



**LAPORAN PENELITIAN
PROYEK DUE-Like BATCH III**



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENSIM SELULASE
DARI KEONG EMAS DAN RAYAP SEBAGAI
BAHAN PENDEGRADASI SELULOSA**

Dibiayai oleh Proyek DUE-Like Bacth III Universitas Airlangga
Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian
Nomor: 81/PL/DUE-Like/UA/2004

Oleh :

M. ANAM AL-ARIF, MP., DRH
HERMAN SETYONO, MS., DRH.
TRI NURHAJATI, MS., DRH.

00 8007141
**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
JANUARI 2005**

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN PROYEK DUE-Like BATCH III

A. Judul penelitian : Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Keong Emas dan Rayap Sebagai Bahan Pendeградasi Selulosa

B. Ketua Peneliti :

- a. Nama lengkap dan gelar : M. Anam Al-Arif, MP., Drh.
 b. Jenis kelamin : Laki-laki
 c. Pangkat/ Golongan/ NIP: Penata tk. I / III-d/ 131 836 993
 d. Bidang keahlian : Makanan Ternak
 e. Fakultas/ Jurusan : Kedokteran Hewan
 f. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

C. Tim Peneliti

No.	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas/ Jurusan	Perguruan Tinggi
1.	Herman Setyono, MS.,Drh	Pakan Unggas	FKH Unair	Universitas Airlangga
2.	Tri Nurhajati, MS. Drh	Pakan ternak Ruminansia	FKH Unair	Universitas Airlangga

D. Pendanaan dan jangka waktu penelitian

Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 6 (enam) bulan

Biaya total yang diusulkan : Rp 30.000.000 (Tiga puluh juta rupiah)

Biaya yang disetujui : Rp 30.000.000 (Tiga puluh juta rupiah)



Mengetahui :
 Dekan FKH-Unair,

Dr. Asmudiono, MS., Drh.
 NIP. 130 687 297

Surabaya, Januari 2005
 Ketua Peneliti,

M. Anam Al-Arif, MP., Drh.
 NIP. 131 836 993

Menyetujui,
 Direktur Eksekutif LPIU
 Universitas Airlangga



Dr. Sri Puji Hastuti, Ph.D
 NIP.131 801 627

Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Keong Emas dan Rayap Sebagai Bahan Pendegradasi Selulosa

M. Anam Al-Arif, Herman Setyono dan Tri Nurhajati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis enzim selulase yang berasal dari saluran pencernaan keong emas dan rayap serta mengetahui aktifitas enzim tersebut secara in-vitro.

Supernatan dari saluran pencernaan keong emas (*Pomacea canaliculata*) dan rayap (*Macrotermes sp.*) dikarakterisasi jenis enzimnya menggunakan SDS-PAGE, *Western Blot* dan *Dot Blot*. Enzim dari supernatan tersebut kemudian diuji aktifitasnya menggunakan CMC, pNPC dan pNPG untuk mengukur aktifitas masing-masing jenis enzim.

Hasil yang didapat dari penelitian ini, pada uji menggunakan SDS-PAGE memperlihatkan pita-pita protein yang diduga merupakan pencerminan jenis enzim selulase, yaitu eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase. Untuk memastikannya dilakukan uji *Western Blot* dan *Dot Blot*. Pada uji *Western Blot* pita-pita protein tidak begitu jelas terlihat, sedangkan pada uji *Dot Blot* terlihat adanya reaksi antigen-antibodi yang memperlihatkan adanya enzim selulase asal keong emas dan rayap sebanding dengan enzim selulase murni asal *Trichoderma viride*, yaitu eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase. Uji aktifitas enzim menunjukkan aktifitas enzim endoglukanase asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap. Aktifitas enzim eksoglukanase asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap. Aktifitas enzim β -glukosidase asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa keong emas dan rayap mengandung enzim selulase kompleks, yang meliputi endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Aktifitas enzim selulase asal keong emas lebih tinggi dibandingkan asal rayap.

Kata kunci : keong emas, rayap, selulase, endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CELLULASE FROM GOLDEN SNAIL AND TERMITE AS DEGRADING CELLULOSE ENZYME

M. Anam Al-Arif, Herman Setyono and Tri Nurhajati

ABSTRACT

The aim of this research is to know the type of cellulase enzyme from golden snail's gut and termite's gut and to know the enzyme activity by in-vitro system.

Supernatant from golden snail's (*Pomacea canaliculata*) gut and termite's (*Macrotermes sp.*) gut were characterized the enzymes type by SDS-PAGE, Western Blot and Dot Blot testing. The enzymes activity from golden snail and termite's supernatant then tested by CMC, pNPC and pNPG.

The result of this research were there are many protein bands on SDS-PAGE that estimate of cellulase enzyme type, that is exoglucanase, endoglucanase and β -glucocidase enzymes. Western Blot and Dot Blot test then used to ensure this estimation. Western Blot test didn't clear showed the protein bands, while Dot Blot test showed the antigen-antibody reaction from golden snail and termite cellulase same as purified cellulase from *Trichoderma viride*, that revealed exoglucanase, endoglucanase and β -glucocidase enzymes. The golden snail's endoglucanase activity was higher than termite's endoglucanase activity. The golden snail's exoglucanase activity was higher than termite's exoglucanase activity. The golden snail's β -glucocidase activity was higher than termite's β -glucocidase activity.

The conclusion of this research were there are 3 cellulase enzymes type in golden snail and termite gut, that is exoglucanase, endoglucanase and β -glucocidase enzymes. The golden snail's cellulase enzymes activity was higher than termite's cellulase enzymes activity.

Key words : golden snail, termite, cellulose, endoglucanase, exoglucanase and β -glucosidase

PRAKATA

Alhamdulillah Robbil 'alamin, berkat rahmat Allah s.w.t dan izinnya, laporan penelitian berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Ensim Selulase dari Keong Emas dan Rayap Sebagai Bahan Pendegradasi Selulosa" selesai dikerjakan.

Pada musim kemarau banyak peternak hewan ruminansia yang kesulitan mendapatkan hijauan sehingga terpaksa menggantinya dengan jerami. Jerami mempunyai kelemahan berupa kandungan protein yang rendah, serta mempunyai pencernaan yang rendah pula. Upaya pemrosesan jerami sudah banyak dilakukan dengan cara hidrolisis basa dan amoniasi. Dalam proses tersebut kualitas jerami bisa ditingkatkan sehingga produktifitas ternak juga bisa diperbaiki. Kelemahan kedua cara tersebut adalah harga bahan kimia semakin mahal sehingga tidak lagi efisien serta bisa menyebabkan pencemaran lingkungan. Cara pemrosesan yang diharapkan lebih baik adalah dengan cara biologis yaitu dengan penambahan ensim.

Penambahan ensim pendegradasi selulosa dalam pakan hewan ruminansia terbukti mampu meningkatkan pencernaan, serta terjadi perbaikan produktifitas ternak. Sampai saat ini ensim komersial masih terlalu mahal bagi peternak sehingga pemakaian secara luas belum memungkinkan. Oleh sebab itu perlu dicari sumber ensim pendegradasi selulosa yang banyak terdapat di Indonesia.

Keong emas dan rayap bisa dianggap sebagai hama. Keong emas banyak merusak tanaman pertanian sedangkan rayap banyak merusak bangunan yang terbuat dari kayu. Kemampuan kedua hewan tersebut mengkonsumsi bahan yang

banyak mengandung selulosa disebabkan dalam saluran pencernaannya terdapat mikrobial yang menghasilkan enzim selulase yang mampu mencerna selulosa. Untuk mencerna selulosa dibutuhkan tiga jenis enzim yaitu eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase. Enzim selulase yang diisolasi dari keong emas dan rayap perlu dilihat jenisnya serta kemampuannya dalam mendegradasi selulosa.

Dari penelitian ini diketahui bahwa saluran pencernaan keong emas dan rayap mengandung enzim eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase. Enzim eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase asal saluran pencernaan keong emas mempunyai aktifitas degradasi lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal saluran pencernaan rayap, sedangkan penelitian terdahulu menyebutkan bahwa pencernaan selulosa pada rayap lebih baik dibandingkan dengan pencernaan pada sapi. Diharapkan nantinya enzim tersebut dapat digunakan dalam pakan hewan ruminansia untuk memperbaiki pencernaan serta produktifitas ternak.

Penulis sadar bahwa tulisan ini masih belum sempurna, oleh sebab itu kritik dan saran masih diperlukan demi perbaikan tulisan ini.

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Hipotesis	4
2. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	5
3. TINJAUAN PUSTAKA	6
3.1 Jerami padi	6
3.2 Selulosa	10
3.3 Keong emas dan Rayap	14
4. METODE PENELITIAN	18
4.1 Pembuatan Antibodi Antiselulase	18
4.2 <i>Indirect</i> ELISA	18
4.3 Isolasi Enzim Selulase	19
4.4 Analisis Karakterisasi Enzim Selulase	19
4.4.1 SDS-PAGE	20
4.4.2 <i>Western Blot</i>	20
4.4.3 <i>Dot Blot</i>	21
4.5 Uji Aktifitas Enzim Selulase	21
4.5.1 Aktivitas Enzim Endoglukanase	22
4.5.2 Aktivitas Enzim Eksoglukanase	22
4.5.3 Aktivitas Enzim β -glukosidase	22
4.6 Analisis Data	22

HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
5.1 Produksi Antibodi Poliklonal Antiselulase.....	23
5.2 Karakterisasi Ensim Selulase dengan SDS-PAGE.....	24
5.3 Karakterisasi Ensim Selulase dengan <i>Western Blot</i>	27
5.4 Karakterisasi Ensim Selulase dengan Dot Blot.....	28
5.5 Pengujian Aktivitas Ensim Selulase	31
KESIMPULAN DAN SARAN	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 5.1 Nilai <i>Optical Density</i> untuk Pembuatan Antibodi Antiselulase	23
Tabel 5.2 Titer Antibodi Hasil Pengujian Antibodi Antiselulase Kelinci yang Diuji dengan Teknik <i>Indirect</i> ELISA	24
Tabel 5.3 Penggolongan Jenis Enzim Berdasarkan Berat Molekul	26
Tabel 5.4 Diameter Aktifitas Degradasi Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap pada Gel CMC.....	32
Tabel 5.5. Pelepasan p-nitrofenol oleh Aktifitas Eksoglukanase dari Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap	34
Tabel 5.6 Pelepasan p-nitrofenol oleh Aktifitas β -glukosidase dari Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 3.1 Kristal Selulosa	11
Gambar 5.1 Hasil Preparasi Protein Ensim Selulase dari Ensim Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap dengan Teknik SDS-PAGE ..	25
Gambar 5.2 Karakterisasi Ensim Selulase Menggunakan <i>Western Blot</i> ...	27
Gambar 5.3 Hasil Uji Ensim Selulase Menggunakan <i>Dot Blot</i>	29
Gambar 5.4 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Selulase Murni	31
Gambar 5.5 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Keong Emas	31
Gambar 5.6 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Rayap	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Selulase Murni dengan teknik SDS-PAGE	45
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Keong Emas dengan teknik SDS-PAGE	46
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Rayap dengan teknik SDS-PAGE	47
Lampiran 4. Judul Penelitian Mahasiswa yang Terlibat dalam Penelitian	48



**BAB 1.
PENDAHULUAN****1.1. Latar Belakang Permasalahan**

Peningkatan jumlah penduduk Indonesia serta terjadinya perubahan pola konsumsi masyarakat, maka konsumsi daging dari tahun ke tahun juga menunjukkan adanya peningkatan. Konsumsi daging tersebut, sekitar 23,5% yaitu 377.000 ton pertahun berupa daging sapi dan kerbau, sedangkan pangsa pasar terbesar sebesar 93% masih mengandalkan ketersediaan daging lokal (Anonimus, 2002).

Hewan ruminansia misalnya sapi dan kerbau membutuhkan hijauan sebagai makanan pokoknya. Pada musim penghujan kebutuhan hijauan bisa dipenuhi namun pada musim kemarau kebutuhan tersebut sulit untuk dipenuhi. Peternak terpaksa menggantikannya dengan limbah pertanian misalnya jerami padi yang memang keberadaannya di Indonesia sangat melimpah.

