

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Enzim

2.1.1 Pengertian Enzim

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya, 2003).

Enzim memegang peranan penting dalam proses pencernaan makanan maupun proses metabolisme zat-zat makanan dalam tubuh. Fungsi enzim adalah mengurangi energi aktivasi, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai status transisi (suatu bentuk dengan tingkat energi tertinggi) dalam suatu reaksi kimiawi. Suatu reaksi yang di katalisis oleh enzim mempunyai energi aktivasi yang lebih rendah, dengan demikian membutuhkan lebih sedikit energi untuk berlangsungnya reaksi tersebut. Enzim mempercepat reaksi kimiawi secara spesifik tanpa pembentukan hasil samping dan bekerja pada larutan dengan keadaan suhu dan pH tertentu. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu dan pH (Pelczar dan Chan, 2005).

Enzim dapat diperoleh dari sel-sel hidup dan dapat bekerja baik untuk reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel. Pemanfaatan enzim

untuk reaksi-reaksi yang terjadi di luar sel banyak diaplikasikan dalam dunia industri seperti industri makanan, deterjen, penyamakan kulit, kosmetik, dll (Moon dan Parulekar, 1993). Pemanfaatan enzim dapat dilakukan secara langsung menggunakan enzim hasil isolasi maupun dengan cara pemanfaatan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim yang diinginkan.

Enzim dapat diperoleh dari makhluk hidup seperti hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Beberapa contoh enzim protease yang bersumber dari tumbuhan yaitu bromelin dari nanas, papain dari pepaya, lisozim dari putih telur. Meskipun banyak sumber dapat menghasilkan enzim yang berasal dari hewan dan tumbuhan, namun pemanfaatan mikroorganisme sebagai sumber enzim lebih banyak diminati, karena enzim dari mikroorganisme dapat dihasilkan dalam waktu yang sangat singkat, mudah diproduksi dalam skala besar, proses produksi bisa dikontrol, kemungkinan terkontaminasi oleh senyawa-senyawa lain lebih kecil, dan dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Thomas, 1989).

2.1.2 Sifat-sifat enzim

Enzim sebagai suatu senyawa yang berstruktur protein baik murni maupun protein yang terikat pada gugus non protein, memiliki sifat yang sama dengan protein lain yaitu :

- a. dapat terdenaturasikan oleh panas,
- b. terpresipitasikan atau terendapkan oleh senyawa-senyawa organik cair seperti etanol dan aseton juga oleh garam-garam organik berkonsentrasi tinggi seperti ammonium sulfat,

- c. memiliki bobot molekul yang relatif besar sehingga tidak dapat melewati membran semi permeabel atau tidak dapat terdialisis (Poedjiadi, 1994).

Enzim yang diisolasi dari sumber alamnya dapat dipakai secara *in vitro* untuk penelitian secara rinci reaksi-reaksi yang dikatalisis. Laju reaksi dapat diubah dengan mengubah parameter-parameternya seperti pH, suhu dan dengan mengubah secara kualitatif maupun kuantitatif komposisi ion dari medianya atau dengan mengubah ligand selain substrat atau koenzim (Poedjiadi, 1994).

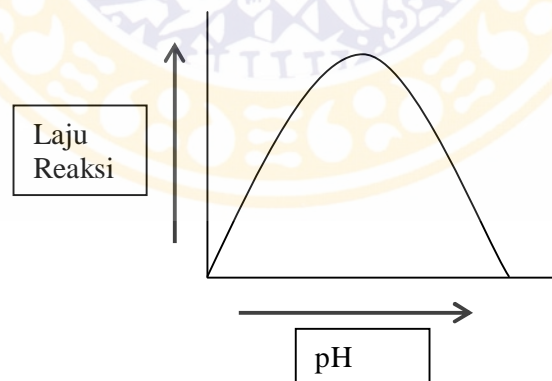
Molekul-molekul enzim merupakan katalis yang sangat efisien dalam mempercepat perubahan substrat menjadi produk-produk akhir. Satu molekul enzim tunggal dapat melakukan perubahan sebanyak seribu molekul substrat per detik. Kenyataan ini sekaligus menjelaskan bahwa molekul enzim tidak dikonsumsi ataupun mengalami perubahan selama proses reaksi berlangsung. Namun demikian ada beberapa hal yang perlu diperhatikan bahwa enzim tidak stabil aktivitasnya dan dapat berkurang atau bahkan menghilang oleh berbagai pengaruh baik kondisi fisik maupun kimia seperti suhu, pH, dan lain sebagainya (Pelczar dan Chan, 2005).

