

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Enzim adalah protein yang memiliki fungsi sebagai katalis dalam proses biokimia. Enzim menjadi salah satu kebutuhan yang penting bagi dunia industri. Enzim merupakan katalis yang sangat spesifik di mana dapat mengubah suatu substrat tertentu menjadi produk. Enzim telah mendapatkan pengakuan karena penggunaannya yang luas di berbagai sektor industri, misalnya untuk makanan, pertanian, bahan kimia, obat-obatan, dan energi. Proses industri menggunakan enzim digemari karena memakan waktu yang cukup singkat, dapat menghemat biaya, tidak berbahaya dan ramah lingkungan (Choi, 2015). Enzim dapat dihasilkan oleh hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Mikroorganisme telah digunakan sejak peradaban manusia kuno dengan aplikasi pertama yaitu ragi untuk menghasilkan minuman beralkohol dari jelai oleh Babilonia dan Sumeria pada awal 6000 SM (Li *et al*, 2012). Produk enzim yang banyak digunakan pada industri adalah amilase, selulase, lipase, protease, katalase, dan isomerase (Dinata, 2011).

Salah satu produk enzim yaitu enzim selulase adalah enzim yang dikenal dengan nama sistematik β -1.4 glukano-4-glukanohidrolase, merupakan enzim yang dapat menghidrolisis selulosa dengan memutus ikatan glikosidik β -1.4 dalam selulosa, selodektrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya menjadi gula sederhana atau glukosa (Aryani, 2012). Enzim selulase termasuk enzim ekstraseluler yang dihasilkan di dalam sel dan dikeluarkan ke media tumbuhnya untuk mendegradasi senyawa polimer (Aryani, 2012). Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari tiga komponen enzim yaitu endoglukanase, eksoglukanase, dan β glukosidase yang bekerja sama untuk menghidrolisis selulosa tidak larut menjadi glukosa (Putri, 2016). Produksi enzim selulase secara *in vitro* menggunakan media *Carboxymethyl Cellulosa* (CMC) karena media tersebut mengandung selulosa yang digunakan sebagai substrat pada reaksi enzimatik (Meryandini *et al.*, 2010). Menurut Alam *et al.* (2014) CMC dengan konsentrasi 2% merupakan substrat terbaik dalam menginduksi sintesis enzim

selulase ekstraseluler secara optimum. Selulase dapat berasal dari bakteri selulolitik dan fungi. Bakteri selulolitik melakukan hidrolisis kompleks selulosa menjadi glukosa sederhana (Nurrochman, 2015). Kirk dan Othmer (2002) menyatakan bahwa selulase mempunyai kegunaan dalam dunia perindustrian, salah satunya dipakai dalam bidang tekstil, pakan ternak, produksi etanol dan digunakan dalam pembaharuan kertas lama menjadi kertas baru. Enzim selulase merupakan salah satu enzim yang sering digunakan di industri pulp dan kertas bersama-sama dengan enzim amilase, lipase, esterase, pektinase, hemiselulase, xilanase dan enzim ligninolitik. Aplikasi enzimatik dalam industri pulp dan kertas telah berkembang sejak awal 1980, dengan diperkenalkannya penggunaan xilanase pada proses pemutih *pulp* (Pathak, 2010). Selain itu enzim selulase digunakan untuk *biopolish* untuk kain dan bahan *jeans* (Kuhad, 2011). Dengan itu, maka enzim selulase merupakan enzim yang potensial. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim serta keberadaan inhibitor (Hames dan Hooper, 2005). Kemudian pemurnian enzim dapat dilakukan berdasarkan sifat-sifat enzim sebagai protein yang berbeda dalam hal kelarutan, muatan serta ukuran atau berat molekulnya (Lehninger, 1995).