Jerami padi meskipun berupa limbah namun masih mempunyai kandungan nutrien yang bisa dimanfaatkan oleh ternak. Kandungan Protein Kasar jerami padi sekitar 3 – 4% dari Bahan Kering, selulosa 43%, hemiselulosa 25%, lignin 12% dan abu 16-17% (Preston, 1986), namun pencernaan ensimatis jerami padi hanya sekitar 22% meskipun mempunyai kandungan TDN sebesar 35 – 51% (Jackson, 1978). Hal ini menyebabkan ternak ruminansia yang hanya diberi pakan berupa jerami padi produksinya tidak bisa maksimal. Van Soest (1994) menyatakan bahwa selulosa dan hemiselulosa dalam rumen akan mengalami proses fermentasi yang menghasilkan *volatile fatty acid* (VFA) yang dapat memenuhi 50-60% kebutuhan energi.

Kecernaan jerami padi perlu ditingkatkan dengan melakukan suatu pemrosesan baik dengan menggunakan bahan kimia (hidrolisis basa serta amoniasi) ataupun biologis. Penggunaan bahan kimia membutuhkan biaya yang tinggi serta bisa menimbulkan polusi lingkungan atau keracunan. Pemrosesan secara biologis relatif murah dan keamanannya lebih terjamin. Menurut Warren (1996) mikroorganisme sangat efisien dalam mendegradasi pati, kitin dan polisakarida pada dinding sel tanaman. Hal ini dapat terjadi karena mikroorganisme menghasilkan enzim yang dapat mencerna polisakarida

Penambahan enzim selulase dalam ransum hewan ruminansia dapat meningkatkan pertumbuhan meskipun dalam saluran pencernaan hewan tersebut sebetulnya sudah terdapat mikrobial pencernaan serat kasar (Selinger dkk., 1996). Hino dkk., (2000) juga menyatakan bahwa penambahan enzim selulase dapat memperbaiki pencernaan serat kasar pada sapi potong terutama sapi yang diberi ransum tinggi konsentrat. Penggunaan enzim selulase untuk pengolahan pakan ternak di Indonesia masih tergolong mahal karena enzim ini masih harus diimpor dari beberapa negara, oleh sebab itu perlu dicari sumber mikrobial berasal dari alam yang mampu meningkatkan kecernaan serat kasar pada hewan ruminansia.

Keong emas banyak memakan berbagai macam hijauan pertanian meskipun bukan termasuk hewan ruminansia. Keong menyukai padi berusia muda, yaitu umur 1 - 3 minggu. Tingkat serangannya sangat sporadis, dalam waktu semalam ribuan batang padi bisa habis dikonsumsi (Suara Merdeka, 2004). Keong emas mampu memakan tumbuhan karena dalam saluran pencernaannya terdapat mikrobial yang mampu mencerna bahan yang banyak mengandung serat kasar (Charrier dan Brune, 2003).

Rayap mempunyai kemampuan untuk mencerna kayu. Hal ini disebabkan dalam saluran pencernaan hewan tersebut terdapat mikrobia pencerna selulosa. Rayap tidak dapat mensintesis enzim selulase, namun dalam saluran pencernaannya terdapat protozoa yang mampu mencerna selulosa (Smith, 2004). Aanen dkk., (2002) menyebutkan bahwa hubungan simbiosis pada rayap melibatkan berbagai mikrobia usus yang meliputi protista, Archaea metanogenik dan bakteri. Rayap Macrotermitinae hanya melakukan simbiose dengan jamur *Termytomyces*. Menurut Konig dkk. (2002) rayap bersimbiose dengan berbagai mikrobia yang terdiri dari bakteri, Archae dan Eukariota misalnya protozoa dan ragi untuk mencerna lignoselulosa, sedangkan menurut Breznak dan Brune (1994) pada rayap tingkat rendah (*lower termite*) selulosa dalam saluran pencernaannya akan didegradasi bersama-sama oleh mikrobia berflagela, bakteri dan ragi.

Kemampuan mikrobia dalam saluran pencernaan rayap dalam menghidrolisis selulosa lebih tinggi dibandingkan dengan pada sapi. Dalam waktu 48 jam mikrobia rumen hanya dapat menghidrolisis selulosa sebesar 60-65%, sedangkan mikrobia pada rayap tingkat rendah (*lower termite*) mampu menghidrolisis selulosa kayu lebih dari 90% (Breznak dan Brune, 1994).

Murashima dkk. (2002) menyatakan, untuk mendegradasi kristal selulosa menjadi glukosa dibutuhkan tiga jenis enzim yang bekerja secara sinergis yaitu endoglukanase (endo-1,4- β -glucanase), eksoglukanase/ selobiohidrolase (ekso-1,4- β -glucanase) dan β -glukosidase (selobiase). Tidak semua mikrobia memproduksi ketiga enzim tersebut. Spiridonov dan Wilson (1998) menyebutkan bahwa bakteri tanah *Thermomonospora fusca* menghasilkan enzim endoglukanase dan eksoglukanase,

sedangkan Zaldivar dkk. (2001) menyebutkan bahwa tiga spesies jamur *Trichoderma*, yaitu *T. viride*, *T. reesei* dan *T. harzianum* dapat memproduksi enzim endoglukanase, eksoglukanase dan selobiase.

Jenis enzim yang dihasilkan oleh mikrobial yang berasal dari saluran pencernaan keong emas (*Pomacea canaliculata*) dan rayap (*Macrotermes sp.*) serta kemampuannya dalam mendegradasi selulosa perlu diketahui dengan harapan bisa digunakan sebagai sumber enzim pencernaan selulosa bagi ternak ruminansia.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang ada, maka rumusan masalah yang perlu diungkap adalah :

1. Enzim selulase jenis apa saja yang ada dalam saluran pencernaan keong emas dan rayap ?
2. Bagaimana aktifitas enzim selulase yang ada dalam saluran pencernaan keong emas dan rayap dalam mendegradasi selulosa ?

1.3. Hipotesis

1. Pada saluran pencernaan keong emas dan rayap terdapat 3 macam enzim pendegradasi selulosa.
2. Enzim selulase yang ada dalam saluran pencernaan keong emas dan rayap mempunyai aktifitas yang tinggi dalam mendegradasi selulosa.

BAB 2.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

2.1. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengidentifikasi keberadaan enzim endoglukanase (karboksi metil selulase/ endo-1,4- β -glukanase), eksoglukanase/ selobiohidrolase (ekso-1,4- β -glukanase) dan β -glukosidase (selobiase) pada saluran pencernaan keong emas (*Pomacea canaliculata*) dan rayap (*Macrotermes sp.*).
2. Mengetahui aktifitas enzim selulase asal keong emas dan rayap dalam mendegradasi selulosa secara in-vitro.

2.2. Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini dapat diperoleh informasi tentang jenis enzim selulase yang terdapat pada saluran pencernaan keong emas dan rayap serta kemampuannya dalam mendegradasi selulosa. Adanya ketiga jenis enzim pendegradasi selulosa pada saluran pencernaan keong emas dan rayap, serta diketahuinya kemampuan enzim tersebut dalam mendegradasi selulosa diharapkan nantinya bisa dimanfaatkan untuk memperbaiki pencernaan hewan ruminansia, terutama dalam mendegradasi bahan pakan yang banyak mengandung serat kasar.

Adanya peningkatan dalam pencernaan serat kasar diharapkan mampu meningkatkan produktifitas ternak sehingga keuntungan peternak bisa diperbaiki.

BAB 3

TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Jerami padi

Data Rencana Strategi Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan menunjukkan permintaan daging sapi dan kerbau dari tahun 1998-2001 mengalami peningkatan sebesar 2,5% per-tahun, sedangkan proyeksi tahun 2002-2005 akan mengalami peningkatan sebesar 7,4% per-tahun. Selama ini ketersediaan daging di pasar 93% masih dipasok dari peternak lokal, sedangkan sisanya berasal dari luar negeri (Anonimus, 2002).

Tingkat protein hewani penduduk Indonesia sampai saat ini masih cukup memprihatinkan yaitu sebesar 5 gram per-kapita per-hari yang setara dengan seperlima konsumsi protein hewani Singapura pada tahun 1987. Untuk mencapai target konsumsi protein hewani sebesar 10 gram per-kapita per-hari dibutuhkan waktu sembilan tahun serta peningkatan populasi ternak di Indonesia sebesar 5% dari jumlah yang ada saat ini (Kompas, 2004).

Sapi dan kerbau merupakan hewan ruminansia di samping kambing, domba, antelop, kijang dan sebagainya. Hewan ruminansia berbeda dengan hewan non-ruminansia karena mempunyai kemampuan untuk menggunakan serat kasar sebagai sumber energi (Schneider dan Flatt, 1975). Semua hewan sebetulnya tidak bisa mencerna serat kasar, namun hewan ruminansia mampu memanfaatkan serat kasar karena dalam saluran cernanya terdapat mikrobia pencerna serat kasar (Ensminger dkk., 1990). Mikrobia yang ada dalam saluran pencernaan hewan ruminansia bisa berupa protozoa, bakteri maupun jamur. Ensim yang dihasilkan oleh mikrobia tersebut antara

lain bersifat proteolitik, selulolitik, hemiselulolitik, lipolitik, amilolitik, metanogenik dan sebagainya (Ogimoto dan Imai, 1981).

Peningkatan jumlah ternak akan membutuhkan hijauan pakan ternak dalam jumlah yang besar pula. Komposisi hijauan yang dikonsumsi hewan ruminansia berbeda-beda tergantung spesies hewan, tempat pemeliharaan serta musim. Pada musim penghujan hijauan yang dikonsumsi sapi terdiri dari 79% rumput, 14% dedaunan serta 7% lain-lain, sedangkan pada musim kemarau hijauan yang dikonsumsi bisa terdiri dari 49% rumput, 32% dedaunan serta 19% lain-lain (Nitis, 1994).

Jika jumlah hijauan tidak mencukupi maka dibutuhkan pakan alternatif pengganti hijauan. Salah satu pilihan yang selama ini banyak digunakan para peternak untuk menggantikan hijauan adalah jerami padi. Jerami padi merupakan salah satu limbah pertanian yang keberadaannya berlimpah di seluruh wilayah Indonesia, terutama pada saat musim panen. Selama ini jerami padi hanya digunakan sebagai bahan industri kertas, bahan bakar, media tanam jamur serta sebagian digunakan sebagai pakan ternak ruminansia pada musim kemarau. Penggunaan jerami padi sebagai pakan ruminansia mempunyai keuntungan antara lain jumlahnya yang banyak serta tidak bersaing dengan kebutuhan manusia (Orskov, 1998).

Seperti halnya limbah lainnya, jerami padi mempunyai kelemahan berupa minimnya kandungan protein, mineral, vitamin, karbohidrat tersedia, serta lambat dan rendahnya pencernaan nutrisi. Jerami juga mengandung lignin yang melingkupi dinding selnya sehingga sulit dicerna (Hadjipanayiotou dkk., 1993). Kualitas jerami padi sangat bervariasi, kandungan protein kasar berkisar 2-7% serta ADF (*Acid Detergent Fiber*)

berkisar 41 - 56% berdasar Bahan Kering (Drake dkk., 2002). Variasi ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan, varitas dan penyimpanan (Soejono, 1995).

Doyle dkk., (1986) menyatakan bahwa jerami padi tersusun dari 4,1% Protein Kasar serta 86% dinding sel, sedangkan Komar (1994) menyatakan bahwa dinding sel jerami padi tersusun atas 43,7% selulosa; 27,2% hemiselulosa; 9,8% lignin dan 13% silika. Preston (1986) menyatakan bahwa jerami padi mempunyai kandungan Protein Kasar 3 - 4% dari Bahan Kering, selulosa 43%, hemiselulosa 25%, lignin 12% dan abu 16-17%. Jackson (1978) menyatakan bahwa pencernaan jerami padi hanya sekitar 22% meskipun mempunyai kandungan TDN sebesar 35 - 51%, sedangkan menurut Van Soest (1994) selulosa dan hemiselulosa dalam rumen akan mengalami proses fermentasi yang menghasilkan *volatile fatty acid* (VFA) yang dapat memenuhi 50-60% kebutuhan energi.

Pemrosesan menggunakan bahan kimia maupun biologis diharapkan mampu memperbaiki kelemahan jerami padi. Pemrosesan yang banyak dilakukan selama ini adalah dengan menggunakan hidrolisis basa maupun amoniasi. Jerami padi yang dihidrolisis dengan 3% kapur dan 4% urea menghasilkan pertambahan berat badan lebih tinggi serta konversi pakan lebih rendah dibandingkan dengan jerami tanpa perlakuan (Trach, 2001).