Laju katalisis enzim dapat dipengaruhi dengan mencolok bahkan hanya dengan perubahan-perubahan kecil dalam lingkungan kimianya dan di dalam batasan fisiologisnya, dan perubahan-perubahan ini jelas berperan dalam pengontrolan dan pengaturan sistem enzim yang saling berhubungan yang diperlukan untuk sel-sel kehidupan (Poedjiadi, 1994).

2.1.3 Aktivitas enzimatik

Enzim sebagai biokatalisator berstruktur protein, dalam mekanisme kerja aktivitasnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, kehadiran aktivator atau inhibitor (Poedjiadi, 1994).

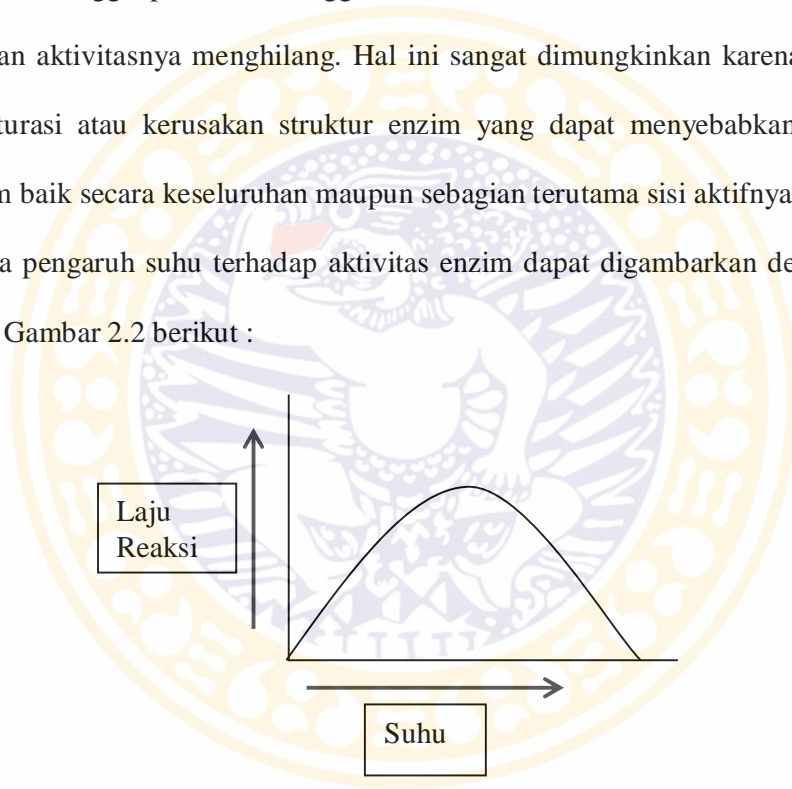
Potensial Hidrogen (pH) merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan apabila bekerja dengan enzim, hal ini dikarenakan enzim hanya mampu bekerja pada kondisi pH tertentu saja. Suatu kondisi pH dimana enzim dapat bekerja dengan aktivitas tertinggi yang dapat dilakukannya dinamakan pH optimum. Sebaliknya pada pH tertentu enzim sama sekali tidak aktif atau bahkan rusak. Hal ini dapat dijelaskan karena diketahui bahwa enzim merupakan molekul protein, molekul protein kestabilannya dapat dipengaruhi oleh tingkat keasaman lingkungan, pada kondisi keasaman yang ekstrim molekul-molekul protein dari enzim akan rusak. Hubungan antara pengaruh pH terhadap aktivitas enzim dapat digambarkan dengan kurva pada Gambar 2.1 berikut :