Tanah adalah tempat yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme (Subba, 1995). Jumlah selulosa di alam sangat berlimpah, termasuk di tanah. Namun meskipun jumlahnya melimpah, degradasi dan pemanfaatannya belum maksimal. Menurut data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan pada tahun 2021, jumlah sampah yang tidak terkelola adalah 37,14% atau 8.781.663,59 ton/tahun dari keseluruhan jumlah sampah yang ada di Indonesia. Hal tersebut tentu cukup mengkhawatirkan karena sampah yang tidak dikelola dengan baik dapat menyebabkan polusi bagi lingkungan di sekitarnya seperti tanah yang tercemar dan sumber air yang menjadi berwarna keruh dan berbau busuk karena sampah yang tidak terkelola (Waruwu, 2007). Dengan itu dilakukan eksplorasi biodekomposer untuk membantu mendegradasi selulosa yang ada di alam. Salah satu sumber biodekomposer adalah dari bakteri dekomposer yang berada pada tubuh atau bisa disebut endosimbion hewan. Contoh dari hewan dekomposer di alam adalah dari kelompok Gastropoda. Gastropoda berperan penting dalam proses

dekomposisi serasah dan mineralisasi materi organik terutama yang bersifat herbivor dan detrivor. Gastropoda berguna sebagai dekomposer awal yang bekerja dengan cara mencacah-cacah daun-daun menjadi bagian-bagian kecil kemudian akan dilanjutkan oleh organisme yang lebih kecil yaitu mikroorganisme endosimbiotiknya (Arief, 2003). Salah satu hewan dekomposer dari kelompok Gastropoda adalah siput atau bekicot (*Achatina fulica*).

Untuk itu upaya memanfaatkan limbah dan endosimbion hewan dekomposer dilakukan oleh proyek penelitian Ni'matuzahroh (2019) yang dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, dengan memanfaatkan sampah organik rumah tangga dan dilakukan isolasi mikroorganisme endosimbion hewan dekomposer yang memiliki potensi enzimatik. Kemudian pada penelitian lanjutan yang dilakukan oleh Ni'matuzahroh, *et al.*, (2020), telah berhasil mengisolasi mikroba yang terdapat pada usus hewan dekomposer. Berdasarkan hasil uji skrining, didapatkan keempat isolat bakteri yang diteliti yakni ES D4, EKA 4, EKA 19, dan EKA 20 mampu menghasilkan keempat enzim hidrolitik (enzim amilase, selulase, protease, dan lipase) dengan aktivitas tertinggi dibandingkan 20 isolat lain yang ditemukan dari hewan dekomposer.

Hewan dekomposer yang memiliki isolate dengan aktivitas tertinggi yaitu siput dan kecoa diidentifikasi menggunakan analisis 16s RNA. Didapatkan hewan siput terdeteksi sebagai *Achatina fulica* dan hewan kecoa teridentifikasi sebagai *Pyncoscelus surinamensis* dan *Lobopterella dimidiatipes*. ES D4 adalah isolat bakteri dari usus hewan siput atau bekicot. Isolat bakteri ES D4 mampu menghasilkan keempat enzim hidrolitik tersebut dengan melakukan uji melalui perhitungan *Total Plate Count* (TPC), pH, kadar protein (*crude*), dan aktivitas enzim masing-masing isolat mikroba endosimbion. Dari laporan sebelumnya pada tahun 2019 milik Ni'matuzahroh, *et al.*, didapatkan data bahwa isolat bakteri ES D4 paling tinggi aktivitas enzim selulasenya. Isolat bakteri ES D4 memiliki karakteristik makroskopis yaitu berwarna putih dengan bentuk sirkuler dan tepi *entire*, elevasi koloni *flat*, dengan struktur koloni *opaque* dan memiliki bentuk basil. Melalui pewarnaan gram, hasil dari isolat ES D4 adalah bakteri gram positif

dengan pH optimum 6 dan suhu optimum pertumbuhan bakteri adalah 28°C saat diujikan dengan variasi 3 suhu yaitu 27°C, 28°C, dan 37°C.