Hidrolisis basa bisa meningkatkan pencernaan hingga 20% namun harganya mahal serta bisa menimbulkan pencemaran lingkungan sedangkan amoniasi meskipun bisa meningkatkan kandungan protein jerami namun peningkatan kecernaannya hanya sebesar 12% (Jackson, 1978). Trach (2001) menyatakan bahwa dosis efektif amoniasi untuk meningkatkan pencernaan jerami padi adalah dengan menggunakan urea sebesar

4%, namun dosis ini terlalu besar bagi kebutuhan ternak ruminansia sehingga kelebihan nitrogennya akan dibuang bersama urin sehingga dosis tersebut dinilai tidak efisien. Penggunaan urea 2% yang ditambah dengan kapur juga dapat meningkatkan jerami padi meskipun dosis urea tersebut masih terlalu tinggi bagi kebutuhan mikrobial rumen. Menurut Trach (1998) proses amoniasi juga semakin mahal seiring meningkatnya harga urea, sedangkan perlakuan secara biologis dengan menggunakan enzim diharapkan mampu mengatasi kesulitan kedua cara tersebut.

Mikroorganisme sangat efisien dalam mendegradasi pati, kitin dan polisakarida pada dinding sel tanaman. Hal ini dapat terjadi karena mikroorganisme menghasilkan enzim yang dapat mencerna polisakarida (Warren, 1996). Enzim selulase yang berasal dari bakteri dan jamur terdiri dari eksoselulase dan endoselulase yang mampu menghidrolisis kristal selulosa (Irwin dkk., 2000). Tiga spesies jamur *Trichoderma*, yaitu *T. viridae*, *T. reesei* dan *T. harzianum* dikenal sebagai jamur yang memproduksi enzim selulolitik ekstrasel yang terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase dan selobiase yang bekerja secara sinergis merombak selulosa menjadi glukosa (Zaldivar dkk., 2001). Ekinci dkk. (2001) menyebutkan bahwa bakteri rumen yang banyak menghidrolisis selulosa antara lain *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* dan *R. albus*.

Penambahan enzim selulase dalam ransum hewan ruminansia dapat meningkatkan pertumbuhan meskipun dalam saluran pencernaan hewan tersebut sebetulnya sudah terdapat mikrobial pencernaan serat kasar (Selinger dkk., 1996). Hino dkk., (2000) menyatakan bahwa penambahan enzim selulase dapat memperbaiki pencernaan serat kasar pada sapi potong terutama sapi yang diberi ransum tinggi konsentrat. Nsereko dkk., (2000) menyebutkan bahwa pemberian enzim pencernaan serat

pada sapi perah dapat meningkatkan jumlah bakteri rumen pencerna hemiselulosa serta jumlah produk sekunder dari pencernaan selulosa. Beauchemin dkk., (2003) menyatakan bahwa pemberian feed additive berupa enzim terutama selulase dan xylanase dapat meningkatkan efisiensi pakan serta penampilan ternak, baik pada sapi perah maupun sapi potong.

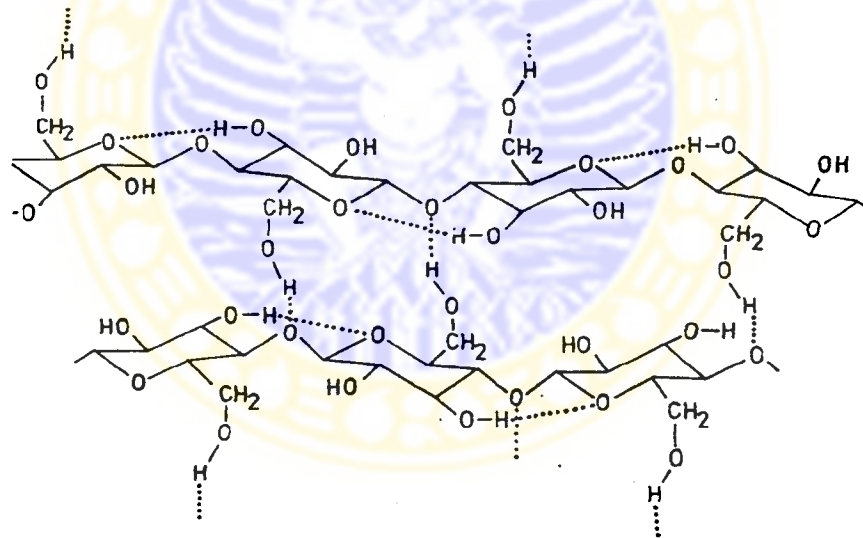
Selinger dkk. (1996) menyatakan bahwa penggunaan enzim selulase komersial sampai saat ini dirasa masih terlalu mahal sehingga penggunaannya dalam jumlah besar masih belum memungkinkan.

3.2. Selulosa

Selulosa merupakan salah satu polimer alam yang jumlahnya sangat melimpah di bumi. Komposisi kimia selulosa sangat sederhana, hanya berupa rangkaian glukosa yang terhubung dengan ikatan β -1,4-glikosida (Murashima dkk., 2002). Setiap molekul selulosa bisa terdiri dari 1.000 sampai 1 juta unit glukosa yang terangkai tanpa cabang. Ada dua tipe ikatan hidrogen pada molekul selulosa yaitu antara C₃OH dengan oksigen pada cincin piranose pada molekul yang sama, serta antara C₆OH pada molekul yang satu dengan oksigen pada ikatan glikosida molekul lainnya (Wang, 2004). Setiap residu glukosa berputar 180° terhadap tetangganya, sehingga struktur sub-unit selulosa berupa selobiosa (Staudenbauer dan Schwarz, 2004). Wang (2004) menyatakan bahwa selulosa pada semua sumber sebetulnya level molekulnya sama, namun berbeda dalam struktur kristal dan ikatannya dengan unsur kimia lain.

Ikatan hidrogen pada selulosa sangat ketat sehingga membentuk kristal. Kristal selulosa yang sangat ketat menyebabkan tidak ada enzim ataupun air yang bisa mendegradasinya kecuali eksoglukanase (Wang, 2004). Murashima dkk. (2002)

menyatakan meskipun rangkaian kristal selulosa sederhana namun tidak ada satupun enzim tunggal yang bisa mendegradasinya. Untuk mendegradasi kristal selulosa menjadi glukosa dibutuhkan tiga enzim yang bekerja secara sinergis yaitu endoglukanase (karboksi metil selulase/ endo-1,4- β -glucanase), eksoglukanase (selobiohidrolase/ ekso-1,4- β -glucanase) dan selobiase (β -glukosidase). Irwin dkk., (2000) menyatakan bahwa di samping endoselulase juga dibutuhkan dua tipe eksoselulase untuk menghidrolisis selulosa secara maksimum. Satu memutus rangkaian selulosa dari kutub non-reduksi, sedangkan yang lain memutus dari kutub reduksi, sedangkan Staudenbauer dan Schwarz (2004) menyatakan bahwa enzim endoglukanase dapat bekerja sendiri untuk mendegradasi selulosa terlarut.



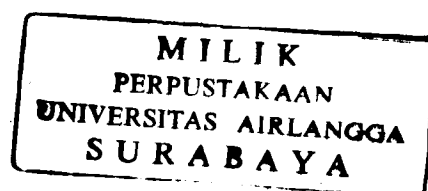
Gambar 3.1 Kristal selulosa (Staudenbauer dan Schwarz, 2004).

Enzim endoglukanase menghidrolisis ikatan 1,4- β pada rangkaian selulosa secara acak menghasilkan selulodekstrin/selulo-oligosakarida (Henrissat dan Bairoch, 1996; Miyamoto, 1997), selobiohidrolase memecah unit glukosil dari kutub non-reduksi pada

rangkaian selulosa menghasilkan selobiosa (Henrissat dan Bairoch, 1996; Miyamoto, 1997), sedangkan β -glukosidase memecah unit glukosil dari kutub non-reduksi dari selulo-oligosakarida (Henrissat dan Bairoch, 1996) dan menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Miyamoto, 1997). Menurut Wang (2004) konversi selulosa menjadi glukosa oleh ensim *Trichoderma viride* melewati dua tahap. Tahap pertama β -1,4-glukanase memecah ikatan glukosidik menjadi selobiosa, ikatan β -1,4-glukosida selanjutnya dipecah oleh β -glukosidase (selobiase) menjadi glukosa. Kim dkk. (1995) menyatakan sulitnya memahami bagaimana proses ensim menghidrolisis selulosa. Hal ini disebabkan kompleksitas serta banyaknya komponen selulase yang terlibat.

Irwin dkk., (2000) menyatakan bahwa bakteri dan jamur banyak menghasilkan eksoselulase dan endoselulase yang berbeda jumlah dan fungsinya dalam menghidrolisis kristal selulosa. Menurut Miyamoto (1997) *Trichoderma* memproduksi endoglukanase dan eksoglukanase dalam jumlah relatif besar, tetapi hanya sedikit memproduksi β -glukosidase, sedangkan *Aspergillus* banyak memproduksi endoglukanase dan β -glukosidase namun hanya sedikit memproduksi eksoglukanase. Spiridonov dan Wilson (1998) menyebutkan bahwa bakteri tanah *Thermomonospora fusca* menghasilkan enam selulase ekstrasel, yaitu empat endoglukanase dan dua eksoglukanase.

Tong dkk. (1980) menyatakan bahwa pada jamur *Thermoascus aurantiacus* terdapat 3 macam selulase dan 1 macam β -glukosidase. Data hasil khromatografi pada Bio-Gel P-60 dan SDS-PAGE mengindikasikan berat molekul β -glukosidase 87.000, sedangkan selulase I, II dan III berturut-turut 78.000, 49.000 dan 34.000. Meskipun ketiga selulase tersebut aktif terhadap kertas saring, namun hanya selulase I dan III saja yang aktif terhadap CMC.



Berat molekul enzim eksoglukanase sebesar 41,8; 43; 46; 46,3; 48,6; 53; dan 65 kDa (Nevell dan Zeronian, 1985), 42 kDa (Berghem dkk., 1975), 57 kDa (Selby, 1969), 60,5 – 62 kDa (Beldman dkk, 1985). Berat molekul enzim endoglukanase sebesar 12,5; 13; 20; 20,5; 26; 28,3; 30; 31; 32; 34; 35; 36,7; 37; 37,5; 48; 49,5; 50; 52; 70; 78 dan 90 kDa (Nevell dan Zeronian, 1985), 52 kDa (Li dkk., 1955), 23,5 – 58 kDa (Beldman dkk, 1985). Berat molekul enzim β -glukosidase sebesar 47; 50; 76; 98; 165; 182 dan 332 kDa (Nevell dan Zeronian, 1985), dan 76 kDa (Beldman dkk, 1985).

Polisakarida pada dinding sel tanaman dapat digunakan oleh hewan sebagai sumber energi oleh aktivitas mikrobial rumen. Selulase dan xylanase merupakan kumpulan enzim yang dihasilkan oleh mikrobial rumen yang mampu menghidrolisis ikatan β -1,4 glikosida pada selulose dan xylan, suatu struktur polisakarida yang banyak terdapat pada tanaman (Ekinci dkk., 2001).

Banyak spesies hewan yang bersimbiosis dengan mikrobial untuk mendegradasi selulosa. Bakteri selulolitik juga bisa didapatkan dari saluran pencernaan cacing pemakan kayu serta rayap (Ljung dan Eriksson, 1985). Nakashima dkk. (2002) menyatakan bahwa pada saluran usus bagian tengah rayap *Coptotermes formosanus* terjadi pencernaan selulosa yang melibatkan enzim endo-1,4- β -glukanase, sedangkan pada usus bagian belakang melibatkan selulase lainnya karena bersimbiosis dengan mikrobial berflagela. Xu dkk., (2000) menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan kupang terdapat enzim endoglukanase dengan berat molekul 20 dan 70 kDa.

3.3. Keong emas dan Rayap

Keong emas (*Pomacea canaliculata*) merupakan keong air tawar dengan ukuran besar berasal dari Amerika Selatan sebagai hiasan akuarium (Baker, 2000). Sekitar tahun 1980 keong tersebut menyebar ke Jepang dan Taiwan untuk dikonsumsi seperti halnya bekicot (Bronson, 2002; dan Kenji, 2003). Lewat campur tangan manusia, keong tersebut dengan cepat tersebar ke Indonesia, Thailand, Kamboja, Hongkong, Cina, Filipina, Hawaii dan kemungkinan juga ke Australia (Bronson, 2002).