Gambar 2.1 Pengaruh pH terhadap laju reaksi (Poedjiadi, 1994)

Seperti halnya pH, aktivitas kerja enzim juga dipengaruhi oleh temperatur lingkungan dimana enzim bekerja. Sama seperti reaksi kimia biasa, suhu biasanya

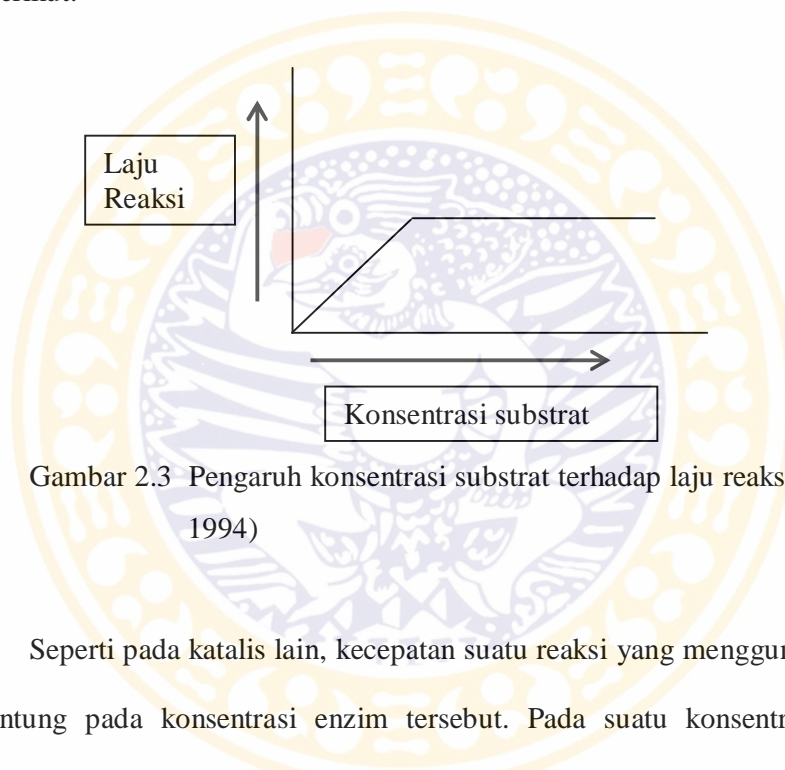
dapat mempercepat proses reaksi, namun demikian pada titik suhu tertentu kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim akan mulai menurun bahkan aktivitasnya tidak lagi nampak. Kondisi suhu dimana enzim dapat menghasilkan aktivitas tertinggi dinamakan suhu atau temperatur optimum. Oleh karena enzim berstruktur protein, sebagaimana diketahui bahwa protein dapat dirusak oleh panas, sehingga pada suhu tinggi tertentu aktivitas enzim mulai menurun dan bahkan aktivitasnya menghilang. Hal ini sangat dimungkinkan karena terjadinya denaturasi atau kerusakan struktur enzim yang dapat menyebabkan kerusakan enzim baik secara keseluruhan maupun sebagian terutama sisi aktifnya. Hubungan antara pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim dapat digambarkan dengan kurva pada Gambar 2.2 berikut :



Gambar 2.2 Pengaruh suhu terhadap laju reaksi (Poedjiadi, 1994)

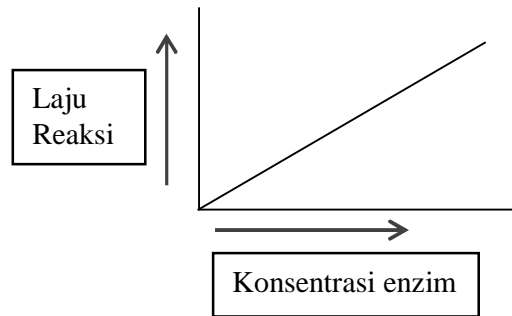
Reaksi-reaksi biokimia yang dikatalisis oleh enzim dipengaruhi pula oleh jumlah substrat. Jika melakukan pengujian konsentrasi substrat dari rendah ke tinggi terhadap kecepatan reaksi enzimatis, maka pada awalnya akan diperoleh hubungan kesebandingan yang menyatakan kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, namun kemudian akan

diperoleh data yang menyatakan pada konsentrasi substrat tinggi tertentu kecepatan reaksi tidak lagi bertambah. Pada kondisi ini konsentrasi substrat menjadi jenuh dan kecepatan reaksi menjadi maksimum yang sering juga disebut sebagai kecepatan maksimum (V_{max}). Hubungan antara pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim dapat digambarkan dengan kurva pada Gambar 2.3 berikut:



