelson A dan Nelson B lalu dikocok dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100°C selama 20 menit. Tabung didinginkan dengan es selama 5 menit lalu ke dalam masing-masing tabung ditambahkan $0,5\ \text{mL}$ pereaksi arsenomolibdat dan dikocok. Setelah itu diencerkan hingga $5\ \text{mL}$ dengan akuades dalam labu ukur. Selanjutnya diukur serapan masing-masing konsentrasi larutan baku pada panjang gelombang $540\ \text{nm}$ Blanko yang digunakan diperlakukan seperti sampel tetapi penambahan $0,5\ \text{mL}$ larutan baku glukosa diganti dengan $0,5\ \text{mL}$ akuades.
- h. Penentuan Kadar Gula Pereduksi dengan Nelson-Somogyi. Enzim selulase sebanyak $1\ \text{mL}$ dan $1\ \text{mL}$ larutan CMC $0,1\ \%$, $0,2\ \%$, $0,3\ \%$ (w/v) dan avisel $0,1\ \%$, $0,2\ \%$, $0,3\ \%$ (w/v) dengan pH 5, 7 dan 9 dimasukkan tabung, diinkubasi pada suhu 40°C , 50°C , 60°C dan waktu inkubasi 20 menit. Dipanaskan pada suhu 100°C dalam penangas air selama 10 menit, untuk menghentikan aktivitas enzim, didinginkan. Kemudian ditambahkan $0,5\ \text{mL}$ campuran pereaksi Nelson A dan Nelson B dan dikocok dengan vortex. Dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C , didinginkan selama 5 menit dalam es, ditambahkan $0,5\ \text{mL}$ pereaksi arsenomolibdat, ditambah dengan akuades hingga $5\ \text{mL}$. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang $540\ \text{nm}$ dengan spektrofotometer UV-Vis. Blanko yang digunakan untuk uji gula pereduksi diperlakukan sama dengan sampel tetapi filtrat enzim dimatikan aktivitasnya dengan dipanaskan pada penangas air pada temperatur 100°C selama 15 menit sebelum dicampur dengan substrat.
- i. Analisis kadar protein. Penentuan kadar protein pada enzim selulase bakteri dan kapang ditentukan berdasarkan metode BRADFORD (1976). Sebanyak $0,2\ \text{mL}$ filtrat enzim ditambahkan $5\ \text{mL}$ pereaksi Bradford dan divortex. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang, $\lambda = 595\ \text{nm}$. Kadar protein ditentukan dari kurva standar larutan *bovine serum albumin* (BSA). Reagen Bradford dibuat dengan cara menimbang $0,01\ \text{g}$ coomasie brilliant blue (CBB) G-250 yang kemudian dilarutkan dalam $5\ \text{ml}$ etanol $95\ \%$ (v/v), lalu ditambahkan $10\ \text{ml}$ asam fosfor $85\ \%$ (v/v). Campuran dihomogenkan (dikocok kuat) lalu disaring dengan kertas saring dan disimpan dalam botol gelap dan suhu rendah. Stok pereaksi Bradford harus diencerkan 5 kali sebelum digunakan.
- j. Pembuatan larutan standar protein. Dibuat dengan menimbang $0,01\ \text{g}$ BSA (*bovine serum albumin*) yang kemudian dilarutkan dengan $10\ \text{ml}$ H_2O steril sehingga diperoleh larutan stok BSA dengan konsentrasi $1000\ \text{ppm}$. Larutan stok dengan konsentrasi $1000\ \text{ppm}$ diencerkan dengan melarutkan $0,5\ \text{ml}$ larutan stok ditambahkan $4,5\ \text{ml}$ H_2O steril sehingga diperoleh larutan stok BSA $100\ \text{ppm}$. Dari larutan stok tersebut dilakukan pengukuran terhadap standar protein terlarut dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan $100\ \text{ppm}$. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap standar protein dengan menambahkan $0,1\ \text{ml}$ seri larutan standar dengan $5\ \text{ml}$ reagen Bradford. Kemudian larutan divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Larutan ini memberikan warna biru dan dibaca pada panjang gelombang $595\ \text{nm}$. Dengan menggunakan regresi linear, akan didapatkan persamaan matematik untuk larutan standar protein yang diperoleh dari nilai absorbansi standar, yang akan

digunakan pada pengukuran kadar protein terlarut.