Sampai saat ini keong emas menjadi hama yang meresahkan banyak petani padi di banyak negara di Asia, termasuk Taiwan, Jepang, Filipina dan Indonesia (Bidin, 2002). Keong tersebut menyukai padi berusia muda, yaitu umur 1 - 3 minggu. Tingkat serangannya sangat sporadis, bahkan dalam waktu semalam ribuan batang padi bisa habis dikonsumsi (Suara Merdeka, 2004). Serangan ini biasanya terjadi pada malam hari pada persawahan yang ada airnya dengan ketinggian lebih dari 1 sentimeter atau di air yang tergenang. Pengontrolan populasi keong emas sangat sulit dan membutuhkan banyak biaya karena tingkat reproduksinya yang tinggi. Setiap ekor keong emas betina dapat menghasilkan 2.000-3.000 butir telur setiap tahun (Bidin, 2002).

Keong emas mampu memakan tumbuhan karena dalam saluran pencernaannya terdapat mikrobial yang mampu mencerna bahan yang banyak mengandung serat kasar (Charrier dan Brune, 2003). Umezurike (1976) juga menyebutkan bahwa pada saluran pencernaan bekicot terdapat β -glukosidase dengan berat molekul ± 82.000 (C) dan berat molekul ± 41.000 (D).

Rayap merupakan serangga yang keberadaannya dianggap merugikan manusia karena seringkali merusak bangunan yang terbuat dari kayu. Sampai saat ini telah

dikenal lebih dari 2.800 jenis rayap yang terbagi dalam 7 famili, yaitu Mastotermitidae, Kalotermitidae, Termopsidae, Hodotermitidae, Rhynotermitidae, Serritermitidae dan Termitidae. Enam famili pertama disebut *lower termite* yang ditandai dengan adanya protozoa dalam ususnya, sedangkan Termitidae disebut *higher termite* karena dalam ususnya tidak terdapat protozoa (Syaukani dkk., 2001). Ohkuma dkk., (2001) menyebutkan bahwa *higher termite* meskipun hanya berasal dari 1 famili namun menduduki 85% dari seluruh spesies rayap. Rayap famili Termitidae mempunyai pola makan yang berbeda-beda, ada kelompok yang hanya memakan tanah, sedangkan yang lain ada yang menanam jamur dan mengkonsumsinya. Menurut Tarumingkeng (2001) penggolongan jenis-jenis rayap merupakan salah satu misteri golongan insekta karena tingginya tingkat kemiripan antar jenis rayap dalam masing-masing famili.

Tarumingkeng (2001) menyebutkan berdasarkan lokasi sarang utama atau tempat tinggalnya, rayap perusak kayu dapat digolongkan dalam tipe-tipe berikut :

1. Rayap pohon, yaitu jenis-jenis rayap yang menyerang pohon hidup, bersarang dalam pohon dan tidak berhubungan dengan tanah. Contoh rayap jenis ini antara lain: *Neotermes tectonae* (Famili Kalotermitidae).
2. Rayap kayu lembab, yaitu rayap yang menyerang kayu yang sudah mati dan lembab, bersarang dalam kayu dan tidak berhubungan dengan tanah. Contoh rayap jenis ini antara lain: rayap dari Genus *Glyptotermes* (Famili Kalotermitidae).
3. Rayap kayu kering, yaitu rayap yang hidup dalam kayu mati dan telah kering dan tidak berhubungan dengan tanah. Rayap ini umumnya terdapat pada perabot

rumah tangga yang terbuat dari kayu misalnya meja dan kursi. Contoh rayap jenis ini antara lain: *Cryptotermes* (Famili Kalotermitidae).

4. Rayap subteran, yaitu rayap yang hidup dalam tanah yang banyak mengandung kayu yang telah mati dan lapuk, tunggak pohon mati atau masih hidup. Contoh rayap jenis ini antara lain: *Coptotermes* dan *Snedorhynotermes* (Famili Rhynotermitidae)
5. Rayap tanah, yaitu rayap yang hidup dalam tanah terutama dekat dengan bahan organik yang banyak mengandung selulosa misalnya kayu, serasah dan humus. Jenis rayap ini sangat ganas dan dapat menyerang obyek yang berjarak 200 meter dari sarangnya serta dapat menembus tembok setebal beberapa sentimeter. Contoh rayap jenis ini yang banyak di Indonesia antara lain: *Macrotermes*, *Odontotermes* dan *Microtermes* (Famili Termitidae).

Rayap merupakan serangga sosial yang berperan penting dalam dekomposisi bahan-bahan yang kandungan nutriennya rendah, sangat resisten namun keberadaanya di bumi sangat melimpah yaitu selulosa. Sebetulnya rayap tidak menghasilkan enzim selulase, namun dalam saluran pencernaannya terdapat protozoa yang bersimbiose mutualisme (Smith, 2004).

Aanen dkk., (2002) menyebutkan bahwa hubungan simbiosis tersebut berperan dalam evolusi rayap serta melibatkan berbagai mikrobia usus yang meliputi protista, Archaea metanogenik dan bakteri. Meskipun demikian Macrotermitinae yang merupakan subfamily Termitidae hanya melakukan simbiosis mutualisme dengan jamur dari Genus *Termytomyces*. Jamur tersebut membantu rayap untuk mendegradasi material tanaman misalnya kayu, rumput kering dan dedaunan.

Rayap juga merupakan serangga yang penting dalam mencerna lignoselulosa serta bersimbiosis dengan berbagai mikrobia dalam saluran pencernaan bagian belakang yang terdiri dari bakteri, Archae dan Eukariota misalnya protozoa dan ragi (Konig dkk., 2002), sedangkan pada rayap tingkat rendah (*lower termite*) selulosa dalam saluran pencernaannya akan didegradasi bersama-sama oleh mikrobia berflagela, bakteri dan ragi (Breznak dan Brune, 1994).

Russell (2003) menyatakan bahwa rayap *Zootermopsis* yang terdapat pada pohon pinus, dalam saluran pencernaannya terdapat protozoa *Trichonympha* dalam jumlah besar, serta *Streblomastix* dan *Trichomonas*, suatu protozoa yang umum terdapat pada cacing tanah, sedangkan Schafer dkk., (1996) menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan rayap terdapat bakteri Gram positif dari Genus *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Streptomyces* dan kelompok *Actinobacter*, bakteri Gram negatif dari Genus *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Ochrobactrum* dan kelompok *Enterobacteriaceae* serta ragi. Wenzel dkk., (2002) juga menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan rayap *Zootermopsis angusticollis* terdapat bakteri Gram positif dari kelompok Actinomycetes a.l : *Cellulomonas* *Oerskovia*, *Microbacterium* dan *Kocuria* serta bakteri Gram positif dari ordo Bacillales a.l.: Genus *Bacillus*, *Brevibacillus* dan *Paenibacillus*. Bakteri Gram negatif pada rayap jenis ini a.l.: *Flexibacteriaceae Afipia*, *Agrobacterium/Rhizobium*, *Brucella/Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas/Zymomonas* serta *Spirosome*.

Kemampuan rayap dalam menghidrolisis selulosa lebih tinggi dibandingkan dengan sapi. Dalam waktu 48 jam mikrobia rumen hanya dapat menghidrolisis selulosa sebesar 60-65%, sedangkan rayap tingkat rendah mampu menghidrolisis selulosa kayu lebih dari 90% (Breznak dan Brune, 1994).

BAB 4

METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu pra-penelitian yang terdiri dari : pembuatan antibodi antiselulase serta pengujiannya dengan menggunakan *indirect-ELISA*, serta tahap penelitian yang terdiri dari : isolasi enzim selulase, analisis karakterisasi enzim menggunakan uji SDS-PAGE, *Western Blot* atau *Dot Blot*, serta uji aktifitas enzim selulase menggunakan CMC, pNPC dan pNPG.

4.1 Pembuatan Antibodi Antiselulase

Pembuatan antibodi antiselulase dilakukan dengan cara menyuntikkan selulase murni asal *Trichoderma viride* pada kelinci dengan dosis 500 µg/ekor sebanyak 0,5 ml. Penyuntikan dilakukan sebanyak empat kali (1 kali dengan *complete Freund adjuvant* dan 3 kali dengan *incomplete Freund adjuvant*) dengan interval 2 minggu. Dua minggu setelah imunisasi terakhir dilakukan pengujian antibodi antiselulase dengan *indirect-ELISA*, dan bila titernya tinggi segera dilakukan pemanenan. Pembuatan antibodi antiselulase bertujuan untuk *blotting* yang direaksikan dengan gel SDS-PAGE yang telah ditransfer pada membran nitroselulosa.

4.2 Indirect -ELISA

Antigen selulase dengan kadar 5 dan 10 µg/ml dengan pengenceran menggunakan bufer *coating*, dilapiskan pada mikroplat sebanyak 100 µl/sumuran. Mikroplat diinkubasi suhu 4°C selama semalam. Berikutnya mikroplat dicuci dengan bufer *washing* sebanyak 6 kali dan di-*blocking* dengan *creamer* 4%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Pasca inkubasi, mikroplat dicuci kembali dan ditambahkan antibodi antiselulase dari kelinci sebanyak 100 µl/sumuran. Inkubasi

mikroplat pada suhu 37°C selama 1 jam dan dicuci kembali, selanjutnya ditambahkan konjugat *goat anti rabbit* IgG berlabel enzim alkalin fosfatase (1:4.000) sebanyak 100 µl/sumuran dan diinkubasi lagi. Setelah itu dicuci lagi dan ditambahkan substrat p-NPP (1mg/ml) sebanyak 100µl/sumuran. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar pada ruang gelap selama 1 jam dan pembacaan menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm.

4.3 Isolasi Enzim Selulase

Sampel keong emas (*Pomacea canaliculata*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari daerah persawahan di Surabaya, sedangkan sampel rayap (*Macrotermes sp.*) diambil dari tanah pekarangan di Surabaya.

Lima puluh ekor rayap disterilisasi menggunakan ethanol 70%, dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) steril, diambil isi perutnya dengan cara dijepit menggunakan pinset kemudian ditambah dengan 4 ml PBS steril dan divortex selama 10 menit (Li dkk., 2003). Larutan tersebut kemudian disonikasi selama 4 x 5 menit, di sentrifugasi 10.000 rpm selama 4 menit kemudian diambil supernatannya.

Satu ekor keong emas dewasa disterilisasi menggunakan ethanol 70%, dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) steril, diambil isi perutnya dengan cara dibuka cangkangnya, diambil isi ususnya sebanyak 1 gram kemudian ditambah dengan 4 ml PBS steril dan divortex selama 10 menit. Larutan tersebut kemudian disonikasi selama 4 x 5 menit, di sentrifugasi 10.000 rpm selama 4 menit kemudian diambil supernatannya.

4.4 Analisis Karakterisasi Enzim Selulase

Analisis karakterisasi enzim selulase dimaksudkan untuk mengetahui jenis enzim selulase dengan mengetahui berat molekulnya. Untuk mengetahuinya, dilakukan uji

SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulphate polyacrilamide gel electrophoresis*) dan *Western Blot* atau *Dot Blot*.

4.4.1 SDS-PAGE (*Polyacrylamid gel elektrophoresis*)

Larutan gel pemisah 15% dimasukkan pada gel *plate* pada posisi vertikal kemudian di atasnya diberi butanol sampai mengeras. Butanol dibuang dan dibersihkan dengan PBS, dikeringkan dengan kertas whatman. Ditambahkan *stacking gel*, *comb* dimasukkan dan ditunggu sampai betul-betul *set*. Selanjutnya *comb* diambil dan dicuci dengan aquadest kemudian diberi bufer. Sampel yang sudah dicampur dengan bufer lisis I/II dipanaskan 65°C selama 15 menit kemudian 10 µl sampel dimasukkan ke dalam lubang dengan tip 200 µl. Setelah itu *power supply* di-*start* dengan kekuatan 30 mA selama 5 jam. Jika reaksi gel sudah sampai bawah kemudian dimatikan dan *plate* dibuka dan dipisahkan selanjutnya dicuci dengan bufer.