Suhu dan pH adalah faktor yang harus diketahui saat memproduksi enzim (Sari, 2010), karena setiap enzim akan berfungsi secara optimal pada suhu dan pH tertentu. Kecepatan reaksi menurun tajam di atas suhu optimal karena enzim merupakan protein yang akan terdenaturasi pada suhu tinggi (Fitriani, 2003). Disamping itu, sedikit pergeseran pH dari pH optimum juga akan menyebabkan perubahan besar pada reaksi yang dikatalisis enzim (Murray *et al.*, 2003). Dengan itu karakterisasi enzim sangat diperlukan. Karakterisasi enzim selulase sebelumnya telah dilakukan di beberapa penelitian. Pada penelitian Setyoko (2016), variabel pH diperoleh aktivitas maksimum pada pH 5,4 dengan aktivitas enzim 311,64 $\mu\text{mol/ml}$ dan aktivitas spesifik enzim 11,06 $\mu\text{mol/mg}$. Variabel suhu optimum diperoleh aktivitas maksimum pada suhu 39°C dengan aktivitas enzim 306,35 $\mu\text{mol/ml}$ dan aktivitas spesifik enzim 10,87 $\mu\text{mol/mg}$. Variabel waktu inkubasi diperoleh aktivitas maksimum pada waktu inkubasi 60 menit dengan aktivitas enzim 292,90 $\mu\text{mol/ml}$ dan aktivitas spesifik enzim 10,39 $\mu\text{mol/mg}$. Isolat bakteri ES D4 telah terbukti mampu menghasilkan enzim selulase berdasarkan penelitian Ni'matuzahroh (2019) dan telah diukur aktivitas enzim selulase tertinggi ada pada hari ketiga inkubasi dengan nilai 78 U/mL. Namun penelitian yang dilakukan hanya mengukur nilai aktivitas enzim tertinggi yang dapat dihasilkan oleh kultur enzim selulase isolat bakteri ES D4 tanpa dilakukan karakterisasi. Dengan demikian penelitian karakterisasi enzim selulase isolat bakteri ES D4 endosimbion siput *Achatina fulica* ini sangat penting untuk dilakukan tidak hanya pada sudut pandang enzimatis tetapi juga untuk aplikasi misalnya industri karena kondisi optimum dalam aplikasi ditentukan oleh karakterisasi enzim tersebut sehingga dapat digunakan secara efisien dan optimal. Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi pada enzim selulase hasil pemurnian dengan variasi suhu, pH, uji dengan berbagai jenis logam dan berat molekul.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah variasi suhu mempengaruhi aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4?
2. Apakah pengaruh variasi pH mempengaruhi aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4?
3. Apakah jenis logam mempengaruhi aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4.
2. Mengetahui pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4.
3. Mengetahui pengaruh jenis logam terhadap aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4.

1.4 Asumsi penelitian

Asumsi pada penelitian ini yaitu pada suhu rendah menimbulkan tumbukan antar partikel rendah sehingga reaksi enzimatik yang ada menjadi lambat, sedangkan sebaliknya jika dalam keadaan suhu tinggi, tumbukan antar partikel cepat sehingga reaksi enzimatik berjalan cepat juga. Oleh karena itu, variasi suhu dapat memengaruhi laju aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4. Kemudian diasumsikan bahwa semakin rendah pH menyebabkan denaturasi pada enzim yaitu struktur kimianya terhidrolisis, begitupun dengan semakin tinggi pH. Oleh karena itu, variasi pH dapat memengaruhi laju aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4. Diasumsikan juga pemberian beberapa jenis logam dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor dalam laju aktivitas enzim sehingga pemberian beberapa jenis logam dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase.

1.5 Hipotesis penelitian

Hipotesis pada penelitian ini dari rumusan masalah yang ada adalah jika suhu memengaruhi laju aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4, maka akibat adanya variasi suhu menyebabkan perbedaan pada nilai aktivitas enzim selulase

dari isolat bakteri ES D4 endosimbion siput *Achatina fulica*. Selanjutnya dihipotesiskan jika variasi pH dapat memengaruhi laju aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4, maka variasi pH memberikan perbedaan pada nilai aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4 endosimbion siput *Achatina fulica*. Kemudian jika pemberian beberapa jenis logam dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase dari ES D4, maka pemberian beberapa jenis logam memberikan perbedaan pada nilai aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri ES D4 endosimbion siput *Achatina fulica*.

1.6 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan mengenai karakterisasi enzim selulase dari isolat bakteri ES D4 endosimbion siput *Achatina fulica* sehingga dapat digunakan lebih lanjut secara efisien.