- k. Pengukuran protein terlarut. Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menambahkan 0,1 ml ekstrak enzim kasar dengan 5 ml reagen Bradford divortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Absorbansi Larutan sampel protein dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Dengan persamaan matematik dari kurva standar protein, akan didapatkan kadar protein terlarut yang terkandung dalam larutan ekstrak enzim kasar.
- 1. Uji aktivitas enzim selulase. Uji Aktivitas Selulase Selulase merupakan enzim yang bekerja menghidrolisis ikatan glikosidik pada selulosa untuk glukosa. Aktivitas selulase ditentukan dalam satuan Unit (U) yang menyatakan jumlah produk yang dihasilkan (mol) oleh setiap mL enzim per menit. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan mengkonversikan nilai absorbansi menjadi konsentrasi glukosa standar, kemudian dihitung dengan rumus berikut

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{[\text{glukosa}]}{\text{BM glukosa}} \times \frac{v}{p \times q} \times fp$$

Keterangan :

v = volume total sampel percobaan pada setiap tabung (mL)

p = jumlah enzim (mL)

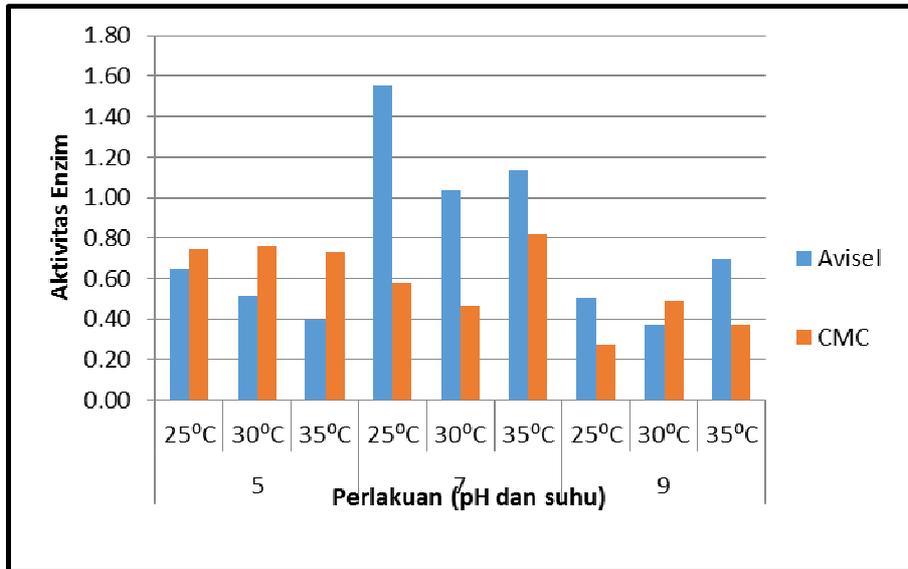
q = waktu inkubasi (menit)

fp = faktor pengenceran

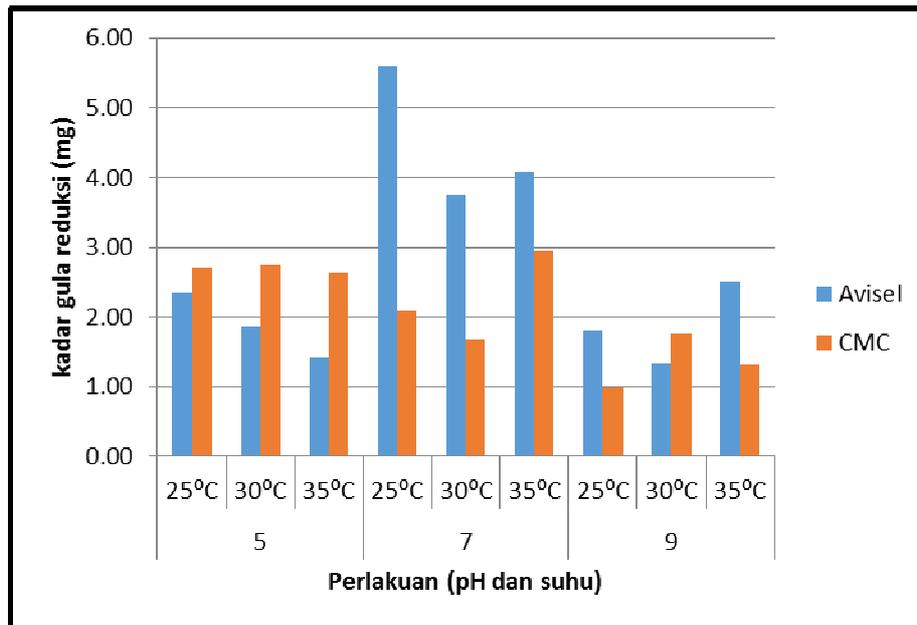
Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim untuk masing-masing isolat dimungkinkan berbeda satu sama lain. Dalam pemanfaatan enzim untuk menghidrolisis suatu substrat memerlukan langkah optimasi terhadap faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh, antara lain optimasi penggunaan substrat, suhu, dan pH. Dalam penelitian ini digunakan 3 isolat yaitu A 2.10, A 2.15 dan B 3.18 yang akan dicari aktivitas optimalnya pada variasi substrat yaitu avicel dan CMC dengan variasi suhu dan pH. Aktivitas enzim dari isolat yaitu A 2.10, A 2.15 dan B 3.18 ditunjukkan Gambar 1.