Gambar 2.3 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi (Poedjiadi, 1994)

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Hubungan antara pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim dapat digambarkan dengan kurva pada Gambar 2.4 berikut :



Gambar 2.4 Pengaruh konsentrasi enzim terhadap laju reaksi (Poedjiadi, 1994)

Sejumlah besar enzim membutuhkan suatu komponen lain untuk dapat berfungsi sebagai katalis. Komponen ini secara umum disebut kofaktor. Kofaktor ini dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu : gugus prostetik, koenzim dan aktivator. Aktivator pada umumnya ialah ion-ion logam yang dapat terikat atau mudah terlepas dari enzim. Contoh aktivator logam adalah K^+ , Mn^{++} , Mg^{++} , Cu^{++} , atau Zn^{++} (Poedjiadi, 1994).

Mekanisme enzim dalam suatu reaksi ialah melalui pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Oleh karena itu hambatan atau inhibisi pada suatu reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis dapat terjadi apabila penggabungan substrat pada bagian aktif enzim mengalami hambatan. Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor (Poedjiadi, 1994).

2.2 Tinjauan tentang Enzim Protease

2.2.1 Pengertian Enzim Protease

Protease adalah enzim yang berperan dalam reaksi pemecahan protein. Enzim ini akan mengkatalisis reaksi-reaksi hidrolisis, yaitu reaksi yang

melibatkan unsur air pada ikatan spesifik substrat. Berdasarkan cara hidrolisisnya, protease dibedakan menjadi proteinase dan peptidase. Proteinase menghidrolisis molekul protein menjadi polipeptida, sedangkan peptidase menghidrolisis fragmen polipeptida menjadi asam amino (Rao *et al*, 1998).

Protease merupakan enzim penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena aplikasinya yang sangat luas. Industri pengguna protease diantaranya ialah industri deterjen, kulit, tekstil, makanan, hidrolisat protein, pengolahan susu, farmasi, bir, dan limbah (Moon dan Parulekar, 1993).

Protease merupakan enzim yang sangat kompleks, mempunyai sifat fisiko-kimia dan sifat-sifat katalitik yang sangat bervariasi. Enzim ini dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme, serta mempunyai peranan yang penting dalam metabolisme sel dan keteraturan proses dalam sel (Akhdiya, 2003).

Enzim protease dapat dihasilkan oleh tanaman, hewan dan mikroorganisme. Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme. Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease dibatasi oleh tersedianya tanah untuk penanaman dan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan. Disamping itu proses produksi protease dari tumbuhan sangat memakan waktu. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromealin, keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin dan rennin. Enzim-enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan jumlah besar (Susanti, 2002).

Enzim yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis protein disebut enzim proteolitik atau protease. Oleh karena yang dipecah adalah ikatan pada

rantai peptida, maka disebut juga peptidase. Ada dua macam peptidase, yaitu endopeptidase dan eksopeptidase (Poedjiadi, 1994).

2.2.2 Klasifikasi Protease

Protease diklasifikasikan berdasarkan tiga kriteria utama, yaitu tipe reaksi yang dikatalisisnya, struktur kimia alami yang ada pada sisi katalitiknya, dan struktur yang berhubungan dengan evolusi (Rao *et al.*, 1998). Berdasarkan sistem klasifikasi IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology), enzim-enzim proteolitik mikroba dapat dibedakan atas endopeptidase dan eksopeptidase.

Endopeptidase terbagi menjadi 4 kelompok utama, yaitu protease serin (EC 3.4.21), protease sistein (EC 3.4.22), protease aspartat (EC 3.4.23) dan protease metal (EC 3.4.24) (Moreau dan Cophlin, 2004). Penamaan tersebut menunjukkan bagian penting dari sisi katalitik enzim.