4.4.2 *Western blot*

Protein dari gel ditransfer ke membran nitroselulose (PVDF) dengan cara memotong kertas whatman dan PVDF sesuai dengan besarnya gel. Enam *sheets* kertas absorben pada anoda bufer I, 3 *sheets* pada anoda bufer II dan 6 *sheets* pada katoda bufer. Membran PVDF diinkubasikan pada bufer II selama 5 menit kemudian disusun 6 *sheets* kertas absorben dari katoda bufer. Selanjutnya diberi aliran listrik sebesar 0,8 mA/cm² dari gel. Setelah protein ditransfer, PVDF dicuci dengan aquadest selama 10 menit dan larutan TBS (*Tris Buffer Saline*) selama 10 menit, selanjutnya dilakukan *blotting*. PVDF blot diblok dengan BSA 10% selama 30 menit pada temperatur ruangan kemudian dicuci dengan larutan TBS 2 kali, selanjutnya direaksikan dengan antiselulase kemudian diinkubasikan pada temperatur ruangan selama 1 jam. Setelah dicuci dengan

larutan TBS sebanyak 3 kali direaksikan dengan konjugat alkaline fosfatase dan substrat p-NPP dan diwarnai dengan *western blue*. Akhirnya dikeringkan pada temperatur ruangan. Dari hasil ini kemudian ditentukan berat molekul selulase dan kemudian dilakukan isolasi enzim selulase.

4.4.3 Dot Blot

Kertas nitroselulose (NCM) direndam dalam TBS (0,02 M Tris-HCl; 0,5 M NaCl; pH 7,5) selama 15 menit dan dikeringkan selama 5 menit. Setelah itu ditetesi 2 μ l protein VP2 (1-1000 pg/2 μ l), diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang, kemudian dicuci 3 x 5 menit dengan TBS-Tween (TBS yang mengandung 0,05% Tween-20) dan diblokir selama 60 menit dengan bufer *blocking* (0,9% NaCl; 10 mM Tris-HCl; pH 7,4) yang mengandung 5% *creamer*. Pasca blok, NCM dicuci 3 x 5 menit dengan TBS-Tween, dikeringkan dan ditambah antibodi primer (kelinci) 1:100 dalam TBS-Tween yang mengandung 1% skim milk selama 1 jam sambil digoyang di atas *shaker*. Berikutnya NCM dicuci dengan TBS-Tween 3 x 5 menit dan ditambah antibodi sekunder (konjugat) *goat anti rabbit* 1:1000 selama 1 jam dalam TBS-Tween yang mengandung 1% skim. Setelah itu dicuci 3 x 5 menit dengan TBS-Tween dan dicuci 3 x 5 menit dengan TBS tanpa Tween untuk ditambah substrat *Western blue* sebanyak 25 μ l selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan pencucian dengan aquades dan dikeringkan di udara.

4.5 Uji aktifitas enzim selulase

Untuk mengetahui aktivitas enzim selulase dilakukan beberapa uji aktivitas degradasi terhadap selulosa secara *in-vitro*. Untuk menguji aktivitas enzim endoglukanase digunakan CMC (*carboxyl methyl cellulose*), untuk menguji aktivitas

enzim eksoglukanase digunakan pNPC (*p-nitrophenyl cellobioside*) dan untuk menguji aktivitas enzim β -glukosidase digunakan pNPG (*p-nitrophenol- β -D-glucopiranocide*).

4.5.1 Aktivitas enzim endoglukanase

Deteksi enzim *endo- β -1,4-glucanase* dilakukan dengan cara : protein enzim diteteskan pada gel berisi 0,2 g/l CMC-Na, 100 mmol/L NaCl dan 100 mmol/L bufer asetat pH 5,2. Setelah inkubasi 48 jam, diwarnai dengan 1 g/L *congo red* dan dicuci dengan 1 mol/L NaCl. Aktifitas *endo- β -1,4-glucanase* diukur dari diameter perubahan warna pada gel (Ji dkk., 2003).

4.5.2 Aktivitas enzim eksoglukanase

Untuk mendeteksi aktifitas *exo- β -1,4-glucanase*, protein enzim sebanyak 200 μ L ditambah dengan 800 μ L pNPC 1 mg/ml dalam 50 mM bufer sodium asetat (pH 5,8) kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 45°C. Setelah inkubasi selesai selanjutnya ditambahkan 1 ml sodium karbonat 2%. Pembebasan p-nitrofenol dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm (Han dkk., 1995).

4.5.3 Aktivitas enzim β -glukosidase

Deteksi aktifitas *β -glucocidase* diuji dengan *p-nitrophenol- β -D-glucopiranocide* (pNPG). 1 ml pNPG ditambah dengan 1,8 ml buffer sodium asetat (pH 4,8). Enzim sebanyak 200 μ L ditambahkan kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50°C. Untuk menghentikan reaksi ditambahkan 0,5 M bufer glisin (pH 10,8) sebanyak 3,5 ml. Pembebasan p-nitrofenol dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm (Pereira dkk., 2003).

4.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini ditampilkan secara deskriptif.

BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Produksi Antibodi Poliklonal Antiselulase

Penentuan dosis antigen untuk produksi antibodi antiselulase menggunakan dua macam dosis yaitu 5 dan 10 $\mu\text{g/ml}$, menghasilkan dosis optimum 5 $\mu\text{g/ml}$ seperti tercantum pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Nilai *Optical Density* untuk Pembuatan Antibodi Antiselulase

No. Kelinci	Antigen coating ($\mu\text{g/ml}$)	Nilai OD
1	10	1,274
2		1,253
3		1,242
4 (Kontrol)		0,040
COV : 0,080 PBS : 0,006		
1	5	1,317
2		1,358
3		1,242
COV : 0,088 PBS : 0,007		



Tabel 5.1 menunjukkan pada penggunaan antigen 5 $\mu\text{g/ml}$ menghasilkan nilai *optical density* lebih tinggi (1,242-1,358) dibandingkan dengan jika menggunakan antigen 10 $\mu\text{g/ml}$ (1,242-1,274). Dosis ini selanjutnya digunakan dalam Uji *Indirect* ELISA untuk mengetahui titer antibodi kelinci yang diinjeksi dengan selulase murni asal *Trichoderma viride*.

Respon pembentukan antibodi antiselulase pada kelinci terhadap selulase murni menunjukkan hasil yang baik, terbukti dengan dihasilkannya titer antibodi yang tinggi. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Titer Antibodi Hasil Pengujian Antibodi Antiselulase Kelinci yang Diuji dengan Teknik *Indirect* ELISA

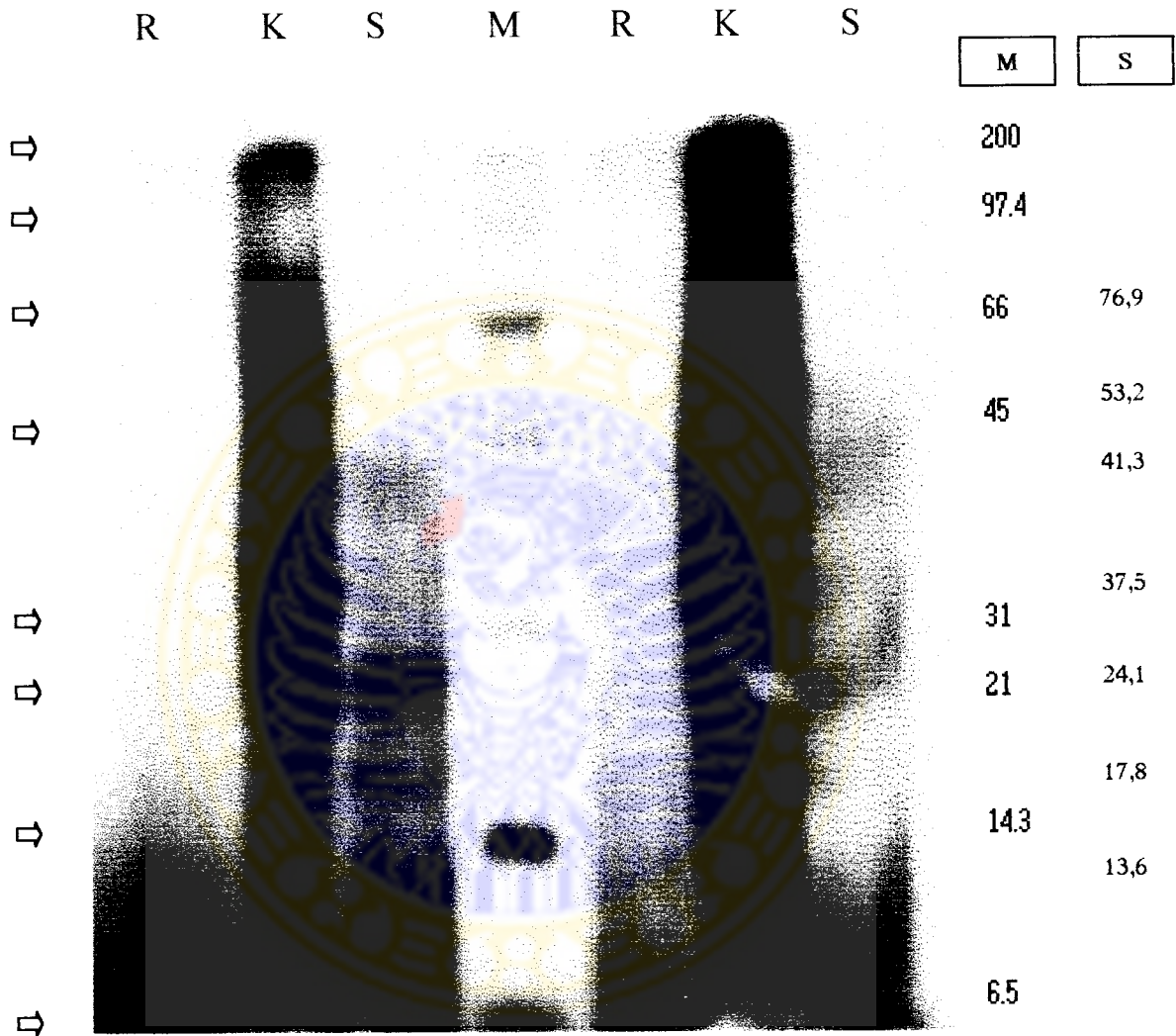
No. Kelinci	Titer antibodi
1	5120
2	5120
3	5120
4 (Kontrol)	0
COV : 0,088 PBS : 0,007	

Tabel 5.2 menunjukkan nilai titer antibodi antiselulase kelinci yang diinjeksi dengan selulase murni dengan dosis 500 µg/ekor sebanyak 0,5 ml. Menurut Harlow dan Lane (1999) dosis optimum enzim untuk aplikasi pada kelinci sebesar 50-1000 µg/ekor, sehingga penggunaan dosis 500 µg/ekor masih dalam kisaran normal. Ketiga ekor kelinci masing-masing dapat menghasilkan titer antibodi 5120, sedangkan pada kelinci kontrol yang hanya diinjeksi dengan PBS menghasilkan titer antibodi 0. Hal ini menunjukkan bahwa selulase yang diinjeksikan merupakan imunogen yang baik sehingga dapat menghasilkan antibodi dengan titer yang tinggi. Protein dengan BM >10 kDa merupakan imunogen yang dapat memicu pembentukan antibodi. Untuk selanjutnya antibodi antiselulase tersebut dapat digunakan untuk tujuan identifikasi enzim selulase dengan teknik *Western Blot* atau *Dot Blot*.

5.2 Karakterisasi Enzim Selulase dengan SDS-PAGE

Berat molekul (BM) enzim selulase pada penelitian ini dikarakterisasi dengan melakukan preparasi protein dengan teknik SDS-PAGE. Hasil preparasi protein terlihat pada Gambar 5.1 yang memperlihatkan pita-pita

protein dari enzim selulase murni, enzim selulase dari saluran pencernaan keong emas dan enzim selulase dari saluran pencernaan rayap.



Gambar 5.1 Hasil Preparasi Protein Enzim Selulase dari Enzim Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap dengan Teknik SDS-PAGE.

Keterangan : R : Rayap; K : Keong; M : Marker dan S : Selulase murni

Enzim selulase murni berturut-turut dari atas ke bawah adalah protein dengan BM 76,9; 53,2; 41,3; 37,5; 24,1; 17,8 dan 13,6 kDa. Pita protein yang

memiliki BM 76,9 kDa adalah enzim β -glukosidase, protein dengan BM 53,2 kDa dan 41,3 kDa adalah enzim eksoglukanase, protein dengan BM 37,5 kDa, 24,1 kDa, dan 13,6 kDa merupakan enzim endoglukanase, sedangkan pita protein dengan BM 17,8 kDa merupakan protein lainnya.

Enzim selulase yang berasal dari saluran pencernaan rayap mempunyai berat molekul berturut-turut 181,6; 78,5; 53,2; 37,5; 32,3; 23,7; 19,7; 13,6 dan 5,7 kDa. Pita protein yang memiliki BM 181,6 kDa diduga merupakan enzim β -glukosidase, protein dengan BM 78,5 kDa, 37,5 kDa; 32,3 kDa; 23,7 kDa 19,7 kDa dan 13,6 kDa diduga merupakan enzim endoglukanase, protein dengan BM 53,2 kDa diduga merupakan enzim eksoglukanase, sedangkan protein dengan BM 5,7 kDa diduga protein dari pakan atau lainnya.