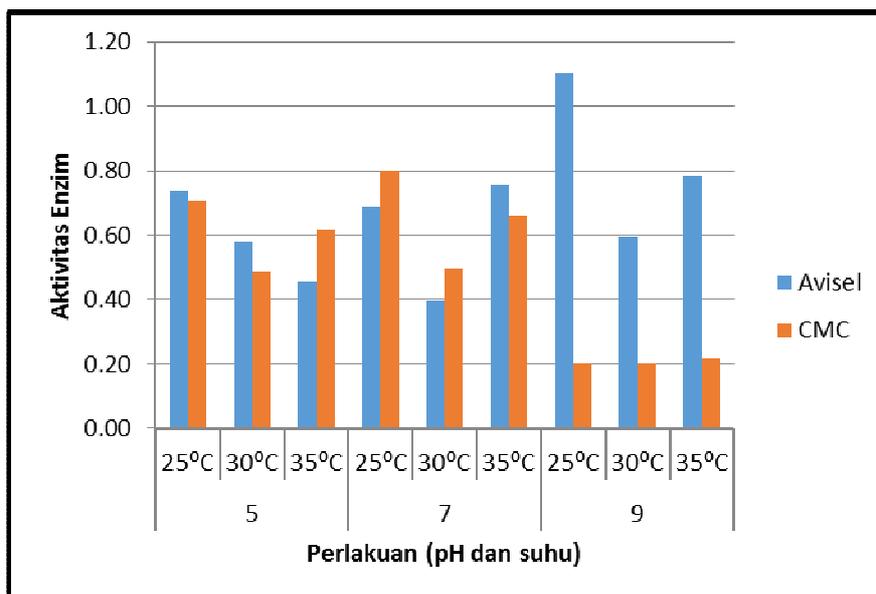
Aktivitas enzim yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.10, di substrat avicel lebih tinggi dibanding dengan pada substrat CMC. Paling tinggi aktivitasnya pada substrat avicel dengan perlakuan suhu dan pH 25^o C pH 7.



Gambar 1. Aktivitas enzim selulase kapang isolat A 2.10 pada media avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH



Gambar 2. Kadar gula reduksi hasil aktivitas selulase kapang isolat A 2.10, pada media avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH



Gambar 3. Aktivitas enzim selulase kapang isolat A 2.15 pada media avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH

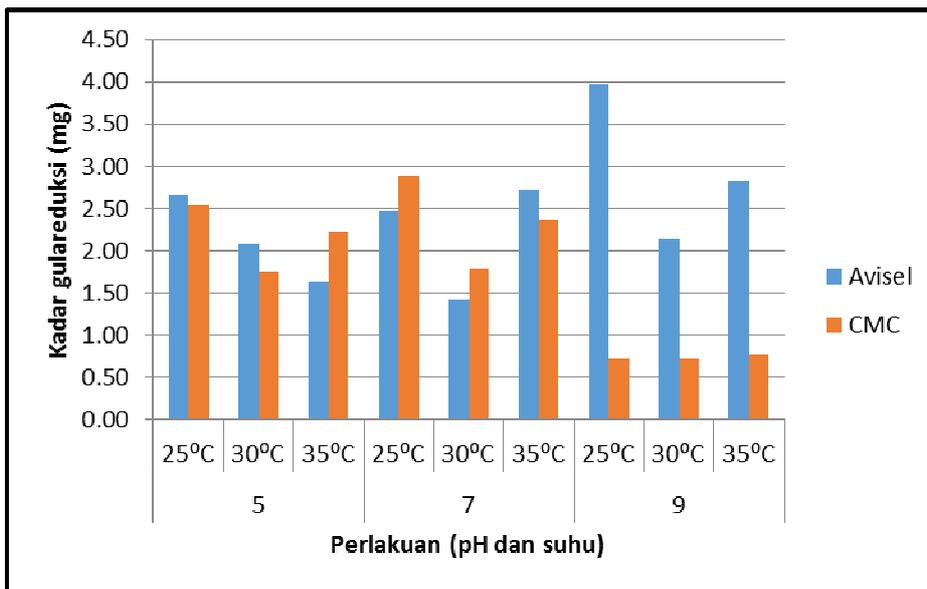
Jika dicermati pada Gambar 2, dapat dinyatakan bahwa kadar gula reduksi yang merupakan indikator dari aktivitas enzim, pada isolat A 2.10 paling tinggi pada substrat avicel dengan suhu 25°C pH 7, sesuai dengan tingginya aktivitas enzim yang juga pada suhu dan pH yang sama. Aktivitas enzim selulase isolat kapang A 2.15 dapat digambarkan pada grafik dibawah ini.