A. Protease serin

Protease serin adalah endopeptidase yang mempunyai residu sistein reaktif dan pH optimum mendekati netral. Protein serin mempunyai aktivitas maksimum pada pH alkalis. Tiga residu asam amino yang membentuk *catalytic triad* yang esensial pada proses katalitik, yaitu His57, Asp102 dan serin195. Tahap pertama terjadi pembentukan intermediet asil-enzim antara substrat dan serin. Pada tahap kedua intermediet asil-enzim di hidrolisis dengan molekul air yang melepaskan peptida dengan gugus OH serin (Moreau dan Cophlin, 2004).

B. Protease sistein

Famili protease ini meliputi protease tanaman seperti papain, aktinidin dan bromelain. Pada famili ini, papain merupakan tipe protease yang paling banyak dipelajari. Proses katalisis berlangsung melalui pembentukan intermediet kovalen yang melibatkan residu sistein dan histidin. Pada protease sistein, Cys25 dan His159 berperan sama seperti Ser195 dan His57 pada protease serin. Ion thiolat lebih nukleofil daripada gugus OH. Ion thiolat distabilkan melalui pembentukan pasangan ion dengan gugus imidazolium dari His159 (Moreau dan Cophlin, 2004).

C. Protease aspartat

Protease aspartat umumnya mempunyai aktivitas katalitik maksimum pada pH asam. Hampir semua protease aspartat termasuk famili pepsin yang meliputi enzim digestif seperti pepsin, chimosin, rennin dan protease fungal (Moreau dan Cophlin, 2004).

D. Protease metal

Protease metal mengandung ion logam essensial, biasanya Zn yang mempunyai aktivitas optimum didekat pH netral. Enzim ini distabilkan oleh Ca^{2+} dan dihambat oleh bahan pengkelat yang kuat seperti EDTA. Enzim ini umumnya terdapat dalam mikroorganisme (Nagodawithana dan Reed, 1993).

2.2.3 Aplikasi Enzim Protease dalam Bidang Industri

Protease merupakan enzim penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena aplikasinya dalam bidang industri yang sangat luas, seperti industri

deterjen, kulit, tekstil, makanan, pengolahan susu, dan pengolahan limbah (Nascimento dan Martin, 2006).

Dalam industri deterjen, penggunaan protease dapat mengurangi konsentrasi fosfat dalam deterjen dan menurunkan suhu air untuk mencuci pakaian, sehingga dapat menghemat energi dan mengurangi pencemaran lingkungan (Suhartono, 1989). Beberapa keuntungan dari penggunaan enzim sebagai *cleaning agen*, yaitu :

- a. Meningkatkan kerja deterjen terutama dengan suhu rendah dan pH hampir netral,
- b. Enzim merupakan bahan yang bersifat *biodegradable* dan tidak membahayakan ekosistem akuatik,
- c. Enzim dapat bereaksi spesifik terhadap bermacam-macam pengotor seperti darah dan lemak yang sulit dibersihkan.

Betty, dkk. (2009), menyatakan bahwa enzim protease dapat menurunkan jumlah fosfat dalam limbah deterjen.

Dalam industri pembuatan barang jadi lateks, penggunaan lateks alam sebagai bahan baku alat bantu kedokteran, seperti sarung tangan, kateter, selang infus, dan *sphygmomanometer*, sering menghadapi masalah karena diketahui mengandung protein alergen yang menyebabkan reaksi alergi bagi sebagian pemakainya. Dari penelitian Siswanto, dkk. (2009), diketahui bahwa penambahan enzim protease dalam lateks pekat dapat menguraikan sebagian besar protein yang terkandung di dalamnya. Dalam penelitian tersebut telah dibuktikan bahwa penurunan kadar protein terjadi karena protein dalam lateks pekat terurai oleh

aktivitas enzim protease dan hasil pemecahannya terbuang bersama-sama dengan serum ketika disentrifugasi.