Tabel 5.3 Penggolongan Jenis Enzim Selulase Berdasarkan Berat Molekul (kDa)

Jenis Enzim	Selulase murni	Rayap	Keong emas
β -glukosidase	76,9	181,6	181,6
Eksoglukanase	53,2 41,3	53,2	53,2
Endoglukanase	37,5 24,1 13,6	78,5 37,5 32,3 23,7 19,7 13,6	78,5 37,9 31,7 20,5 13,4

Enzim selulase yang berasal dari saluran pencernaan keong emas mempunyai berat molekul berturut-turut 181,6; 78,5; 53,2; 37,9; 31,7; 20,5 dan 13,4 kDa. Pita protein yang memiliki BM 181,6 kDa diduga merupakan enzim β -glukosidase, protein dengan BM 78,5 kDa, 37,9 kDa, 31,7 kDa; 20,5 dan 13,4 kDa diduga merupakan enzim endoglukanase, sedangkan protein

dengan BM 53,2 kDa diduga merupakan enzim eksoglukanase. Untuk memastikan jenis enzim selulase tersebut, dari hasil SDS-PAGE selanjutnya dilakukan *Western Blot*.

5.3 Karakterisasi Enzim Selulase dengan *Western Blot*

Pada uji menggunakan *Western Blot* terlihat pita-pita protein, namun tidak semuanya terlihat jelas, sehingga tidak bisa digunakan untuk mendeteksi jenis enzim yang tertera pada hasil SDS-PAGE secara menyeluruh.



Gambar 5.2 Karakterisasi Enzim Selulase Menggunakan *Western Blot*

Keterangan : R : Rayap; K : Keong; M : Marker dan S : Selulase murni

Teknik *Western Blot* menunjukkan reaksi spesifik antara pita-pita protein dengan antibodi yang mengenalinya. Hasil preparasi protein enzim selulase murni didapatkan 3 jenis enzim yaitu protein dengan BM 76,9 kDa

adalah enzim β -glukosidase, protein dengan BM 41,3 kDa adalah enzim eksoglukanase, sedangkan protein dengan BM 37,5 dan 24,1 kDa adalah enzim endoglukanase.

Preparasi enzim protein selulase dari saluran pencernaan keong emas didapatkan pita protein dengan BM 53,2 kDa yang merupakan enzim eksoglukanase, sedangkan pita yang lain tidak kelihatan.

Pada penelitian ini masih belum dapat dikarakterisasi enzim selulase tersebut berasal dari mikrobia dari jenis kapang, jamur, bakteri ataupun protozoa karena banyaknya mikrobia penghasil enzim selulase yang hidup dalam saluran pencernaan keong emas ataupun rayap. Dalam saluran pencernaan keong emas terdapat mikrobia yang mampu mencerna serat kasar (Charrier dan Brune, 2003).




Menurut Smith (2004) dalam saluran pencernaan rayap terdapat protozoa, sedangkan Aanen dkk. (2002) menyebutkan bahwa rayap melibatkan berbagai mikrobia usus yang meliputi protista, Archaea metanogenik dan bakteri untuk mencerna serat kasar. Konig dkk. (2002) juga menyebutkan bahwa rayap bersimbiosis dengan bakteri, Archae dan Eukariota misalnya protozoa dan ragi.

5.4 Karakterisasi Enzim Selulase dengan *Dot Blot*

Hasil karakterisasi enzim selulase dengan *Dot Blot* bisa dilihat dari Gambar 5.3 di bawah ini.

Teknik *Dot Blot* menunjukkan reaksi antigen – antibodi. Pada penelitian ini antigen selulase murni, selulase asal saluran pencernaan keong emas dan rayap direaksikan dengan antibodi antiselulase kelinci. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa pada selulase murni dengan kisaran kadar 0,001 – 1 µg/ml dapat dideteksi dengan jelas. Hal yang sama dijumpai pada selulase yang didapat dari saluran pencernaan keong emas maupun rayap yang mengalami perlakuan sonikasi.

No	Antibodi kelinci 1/100			
	Selulase murni	Selulase Rayap	Selulase Keong emas	Kontrol (Bufer)
1				
2				
3				
4				

Gambar 5.3 Hasil Uji Ensim Selulase Menggunakan *Dot Blot*

Keterangan :

No	Selulase murni	Selulase Rayap	Selulase Keong
1	1 µg/µl	20% x 1/25	20% x 1/25
2	0,1 µg/µl	20% x 1/50	20% x 1/50
3	0,01 µg/µl	20% x 1/100	20% x 1/100
4	0,001 µg/µl	20% x 1/200	20% x 1/200

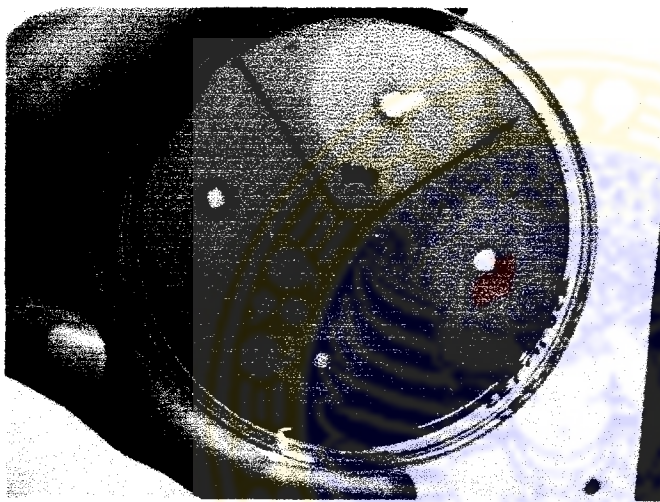
Enzim selulase murni yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *Trichoderma viride*. Zaldivar dkk., (2001) menyatakan bahwa tiga spesies jamur *Trichoderma*, yaitu *T. viride*, *T. reesei* dan *T. harzianum* dikenal sebagai jamur yang memproduksi enzim selulolitik yang terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Adanya reaksi antigen – antibodi pada selulase yang berasal dari keong emas dan rayap menunjukkan bahwa dalam saluran pencernaan keong emas dan rayap terdapat enzim selulase dalam tiga jenis yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase seperti halnya enzim selulase murni.

Enzim selulase bisa berupa eksoselulase (selulase ekstrasel) maupun endoselulase. Enzim eksoselulase disekresi oleh tubuh mikrobia sehingga terdapat dalam keadaan bebas dalam saluran pencernaan hewan, sedangkan endoselulase terdapat dalam tubuh mikrobia dan secara *in-vitro* harus dikeluarkan dengan jalan sonikasi. Enzim selulase ekstrasel terdiri dari endoglukanase dan eksoglukanase (Spiridonov dan Wilson, 1998), sedangkan β -glukosidase merupakan endoselulase. Enzim selulase dapat dihasilkan dari berbagai jenis mikrobia, misalnya bakteri, kapang, jamur ataupun protozoa (Xu dkk., 2000, Steenbakkers dkk., 2001 dan Li dkk., 2003). Miyamoto (1997) menyatakan bahwa jamur *Trichoderma* menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase, sedangkan *Aspergillus* menghasilkan endoglukanase dan β -glukosidase.

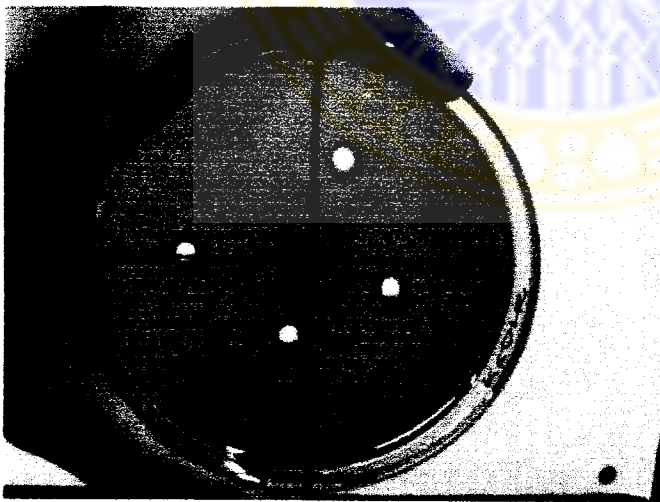
5.5 Pengujian Aktivitas Ensim Selulase

5.5.1 Pengujian Aktivitas Ensim Endoglukanase

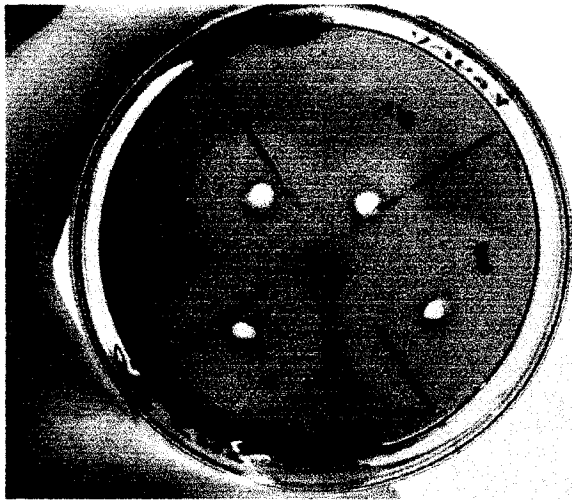
Pengujian aktifitas ensim selulase menggunakan CMC memperlihatkan adanya aktifitas degradasi CMC oleh ensim endoglukanase yang terlihat sebagai bentukan “halo” berupa perubahan warna berbentuk lingkaran, baik pada ensim selulase murni, keong emas maupun rayap.



Gambar 5.4 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Selulase Murni



Gambar 5.5 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Keong Emas



Gambar 5.6 Aktifitas Ensim Endoglukanase asal Rayap

Pengukuran diameter aktifitas degradasi dapat dilihat pada Tabel 5.4 di bawah ini.

Tabel 5.4. Diameter Aktifitas Degradasi Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap pada Gel CMC dengan kadar 0,8 g/l.

Kadar Selulase murni ($\mu\text{g/ml}$)	Diameter zona (cm)	Kadar selulase Keong emas (%)	Diameter zona (cm)	Kadar selulase Rayap (%)	Diameter zona (cm)
100	3,45	20	4.46	20	4.1
10	2,75	2	4	2	3.45
1	1,9	0.2	2.9	0.2	2.8
0.1	1,1	0.02	2.18	0.02	2

Uji aktifitas selulase dengan menggunakan CMC sebagai sumber selulosa digunakan untuk menguji aktifitas endoglukanase. Pada selulase murni dengan kadar 100 $\mu\text{g/ml}$ menghasilkan diameter zona 3,45 cm dan pada kadar 0,1 menghasilkan diameter zona 1,1 cm. Pada ekstraksi saluran pencernaan keong emas dengan kadar 20% didapatkan diameter zona 4,46 cm, sedangkan pada

kadar 0,02% menghasilkan zona sebesar 2,18 cm. Pada rayap dengan kadar yang sama menghasilkan diameter zona sebesar 4,1 dan 2 cm.

Dilihat dari diameter zona yang terbentuk, rata-rata zona degradasi enzim asal keong emas lebih tinggi dibandingkan asal rayap. Hal ini membuktikan bahwa enzim endoglukanase asal saluran pencernaan keong emas mempunyai aktivitas degradasi lebih tinggi dibandingkan dengan enzim endoglukanase asal rayap.

Ekstraksi 20% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap menghasilkan diameter zona yang lebih besar dibandingkan kadar 100 µg/ml selulase standar. Hal ini menunjukkan bahwa kadar selulase dalam larutan 20% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap mengandung enzim endoglukanase yang lebih besar daripada 100 µg/ml enzim selulase murni asal jamur *Trichoderma viride*.

5.5.2 Pengujian Aktivitas Enzim Eksoglukanase

Pengujian aktivitas enzim eksoglukanase dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Data absorbansi tercantum pada Tabel 5.5 di bawah ini.

Pada penelitian ini belum diperoleh p-nitrofenol sebagai material standar untuk mendeteksi jumlah pelepasan p-nitrofenol/menit oleh aktivitas enzim eksoglukanase. Sebagai pembanding pada penelitian ini digunakan enzim selulase murni, sedangkan sebagai larutan standar digunakan PBS.