Agak sedikit berbeda ativiatas enzim selulase isolat kapang A 2.15, paling tinggi pada suhu 25⁰ C pH 9 dalam substart avicel. Sedangkan kadar gula reduksi dari isolat A 2.15 digambarkan sebagai berikut. Kadar gula reduksi yang dihasilkan oleh isolat kapang A 2.15 tertinggi pada substrat avicel juga pada suhu 25⁰ C dan pH 9 seperti ditunjukkan pada Gambar 4. Fakta ini sesuai dengan aktivitas

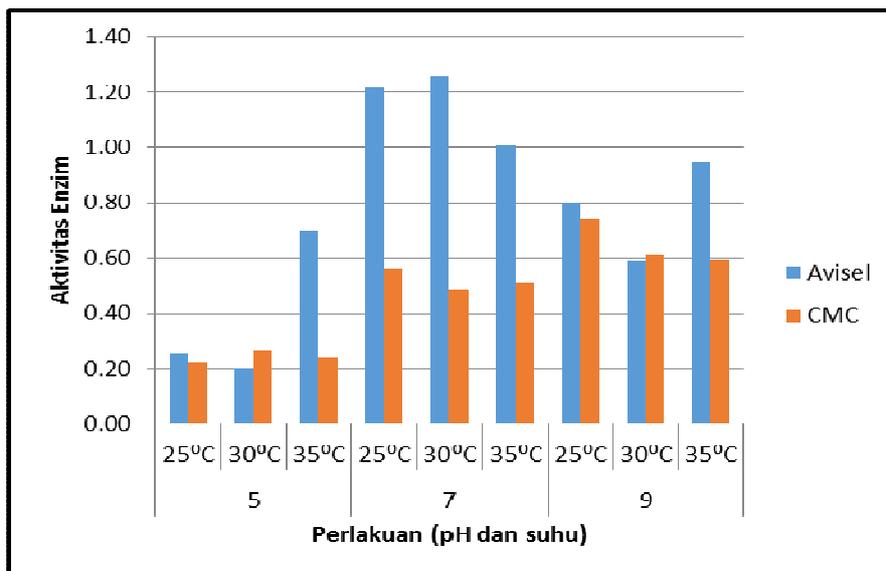
enzim tertinggi dari isolat A 2.15 juga dicapai pada suhu 25°C pH 9.

Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat kapang B 3.18, digambarkan pada Gambar 5. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat kapang B 3.18, tertinggi pada substart avicel suhu 30°C pH 7. Pada rentang suhu 25°C- 35 C pH 7 aktivitas selulase pada substrat avicel rata-rata juga lebih

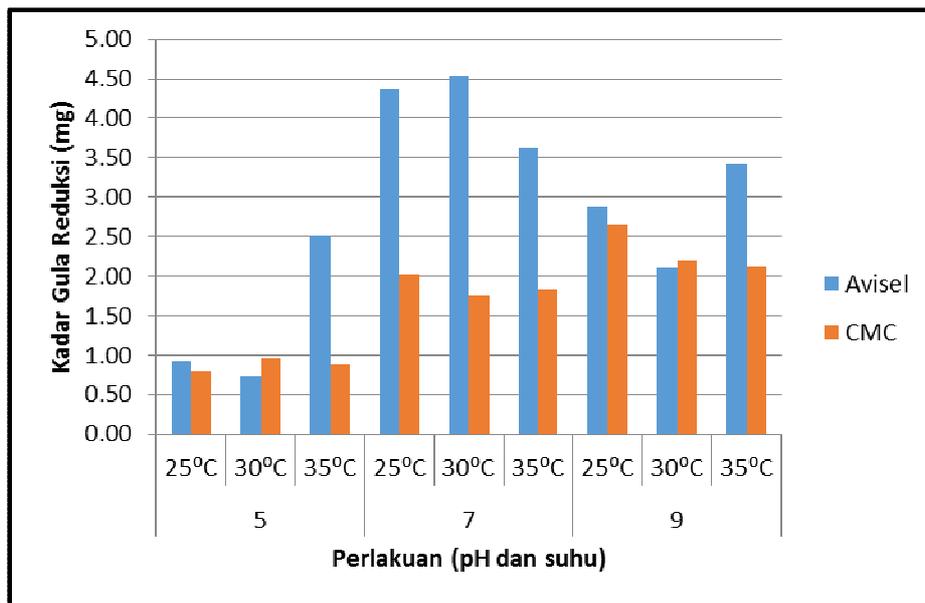
tinggi dibanding pada substrat CMC. Aktivitas paling rendah secara rata-rata pada rentang suhu 25°C-35°C pH 5 baik pada substrat avicel maupun CMC. Aktivitas enzim selulase isolat kapang B 3.18 pada media avicel dibuktikan juga dengan tingginya gula reduksi pada suhu 30°C pH 7, seperti pada Gambar 6.