Industri penyamakan kulit telah memanfaatkan enzim protease alkalin. Pada kulit terdapat lapisan korium yang digunakan untuk proses penyamakan kulit. Lapisan ini mengandung protein kolagen yang harus tetap dipertahankan. Protease digunakan untuk proses *dehairing* dan *bating*. Proses *dehairing* bertujuan untuk memisahkan dua struktur protein yaitu keratin dan kolagen. Pada proses ini menggunakan natrium sulfida (Na_2S) untuk membuang protein keratin rambut. Proses *bating* digunakan untuk menghilangkan protein-protein penyusun lainnya yang berupa protein globular seperti albumin, globulin, mukoid, dan protein fibrous seperti retikulin dan elastin (Anggraini, 2003).

Selama ini, industri penyamakan kulit juga dikenal sebagai penghasil polusi udara dan air limbah. Penggunaan natrium sulfida (Na_2S) menimbulkan bau menyengat sehingga kurang baik untuk kesehatan. Sedangkan air limbah yang dihasilkan, telah dicemari oleh kapur dan sisa-sisa organik seperti rambut, lemak, dan kotoran potongan kulit. Oleh sebab itu, diperlukan teknologi untuk menurunkan polusi yang dihasilkan. Penggunaan protease dalam proses penyamakan kulit dapat menjadi solusinya. Proses enzimatik akan mengurangi kerusakan kimiawi pada kulit dan rambut (Anggraini, 2003).

Aplikasi yang terkait dengan pengolahan limbah industri adalah proses bioremediasi. Dimana pada saat ini proses bioremediasi telah berkembang pada proses *recovery* limbah buangan yang berbahaya, yaitu senyawa-senyawa kimia

yang sulit untuk didegradasi, seperti logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa-senyawa yang terhalogenasi, seperti pestisida, dan herbisida.

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, reaksi ini disebut biotransformasi. Proses biotransformasi tersebut berujung pada proses biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Jerzy dan Jean, 2000).

2.2.4 Uji Aktivitas Enzim Protease

Semua enzim adalah protein, dan aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Penataan tertentu pada rantai samping asam amino suatu enzim di sisi aktifnya menentukan tipe molekul yang dapat terikat dan bereaksi. Terdapat banyak enzim yang memiliki molekul-molekul non protein kecil yang terhubung dengan sisi aktif atau di dekatnya. Molekul-molekul ini disebut kofaktor atau koenzim. Beberapa enzim memerlukan kofaktor atau koenzim untuk aktivitas katalitiknya. Terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim, yaitu suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan keberadaan inhibitor (Poedjiadi, 1994).

Pada beberapa penelitian, uji aktivitas enzim protease dipengaruhi oleh faktor nutrisi untuk pertumbuhan bakteri yang ada pada media yang digunakan, seperti sumber protein, lemak, mineral dan vitamin. Protease merupakan enzim yang produksinya dapat diinduksi oleh senyawa nitrogen sederhana. Di samping

itu, perbandingan antara unsur karbon dan nitrogen juga akan berpengaruh baik terhadap produksi enzim protease, sehingga aktivitas protease dapat lebih tinggi (Naiola dan Widhyastuti, 2002).

Aktivitas proteolitik ditentukan dengan metode Enggel *et al.* (2004). Pada metode ini, kasein digunakan sebagai substrat. Enzim protease yang disekresi oleh sel bakteri akan menghidrolisis kasein untuk menghasilkan asam amino. Besarnya aktivitas proteolitik ditentukan berdasarkan jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis kasein. Selain itu, pengukuran aktivitas proteolitik juga menggunakan larutan buffer fosfat pH 7 untuk mempertahankan pH dan sebagai pelarut kasein. Reaksi ini dihentikan dengan menambahkan asam trikloroasetat (TCA), setelah reaksi tersebut dihentikan selanjutnya ditambahkan natrium karbonat (Na_2CO_3) untuk mengikat air yang tersisa pada larutan. Sebagai reagen pewarna digunakan reagen Folin ciocalteau yang akan bereaksi dengan protein dan memberikan warna biru yang kuat.