Tabel 5.5 Pelepasan p-nitrofenol oleh Aktifitas Eksoglukanase dari Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap

Kadar Selulase murni ($\mu\text{g/ml}$)	p-nitrofenol (μmol)	Kadar selulase Keong emas (%)	p-nitrofenol (μmol)	Kadar selulase Rayap (%)	p-nitrofenol (μmol)
100	-	20	-	20	0.841
10	0.066	2	-	2	0.110
1	0.020	0.2	0.324	0.2	0.036
0.1	0.003	0.02	0.033	0.02	0.023

Pada Tabel 5.5 tersebut terlihat bahwa rata-rata nilai absorbansi pada larutan asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan asal rayap, baik pada ekstraksi 0,2% maupun 0,02%. Pada konsentrasi lebih tinggi yaitu 2 dan 20% nilai absorbansi pada larutan asal keong emas sudah tidak terbaca karena melebihi batas maksimal. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim eksoglukanase asal pencernaan keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap.

Ekstraksi 0.2% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap menghasilkan nilai absorbansi yang lebih besar dibandingkan kadar 1 $\mu\text{g/ml}$ selulase standar. Hal ini menunjukkan bahwa dalam 0.2% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap terdapat enzim eksoglukanase yang aktivitasnya lebih tinggi dibandingkan 1 $\mu\text{g/ml}$ enzim selulase murni asal jamur *Trichoderma viride*.

5.5.3 Pengujian Aktivitas Enzim β -glukosidase

Pengujian aktivitas enzim β -glukosidase dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 430 nm. Data absorbansi tercantum pada Tabel 5.6 berikut ini.

Pengujian ini juga membutuhkan p-nitrofenol sebagai material standar untuk mendeteksi jumlah pelepasan p-nitrofenol/menit oleh aktivitas enzim β -glukosidase, namun karena belum diperoleh maka sebagai material standar digunakan PBS, sedangkan sebagai pembanding digunakan enzim selulase murni.

Tabel 5.6 Pelepasan p-nitrofenol oleh Aktifitas β -glukosidase dari Selulase Murni, Keong Emas dan Rayap

Kadar Selulase murni ($\mu\text{g/ml}$)	p-nitrofenol (μmol)	Kadar selulase Keong emas (%)	p-nitrofenol (μmol)	Kadar selulase Rayap (%)	p-nitrofenol (μmol)
100	-	20	-	20	0.569
10	0.277	2	-	2	0.037
1	0.012	0.2	0.346	0.2	0.016
0.1	0.001	0.02	0.031	0.02	0.003

Pada Tabel 5.6 terlihat bahwa rata-rata nilai absorbansi pada larutan asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan asal rayap, baik pada ekstraksi 0,2% maupun 0,02%. Pada konsentrasi lebih tinggi yaitu 2 dan 20% nilai absorbansi pada larutan asal keong emas sudah tidak terbaca karena melebihi batas maksimal, sedangkan asal rayap masih terbaca. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim β -glukosidase asal pencernaan keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap.

Ekstraksi 0.2% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap menghasilkan nilai absorbansi yang lebih besar dibandingkan kadar 1 $\mu\text{g/ml}$ selulase standar. Hal ini menunjukkan bahwa dalam 0.2% isi saluran pencernaan keong emas dan rayap terdapat enzim β -glukosidase yang aktivitasnya lebih tinggi dibandingkan 1 $\mu\text{g/ml}$ enzim selulase murni asal jamur *Trichoderma viride*.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah :

1. Pada saluran pencernaan keong emas dan rayap terdapat tiga jenis enzim selulase yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase.
2. Aktifitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase asal keong emas lebih tinggi dibandingkan dengan enzim asal rayap.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemeriksaan terhadap jenis mikrobia yang terdapat pada saluran pencernaan keong emas dan rayap serta mengetahui jenis enzim masing-masing mikrobia tersebut.
2. Perlu dilakukan perbandingan aktifitas enzim tersebut dengan enzim yang terdapat pada hewan ruminansia serta uji coba penerapan enzim asal keong emas atau rayap terhadap hewan ruminansia.



DAFTAR PUSTAKA

- Aanen, D.K., P. Eggleton, C. Rouland Lefevre, T. Guldberg-Froslev, S. Rosendahl and J.J. Boomsma, 2002. The Evolution of Fungus-growing Termites and Their Mutualistic Fungal Symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99(23): 14887-14892
- Anonimus, 2002. Potensi dan Kapasitas Suplai Agribisnis Sapi Potong. www.bangnak.ditjen.nak.go.id/md02.htm
- Baker, G., 2000. Golden Apple Snail. Earthbeat, Csiro, Canberra.
- Beauchemin, K.A., D. Colombatto, D.P. Morgavit and W.Z. Yang, 2003. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminant. *J. Anim. Sci.* 81(E.Suppl.2): E37-E47
- Berghem, L., L. Pettersson, and U. Axiö-Fredriksson, 1975. The Mechanism of Enzymatic Cellulose Degradation Characterization and Enzymatic Properties of a beta-1,4-Glucan Cellobiohydrolase from *Trichoderma viride*, *Eur J. Biochem* :53-55
- Beldman, G., S. Leeuwen, F. Rombouts and F. Voragen 1985. The Cellulase of *Trichoderma viride*. Purification, Characterization, and Comparison of All Detectable Endoglucanases, Exoglucanases and beta-Glucosidases, *Eur J Biochem* :146-301,
- Bidin, Z., 2002. Use of Rotten Jackfruit to Control Golden Apple Snail. Food and Fertilizer Technology Center.
- Breznak, J.A. and A. Brune, 1994. Role of Microorganisms in the Digestion of Lignocellulose by Termites. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 453-487
- Bronson, C.H., Apple Snail: A Common Aquarium Product. Technical Bulletin 3.
- Charrier, M. and A. Brune, 2003. The Gut Microenvironment of Helicid Snails (Gastropoda: Pulmonata) In-situ Profiles of pH, Oxygen and Hydrogen Determined by Microsensors. *Can. J. Zool.* 81: 928-935
- Drake, D.D., G. Nader and L. Forero, 2002. Feeding Rice Straw to Cattle. ANR Publication 8079. www.anrcatalog.ucdavis.edu
- Doyle, P.T., C. Devendra and G.R. Pearce, 1986. Rice Straw as A Feed for Ruminant. International Development Program of Australian Universities and Cologes Limited (IDP), Canberra.

- Ekinci, M.S., N. Oscan, E. Oskose and H.J. Flint, 2001. A Study on Cellulolytic and Hemicellulolytic Enzymes of Anaerobic Rumen Bacterium *Ruminococcus flavefaciens* Strain 17. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 25: 703-7019
- Ensminger, M.E., J.E. Oldfield and W.W. Heinemann, 1990. *Feeds and Nutrition*. 2nd ed. The Ensminger Publishing Co.
- Hadjipanayiotou, M., L. Verhaeghe, T. Goodchild and B. Shaker, 1993. Ammoniation of Straw Using Urea, Ammonia Gas or Ammonium Hydroxide. *Livestock Research for Rural Development* 5(3).
- Han, S.J., Y.J. Yoo and H.S. Kang, 1995. Characterization of A Bifunctional Cellulase and Its Structural Gene. *JBC Online*, 270(43): 26012-26019
- Harlow, E. and D. Lane, 1988. *Antibodies. A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Lab., New York.
- Henrissat, B. and A. Bairoch, 1996. Updating The Sequence-Based Classification of Glycosyl Hydrolases. *Biochem. J.* 316: 695-696
- Hino, T., T. Miwa, N. Asanuma, K. Shiraishi, H. Kitamura and H. Mizoguchi, 2000. Effect of Addition of Cellulase Preparation on Fiber Digestion in Beef Cattle. *Animal Science Journal*, 71(7): J46-J50.
- Irwin, D.C., S. Zhang and D.B. Wilson, 2000. Cloning, Expression and Characterization of A Family 48 Exocellulase, Cel48A, from *Thermobifida fusca*. *Eur.J.Biochem.* 267: 4988-4997
- Jackson, M.G., 1978. Treating Straw for Animal Feeding. *FAO Animal Production and Health Paper* 10. Food and Agriculture Organisation of The United Nation, Rome.
- Ji, W., D. Ming, L. Yan-Hong, C. Qing-Xi, X. Gen-Jun and Z. Fu-Kun, 2003. Isolation of a Multi-functional Endogenous Cellulase Gene from Mollusc, *Ampullaria crosseana*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 35(10): 941-946
- Kenji, I., 2003. Expansion of Golden Apple Snail, *Pomacea canaliculata* and Features of Its Habitat. *Food and Fertilizer Technology Center*.
- Kim, D.W., Y.K. Jeong, Y.H. Jang, J.K. Lee, K.S. Kim and H.I. Ryu, 1995. Kinetic Mechanism of Cellulose Hydrolysis by Endoglucanase I and Exoglucanase II Purified from *Trichoderma viride*. *Bull. Korean Chem. Soc.* 16: 742-747
- Komar, A., 1994. *Teknologi Pengolahan Jerami Sebagai Makanan Ternak*. Yayasan Dian Grahita.

- Kompas, 2004. Perlu Waktu Sembilan Tahun untuk Menaikkan Konsumsi Protein Hewani Penduduk Indonesia. November 09.
- Konig, H., J. Frohlich, M. Berchtold and M. Wenzel, 2002. Diversity and Microhabitats of The Hindgut Flora of Termites. *Recent Res. Microbil.* 6: 125-156
- Li, L., L. Flora and K. King 1965. Individual Roles of Cellulase Components Derived from *Trichoderma viride*, *Arch Biochem Biophys* 111: 439
- Li, L., J. Frohlich, P. Pfeiffer and H. Konig, 2003. Termite Gut Symbiotic Archaezoa are Becoming Living Metabolic Fossils. *Eukaryotic Cell*, 2(5): 1091-1098.
- Ljung, L.G. and K.E. Eriksson, 1985. Ecology of Microbial Cellulase Degradation. *Adv. Microb. Ecol.* 8: 237-299.
- Miyamoto, K., 1997. Renewable Biological System for Alternative Sustainable Energy Production (FAO Agricultural Service Bulletin – 128). Osaka, Japan.
- Murashima, K., A. Kosugi and R.H. Doy, 2002. Synergistic Effects on Crystalline Cellulose Degradation between Cellulosomal Cellulases from *Clostridium cellulovorans*. *J. Bacteriol.* 184(18): 5088-5095
- Nakashima, K., H. Watanabe, H. Saitoh, G. Tokuda and J.I. Azuma, 2002. Dual Cellulase-digesting System of The Wood-feeding Termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(7): 777-784.
- Nevell, T.P. and S.H. Zeronian, 1985. Cellulose Chemistry and Its Applications. John Wiley & Sons, New York.
- Nitis, I.M., 1994. Forage Production System for Sustainable Environment. In: Sustainable Animal Production and The Environment. Proceedings of the 7th AAP Animal Science Congress held in Bali, Indonesia.
- Nsereko, V.L., K.A. Beauchemin, D.P. Morgavi, L.M. Rode, A.F. Furtado, T.A. McAllister, A.D. Iwaasa, W.Z. Yang and Y. Wang, 2002. Effect of A Fibrolytic Enzyme Preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on The Rumen Microbial Population of Dairy Cows. *Can. J. Microbiol.* 48: 14-20.
- Ogimoto, K. and S. Imai, 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Society Press, Tokyo.
- Ohkuma, M., S. Noda, Y. Hongoh and T. Kudo, 2001. Coevolution of Symbiotic Systems of Termites and Their Gut Microorganisms. *RIKEN Review*, 41.