Gambar 4 .Kadar gula reduksi hasil aktivitas isolat kapan A 2.15, pada substrat avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH



Gambar 5. Aktivitas enzim selulase kapang isolat B 3.18 pada subtrat avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH

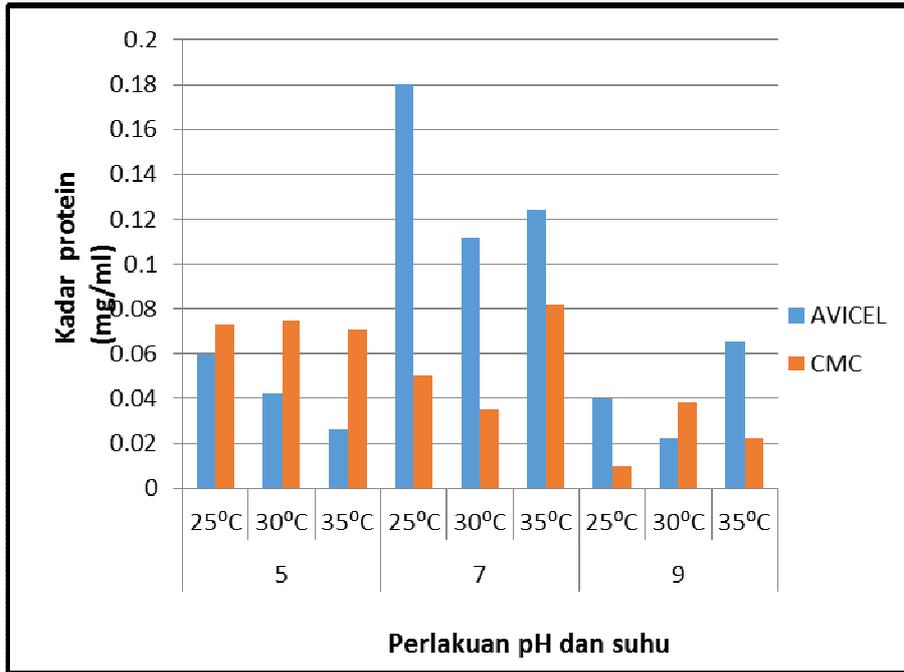


Gambar 6. Kadar gula reduksi hasil aktivitas kapang isolat B 3.18 pada substrat avicel dan CMC dalam variasi suhu dan pH