2.3 Tinjauan tentang Bakteri Penghasil Protease

Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim, terutama protease mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi secara berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Thomas, 1989). Mikroba yang telah dikembangkan secara komersial sebagai penghasil protease antara lain *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus pumilus*, *Aspergillus oryzae*, dan *Aspergillus niger*. Menurut Nurhayati *et al.* (1997), produksi protease

tertinggi dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* ATCC 1633 dengan penambahan media limbah cair tahu ke dalam media produksi. Ada beberapa protease yang membutuhkan ion logam tertentu untuk meningkatkan aktivitasnya diantaranya menambahkan ion logam Ca^{2+} terhadap *Bacillus pumilus* Y1 (Suhartono, 2000).

Pada penelitian Anggraini (2003), diketahui bahwa *Bacillus sp.* merupakan mikroorganisme alkalofilik yang menghasilkan protease alkalin, yang dimanfaatkan pada industri penyamakan kulit. Mikroorganisme alkalofilik dapat tumbuh optimal pada pH di atas 9, namun tidak dapat tumbuh atau pertumbuhannya lambat pada pH netral. Hal ini tergantung pada kondisi pertumbuhan, seperti nutrisi, ion logam, dan suhu.

Suhartono (1992), menyatakan bahwa di dalam aplikasi deterjen jenis protease yang dapat digunakan hanya yang bersifat serin alkalis, yang berasal dari *Bacillus licheniformis*. Enzim bagi deterjen harus tahan terhadap sifat-sifat komponen deterjen, terutama senyawa pemutih, aktif pada pH tinggi dan suhu yang beragam.

Pada tahun 1964, *Thermus aquaticus* merupakan bakteri termofil pertama yang berhasil diisolasi dari sumber air panas dengan suhu di atas 70°C (Vieille dan zeikus, 2001). Madigan dan Mars (1997), juga telah berhasil mengisolasi lebih dari 50 spesies termofilik. *Pyrolobus fumari* adalah mikroba paling tahan panas yang tumbuh pada sumur hidrotermal dasar laut. Indrajaya *et al.* (2003), melaporkan bahwa beberapa bakteri termofilik berhasil diisolasi dari berbagai sumber air panas di Indonesia, salah satunya *Geobacillus thermoleovorans*,

dengan kisaran suhu pertumbuhan 43°C sampai 75°C yang berasal dari sumber air panas kawah Wayang, Pangelangan.

Naiola dan Widhyastuti (2002), melaporkan bahwa *Bacillus macerans* merupakan isolat bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik tertinggi, dimana isolat tersebut diisolasi dari beberapa contoh makanan fermentasi, seperti tape, tempe, oncom, kecap, dan ragi tape, serta dari beberapa contoh tanah dan air sungai.

Pada limbah rumah pemotongan hewan banyak ditemukan mikroorganisme penghasil enzim protease yang berasal dari saluran pencernaan hewan, seperti sapi, domba, kerbau. Enggel *et al.* (2004), menyatakan bahwa *Clostridium* merupakan salah satu bakteri yang berperan dalam degradasi protein di saluran pencernaan hewan ruminansia. Selain itu, Meriyandini *et al.* (2001), juga telah mengisolasi *Clostridium botulinum* dari berbagai sampel tanah. Sedangkan *Clostridium bifermentans* juga ada di tanah, sedimen sungai, sedimen danau, endapan lumpur, dan tinja.

2.4 Tinjauan tentang Limbah Rumah Pemotongan Hewan (RPH)

Limbah industri ialah limbah yang dihasilkan atau berasal dari hasil produksi oleh pabrik atau perusahaan tertentu. Limbah ini mengandung zat yang berbahaya diantaranya asam organik dan senyawa organik, zat-zat tersebut jika masuk ke perairan maka akan menimbulkan pencemaran yang dapat membahayakan makhluk hidup yang menggunakan air tersebut. Limbah yang dihasilkan dari kegiatan industri ini dapat berbentuk padatan, cairan maupun gas.

Limbah ini ada yang berbahaya dan beracun bagi lingkungan hidup dan khususnya manusia (Annonim, 2002).