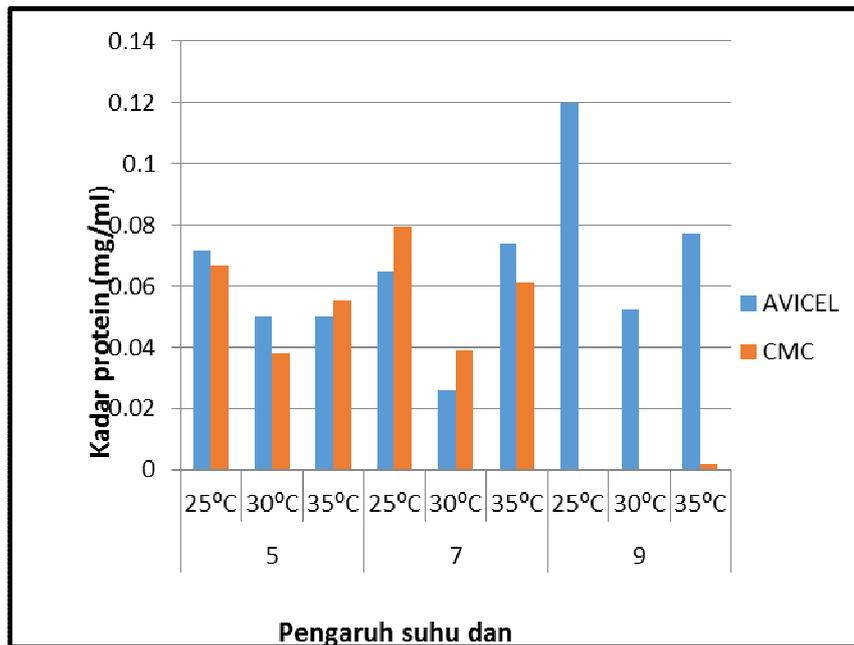
Dari data-data di atas tentang aktivitas enzim selulase dan kadar protein masing-masing isolat, menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.10, A 2.15 dan B 3.18 paling tinggi pada substrat avicel dibanding pada substrat CMC, walaupun suhu dan pH yang mempengaruhinya nampak bervariasi yaitu untuk isolat A 2.10 suhu 25 °C pH 7, isolat A 2.15 suhu 25 °C pH 9, dan isolat B 3.18 suhu 30°C pH 7. Untuk isolat A 2.10 dan B 3.18 cenderung membutuhkan lingkungan asam dan isolat A 2.15 membutuhkan lingkungan basa.

Untuk mengetahui kualitas produksi enzim ekstraseluler dari suatu mikroorganisme, bisa diketahui dari jumlah protein yang terdapat dalam media tumbuhnya. Kadar protein kasar

yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.10 paling tinggi pada suhu 25°C pH 7 dengan kadar 0,18 mg/ml dalam substrat avicel, yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan protein pada media CMC. Secara keseluruhan pada rentang suhu 25°C -35° C pH 7 rata-rata kadar protein kasar yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.10, lebih tinggi pada substrat avicel dibanding CMC. Namun pada substrat CMC sedikit lebih tinggi pkadar proteinnya yaitu pada rentang suhu 25°C - 35° C pada pH 5, jika dibandingkan dengan substrat avicel, . Gambaran tentang kadar protein yang dihasilkan oleh isolat A 2.10 ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Kadar protein yang dihasilkan oleh kapang isoat A 2.10 pada berbagai variasi suhu dan pH.



Gambar 8. Kadar protein yang dihasilkan oleh kapang isoat A 2.15 pada berbagai variasi suhu dan pH

Pada pH 9 rentang suhu 25⁰C -35⁰ C juga tidak menunjukkan kadar protein yang lebih tinggi dibanding pada pH 7.Sedangkan kadar protein dari isolat kapang A 2.18 memiliki gambaran yang agak berbeda jika dibandingkan dengan isolat yang lain, seperti dituangkan

dalam Gambar 8 yang menunjukkan bahwa kadar protein yang paling tinggi yang dihasilkan oleh kapang isolat A 2.15 pada suhu 25⁰ C pH 9 atau cenderung pada pH basa.Nampak pada substrat CMC rentang suhu 25⁰C-35⁰dengan pH 9 sangat tidak cocok bagi isoat A 2.15. Pada

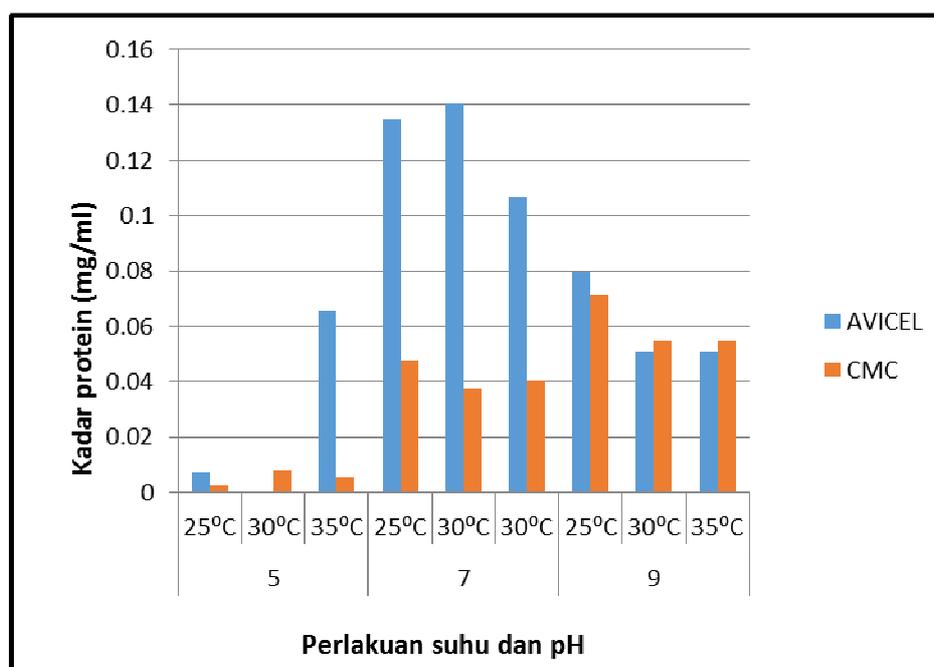
semua perlakuan suhu maupun pH dibawahnya nampak menurun kadar proteinnya baik pada substrat avicel maupun CMC.

Kapang isolat B 3.18 menunjukkan hasil kadar protein sebagaimana tertuang pada Gambar 9. Kadar protein yang dihasilkan oleh kapang isolat B 3.18 nampak mencolok perbedaannya pada pengaruh substrat, suhu dan pH. Kadar protein paling tinggi yang dihasilkan adalah dalam substrat avicel, dengan suhu 30°C pH 7 sebesar 0,13475 mg/ml, dan pada suhu dibawah atau diatasnya pada pH 7 rata-rata masih dihasilkan kadar protein yang tinggi. Lingkungan yang paling tidak cocok adalah rentang suhu 25^o C-35^o C pH 5.

Hasil analisis kadar protein tertinggi dari kapang isolat A 2.10, A 2.15 dan isolat B 3.18 masing-masing adalah bahwa untuk isolat A 2.10 25^o C pH 7 sebesar 0,18025 mg/ml, isolat A 2.15 suhu 25^o C pH 9 sebesar 0,11975 mg/ml dan isolat B 3.18 pada suhu 30^o C pH 7 diperoleh kadar protein 0,13475 mg/ml, yang kesemuanya dalam substrat avicel. Jika dilihat lingkungannya yaitu semua isolat menghasilkan protein tertinggi pada suhu yang sama yaitu 25^o C namun pH berbeda. Dengan demikian, produksi enzim selulase menggunakan kapang isolat A 2.10, A 2.15 dan isoat B 3.18 lebih produktif pada asubstrat avicel dengan suhu 25^o C dibanding dengan CMC, namun perlu

memperhatikan kebutuhan pH lingkungannya yang nampak spesifik pada masing-masing isolat. Dari fakta ini nampak bahwa pH merupakan faktor yang berpengaruh terhadap kadar protein enzim disamping faktor substrat. Isolat A 2.15 dan B 3.18 nampak ada kesamaan didalam kebutuhan suhu lingkungannya untuk menghasilkan protein yang tinggi yaitu pada pH basa, namun kebutuhan suhunya seluruh isolat pada rentang mesofilik.

Analisis data di atas menunjukkan bahwa rata-rata kebutuhan substrat isolat kapang A 2.10, A 2.15 dan B 3.18 baik untuk menghasilkan aktivitas enzim, gula reduksi dan kadar protein yang tinggi lebih sesuai menggunakan substrat avicel, walaupun masing-masing isolat memerlukan kondisi suhu dan pH yang bervariasi. Isolat A 2.10 suhu 25^o C pH 7, isolat A 2.15 suhu 25^o C pH 9, dan isolat B 3.18 suhu 30^o C pH 7. Karena ke 3 kapang ini diisolasi dari lingkungan yang bersuhu mesofil maka enzim yang dihasilkan umumnya aktivitas optimalnya pada suhu mesofil. Untuk isolat A 2.10 dan B 3.18 cenderung membutuhkan lingkungan asam dan isolat A 2.15 membutuhkan lingkungan basa.



Gambar 9. Kadar protein yang dihasilkan oleh kapang isoat A 2.15 pada berbagai variasi suhu dan pH

Menurut [4], degradasi selulosa pada keadaan asam terutama oleh fungi sedangkan netral sampai alkali banyak mikroba aktif terutama bakteri dan aktinomisetes. pH optimum selulase 4,2-5,2 [5]. Enzim selulase yang diproduksi oleh kapang stabil pada pH 5,0-6,0 [2]