Industri RPH merupakan salah satu penghasil limbah dari aktivitas industri. Industri RPH ini hampir dijumpai di setiap kota di Indonesia, baik kota besar maupun kota kecil. Rumah pemotongan tersebut pada umumnya belum mempunyai alat pengolahan limbah. Industri RPH membutuhkan banyak air untuk proses pemotongan hewan. Rata-rata pemakaian air untuk pemotongan adalah 70 liter/ekor. Hampir 99% dari air yang digunakan dibuang ke badan air sebagai air limbah. Air tersebut digunakan untuk membersihkan kendaraan pembawa sapi, daging dan lain-lain (Simon *et al.*, 1997).

Air limbah adalah cairan buangan yang berasal dari rumah tangga, industri maupun tempat-tempat umum lainnya, dan biasanya mengandung bahan-bahan atau zat-zat yang dapat membahayakan kehidupan manusia serta mengganggu kelestarian lingkungan hidup. Limbah cair RPH mengandung bahan organik dengan konsentrasi tinggi, padatan tersuspensi, serta bahan koloid seperti lemak, protein, dan selulosa. Bahan organik ini dapat menimbulkan permasalahan lingkungan bila dibuang langsung ke lingkungan (Roihadin, 2006).

Limbah rumah pemotongan hewan (RPH) yang berupa feces urine, isi rumen atau isi lambung, darah daging atau lemak, dan air cucuannya, dapat bertindak sebagai media pertumbuhan dan perkembangan mikroba sehingga limbah tersebut mudah mengalami pembusukan. Dalam proses pembusukannya di dalam air, mengakibatkan kandungan NH_3 dan H_2S di atas maksimum kriteria kualitas air, dan kedua gas tersebut menimbulkan bau yang tidak sedap serta dapat

menyebabkan gangguan pada saluran pernapasan yang disertai dengan reaksi fisiologis tubuh berupa rasa mual dan kehilangan selera makan. Selain menimbulkan gas berbau busuk juga adanya pemanfaatan oksigen terlarut yang berlebihan dapat mengakibatkan kekurangan oksigen bagi biota air (Roihatin, 2006).

Pengolahan limbah pada RPH maupun pada limbah dengan kandungan bahan organik tinggi adalah dengan melakukan minimalisasi limbah, kemudian dilakukan pengolahan limbah sebelum pembuangan sisa limbah. Dalam upaya menurunkan kadar pencemar organik yang terkandung di dalam limbah tersebut maka telah diterapkan pengolahan limbah dengan proses fisika, proses kimia, dan proses biologi.

Cara biologi dapat menurunkan kadar zat organik terlarut dengan memanfaatkan mikroorganisme. Pada dasarnya, cara biologi adalah pemutusan molekul kompleks menjadi molekul sederhana. Proses ini sangat peka terhadap faktor suhu, pH, oksigen terlarut (OD), dan zat-zat beracun. Mikroorganisme yang digunakan untuk pengolahan limbah adalah bakteri, alga, atau protozoa (Ritmann dan McCarty, 2001).

Pengolahan limbah melibatkan mikroorganisme untuk mendegradasi substrat dalam limbah menjadi bahan yang tidak mengakibatkan pencemaran. Sebagaimana makhluk hidup lainnya, mikroorganisme ini juga membutuhkan nutrisi untuk keperluan pertumbuhan dan fungsinya (MetCalf and Eddy, 2003).

Selain membutuhkan nutrisi, mikroorganisme juga membutuhkan kondisi lingkungan yang sesuai untuk keperluan pertumbuhan dan fungsinya secara

normal. Adanya kandungan nutrisi yang cukup dan seimbang dalam limbah cair disertai kondisi lingkungan yang sesuai, dapat menjadikan air limbah sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme tertentu. Dalam kondisi demikian, mikroorganisme akan mendegradasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam limbah cair melalui metabolisme sel dan metabolisme energi. Adapun mikroba yang dapat dimanfaatkan untuk proses pengolahan limbah, yaitu genus *Bacillus*, *Aspergillus*, *Clostridium*, *Agrobacterium*, *Arthrobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Actinomycetes* (MetCalf and Eddy, 2003).