Substrat avicel memberikan hasil aktivitas yang tinggi dibuktikan dengan hasil kadar gula reduksinya yang tinggi pula, sebagai hasil hidrolisinya. Pada substrat CMC aktivitasnya cenderung rendah terutama pada suhu dan pH yang optimum untuk substrat avicel. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya kemampuan enzim exoglukanase yang bekerja pada rantai akhir reduksi atau non reduksi menjadi glukosa atau selobiosa dan dapat beraksi juga pada selulosa mikrokristal, dan aktivitas enzim β -glucosidase yang menghidrolisis allodekstrin terlarut dan selobiosa menjadi glukosa, dan pada substrat CMC lebih rendah aktivitasnya karena adanya aktivitas enzim endoglukanase yang bekerja pada selulosa amorf seperti CMC. Hal ini didukung oleh pendapat Sadhu, S & T.K. Maiti (2013: 238) yang mengemukakan bahwa enzim selulase merupakan suatu sistem enzim yang diklasifikasikan berdasarkan aksi katalitiknya yaitu endoglukanase ($\text{Endo-1,4 } \beta\text{-D-Glucan Glucanohydrolase}$) aktif mendegradasi selulosa amorf seperti CMC dan selooligosakarida; eksoglukanase ($1,4 - \beta\text{-D-Glucan selobiohydrolase}$) aktif mendegradasi selulosa kristalin seperti avicel tetapi inaktif terhadap selulosa amorf; β -glucosidase; selobiose; cellodextrin fosforilase; cellobiose epimerase.

Hasil analisis kadar protein tertinggi dari kapang isolat A 2.10, A 2.15 dan isolat B 3.18 masing-masing adalah untuk isolat A 2.10 25°C pH 7 sebesar 0,18025 mg/ml, isolat A 2.15 suhu 25°C pH 9 sebesar 0,11975 mg/ml dan isolat B 3.18 pada suhu 20°C pH 7 diperoleh kadar protein 0,13475 mg/ml, yang kesemuanya dalam substrat avicel dengan suhu rata-rata 25°C , dan pH bervariasi. Isolat kapang yang menghasilkan protein tertinggi diantara isolat kapang yang lain, adalah isolat A 2.10 dengan didukung suhu 25°C pH 7.

Jumlah protein yang tinggi nampaknya berhubungan dengan aktivitasnya yang tinggi. Fakta ini ditunjukkan pada isolat A 2.10 yang hasil protein tertinggi pada suhu 25°C pH 7, aktivitas tertingginya juga pada 25°C pH 7. Isolat A 2.15 dan Isolat B 3.18 juga menunjukkan kecenderungan yang sama. Sehingga aktivitas yang tinggi dapat disebabkan oleh kadar protein yang

tinggi, dan filtrat protein kasar dimungkinkan terdiri dari enzim selulase,

Simpulan

Aktivitas enzim selulase masing-masing isolat berbeda satu sama lain yaitu untuk isolat kapang A 2.10 suhu 25°C pH 7, isolat A 2.15 suhu 25°C pH 9, dan isolat B 3.18 suhu 30°C pH 7, yang kesemua isolat optimal pada substrat avicel dengan suhu 25°C namun kebutuhan pH untuk mendukung aktivitas enzim lebih bervariasi tergantung pada isolatnya.

Isolat yang menghasilkan kadar protein tertinggi adalah isolat A 2.10 dengan suhu 25°C pH 7, menyusul isolat B 3.18 dan A 2.15. A 2.10, dan untuk masing-masing isolat adalah A 2.10 25°C pH 7 sebesar 0,18025 mg/ml, isolat A 2.15 suhu 25°C pH 9 sebesar 0,11975 mg/ml dan isolat B 3.18 pada suhu 30°C pH 7 diperoleh kadar protein 0,13475 mg/ml.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih diucapkan kepada FMIPA yang memberikan dana dan kesempatan untuk mendukung terlaksananya penelitian ini. Ucapan terimakasih juga diucapkan untuk Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA yang telah memberikan fasilitas ruang dan alat-alat laboratorium

Pustaka

- [1] Umnyatie, S dan V. Henuhili. (2013) Diversitas fungi saprofit pada tanah pertanian di Wukirsari Cangkringan Sleman Yogyakarta. Laporan penelitian
- [2] Kansoh, A.M., S.A Essam, and A.N. Zaenat. (1999) Biodegradation and utilization of baggase with *Trichoderma reesei*. *Polymer Degradation and Stability*. 63 (2): 273-278
- [3] Sadhu, S and T.K. Maiti. (2013) Cellulase Production by Bacteria: A Review. *British Microbiology Research Journal* 3 (3): 235-258
- [4] Kabirun. (1990) *Biodegradasi limbah berselulosa: kursus singkat ekologi mikrobial*. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta
- [5] WBC (Worthington Biochemical Corporation). (2009). Cellulase. <http://www.worthington> diakses tgl 1 Juni 2009, pkl 10.21 WIB