- Orskov, E.R., 1998. Feed Evaluation With Emphasis on Fibrous Roughages and Fluctuating Supply of Nutrients. A review. *Small. Rum. Res.* 28, 1-8.
- Pereira J.J.A.D; M.J.Correia, and N.T de Oliveira, 2003. Cellulase Activity of A *Lentinula edodes* (Berk) Pegl. Strain Grown In Media Containing Carboximetilcellulose or Microcrystalline Cellulose. *Braz. Arch. of Biol. and Technol.*, 46(3).
- Preston, T.R., 1986. Better Utilization of Crop Residues and By-products in Animal Feeding: Research Guidelines. 2. A Practical Manual for Research Workers. Food and Agriculture Organisation of The United Nation, Rome.
- Russell, B., 2003. Glorius Guts. Biomedica Associates. www.ebiomedica.com/gall/guts/guts1.html
- Schafer, A., R. Konrad, T. Kuhnigk, P. Kampfer, H. Hertel and H. Konig, 1996. Hemicellulose-Degrading Bacteria and Yeasts from The Termite Gut. *Journal of Applied Bacteriology.* 80(5): 471-478.
- Schneider, B.H., and W.P. Flatt, 1975. The Evaluation of Feeds Through Digestibility Experiments. The University of Georgia Press, Athens.
- Selby, K., 1969. The Purification and Properties of the C1-Component of The Cellulase Complex, *Advances in Chemistry, Series No. 95*, R. Gould, Amer. Chem. Soc., Washington, DC, 34,
- Selinger, L.B., C.W. Forsberg and K.J. Cheng, 1996. The Rumen: A Unique Source of Enzymes for Enhancing Livestock Production. *Anaerobe*, 2 (5): 263-284
- Smith, R.L., 2004. Termites. www.desertmuseum.org/nhsd_termites.html
- Soejono, M., 1995. Perubahan Struktur dan Kecernaan Jerami padi Akibat Perlakuan Urea Sebagai Pakan Sapi Potong. Disertasi. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Spiridonov, N.A. and D.B. Wilson, 1998. Regulation of Biosynthesis of Individual Cellulases in *Thermomonospora fusca*. *J. Bacteriol.* 180(14): 3529-3532
- Staudenbauer, W.L. and W.H. Schwarz, 2004. Hydrolysis of Cristalline Cellulose by Bacterial Enzyme Systems. In: *Fachgebiet Mikrobielle Biotechnologie.*
- Steenbakkens, P.J.M., L. Xin-Liang, E.A. Ximenes, J.G. Arts, H. Chen, L.G. Ljungdahl and H.J.M. Op den Camp, 2001. Noncatalytic Docking Domains of Cellulosomes of Anaerobic Fungi. *J.of Bacteriology* 183(18): 5325-5333

- Suara Merdeka, 2004. Keong Emas Menyerang Padi Muda. Jum'at, 16 Januari.
- Sundstol, F and E. Owen, 1984. *Straw and Other Fibrous By-products as Feed*. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Syaukani, A.H. Mahmud dan Mawardinur, 2001. Biologi, Ekologi, Distribusi dan Peranan Berbagai jenis Rayap di Hutan Primer Ketambe Ekosistem Leuser Sumatera. www.dikti.org/p3m/abstrakPID/tema6.pdf
- Tarumingkeng, R.C., 2001. Biologi dan Perilaku Rayap. Hayati_ipb.com/biologi_dan_perilaku_rayap.htm.
- Tong, C.C., A.L. Cole and M.G. Sheperd, 1980. Purification and Properties of The Cellulases from The Thermophilic Fungus *Thermoascus aurantiacus*. *Biochem. J.* 191: 83-94
- Trach, N.X., 1998. The Need for Improved Utilization of Rice Straw as Feed for Ruminants in Vietnam: An Overview. *Livestock Research for Rural Development*. 10(2).
- Trach, N.X., 2001. Treatment and Supplementation of Rice Straw for Ruminant Feeding in Vietnam. Proceeding : Workshop on Improved Utilization of By-products for Animal Feeding in Vietnam - NUFU Project.
- Umezurike, G.M., 1976. The Beta-glukosidase in The Gut Contents of The Snail *Achatina achatina*. *Biochem. J.* 157(2): 381-387.
- Van Soest, P.J., 1994. *The Ruminant*. 2nd ed. Nutritional Ecology of Cornell University Press, Ithaca and London.
- Wang, N.S., 2004. Cellulose Degradation. Biochemical Engineering Laboratory (ENCH 485), University of Maryland.
- Warren, R.A.J., 1996. Microbial Hydrolysis of Polysaccharides. *Annual Review of Microbiology*. 50: 183-212
- Wenzel, M., I. Schonig, M. Berchtold, P. Kampfer and H. Konig, 2002. Aerobic and Facultatif Anaerobic Cellulolytic Bacteria from The Gut of The *Zootermopsis angusticollis*. *Journal of Applied Microbiology*, 92(1): 32-40
- Xu, B., U. Hellman, B. Ersson and J. Jan-Christer, 2000. Purification, Characterization and Amino-acid Sequence Analysis of A Thermostable, Low Molecular Mass Endo- β -1,4-glucanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Eur.J.Biochem.* 267: 4970-4977

Zaldivar, M., J.C. Velasquez, I. Conteras and L.M. Perez, 2001. *Trichoderma aureoviride* 7-121, A Mutant with Enhanced Production of Lytic Enzymes: Its Potential Use in Waste Cellulose Degradation and/or Biocontrol. *EJB Electronic Journal of Biotech.* 4(3).



LAMPYRA

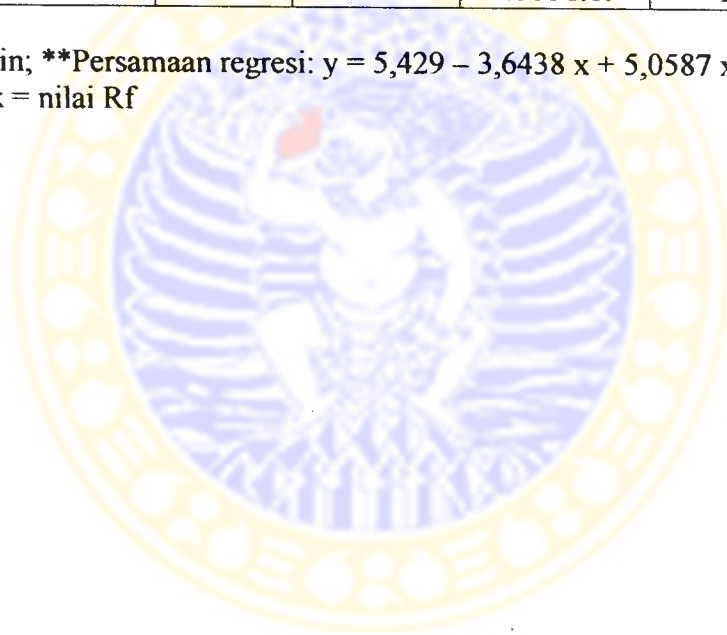


Lampiran 1.

**Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Selulase Murni
dengan teknik SDS-PAGE**

PP* ke	Jarak pada gel (mm)	Nilai Rf	y** Da	Antilog y	BM (kDa)
1	23.5	0.196	4.886	76913.04	76.9
2	34.5	0.288	4.726	53210.83	53.2
3	44.5	0.371	4.616	41304.75	41.3
4	49	0.408	4.574	37497.3	37.5
5	61	0.508	4.478	30060.76	30.1
6	74	0.617	4.382	24099.05	24.1
7	89	0.742	4.250	17782.79	17.8
8	99	0.825	4.132	13551.89	13.6

*PP = Pita protein; **Persamaan regresi: $y = 5,429 - 3,6438 x + 5,0587 x^2 - 3,0872 x^3$,
di mana x = nilai Rf



Lampiran 2.

Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Keong Emas
 dengan teknik SDS-PAGE

PP* ke	Jarak pada gel (mm)	Nilai Rf	y** Da	Antilog y	BM (kDa)
1	6	0.050	5.259	181551.57	181.6
2	23	0.192	4.895	78523.56	78.5
3	34.5	0.288	4.726	53210.83	53.2
4	48.5	0.404	4.579	37931.49	37.9
5	58	0.483	4.501	31695.67	31.7
6	99.5	0.829	4.126	13365.95	13.4

*PP = Pita protein; **Persamaan regresi: $y = 5,429 - 3,6438 x + 5,0587 x^2 - 3,0872 x^3$,
 di mana x = nilai Rf



Lampiran 3.**Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein Selulase asal Rayap dengan teknik SDS-PAGE**

PP* ke	Jarak pada gel (mm)	Nilai Rf	y** Da	Antilog y	BM (kDa)
1	6	0.050	5.259	181551.57	181.6
2	23	0.192	4.895	78523.56	78.5
3	34.5	0.288	4.726	53210.83	53.2
4	49	0.408	4.574	37497.30	37.5
5	57	0.475	4.509	32284.94	32.3
6	75	0.625	4.374	23659.19	23.7
7	84.5	0.704	4.294	19678.86	19.7
8	99	0.825	4.132	13551.89	13.6
9	120	1.000	3.757	5714.78	5.7

*PP = Pita protein; **Persamaan regresi: $y = 5,429 - 3,6438 x + 5,0587 x^2 - 3,0872 x^3$,
di mana x = nilai Rf

Lampiran 4. Judul Penelitian Mahasiswa yang Terlibat dalam Penelitian

Nama	Judul Penelitian
Nugroho Dedy Cahyono	Identifikasi Karakter Enzim Selulase asal Rayap (<i>Macrotermes sp.</i>) Berdasarkan Berat Molekul dan Reaksi Antigen - Antibodi
Dini Sumaiyana	Karakterisasi Enzim Selulase asal Keong Emas (<i>Pomacea canaliculata</i>) Berdasarkan Metode SDS-PAGE dan <i>Dot Blot</i>
Astrid Herastantri	Pengujian Aktifitas Enzim Selulase asal Keong Mas (<i>Pomacea canaliculata</i>) dalam Menghidrolisis Selulosa secara <i>In-vitro</i>
Agustina Desi Irawati	Kemampuan Enzim Selulase asal Rayap (<i>Macrotermes sp.</i>) dalam Mendegradasi Selulosa secara <i>In-vitro</i>



**IDENTIFIKASI KARAKTER ENSIM SELULASE ASAL RAYAP
(*Macrotermes Sp.*) BERDASARKAN BERAT MOLEKUL
DAN REAKSI ANTIGEN - ANTIBODI**

NUGROHO DEDY CAHYONO

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi karakter enzim selulase asal rayap (*Macrotermes Sp.*) berdasarkan berat molekul dan reaksi antigen - antibodi.

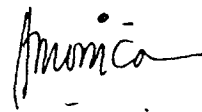
Enzim selulase didapatkan dengan cara mengambil cairan perut rayap kemudian dilakukan sentrifuge untuk memisahkan endapan dan supernatannya. Supernatan dianalisis dengan menggunakan uji SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Electrophoresis*) 15% dengan menggunakan pewarnaan perak nitrat (AgNO_3) untuk mengetahui berat molekul protein. Teknik ini untuk menganalisis enzim selulase berdasarkan berat molekul yang terekspresikan dalam bentuk *band* yang dapat dibaca dengan menggunakan marker standard SDS-PAGE. Untuk mengetahui reaksi antigen-antibodi menggunakan teknik *Dot Blot*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isi saluran pencernaan rayap mengandung tiga macam enzim selulase yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β glukosidase.

Mengetahui,
Komisi Pembimbing,



Arimbi, M. Kes., Drh.
Pembimbing Pertama



Adriana M. Sahidu, M. Kes., Ir.
Pembimbing Kedua

**KARAKTERISASI ENZIM SELULASE ASAL KEONG EMAS
(*Pomacea canaliculata*) BERDASARKAN
METODE SDS-PAGE DAN DOT BLOT**

DINI SUMAIYANA

ABSTRAK

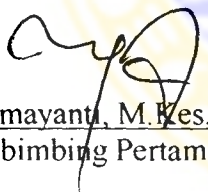
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis Enzim Selulase asal keong emas. Dengan diketahui adanya enzim selulase tersebut diharapkan nantinya dapat digunakan pada ternak untuk mendegradasi selulosa secara cepat.


Isi saluran pencernaan keong emas diambil kemudian ditimbang lalu dimasukkan kedalam larutan PBS steril lalu divortek. Kemudian dilakukan sentrifuge untuk memisahkan dengan supernatnya.

Supernatan dianalisis dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamid gel Elektrophoresis*) 15% dengan pewarnaan perak nitrat untuk memisahkan protein dan mengetahui protein spesifik yang ditunjukkan dengan adanya band / pita. Untuk memastikan adanya enzim selulase digunakan uji Dot Blot.

Dari hasil penelitian diperoleh tiga jenis enzim dalam saluran pencernaan keong emas terdiri dari: *endoglukanase*, *eksoglukanase* dan β -*glukosidase*.

Mengetahui,
Komisi Pembimbing,


Ratna Damayanti, M.Kes., Drh.
Pembimbing Pertama


Adriana M. Sahidu, M.Kes., Ir.
Pembimbing Kedua

**PENGUJIAN AKTIFITAS ENZIM SELULASE ASAL KEONG
MAS (*Pomacea canaliculata*) DALAM MENGHIDROLISIS
SELULOSA SECARA IN-VITRO**

ASTRID HERASTANTRI

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas enzim selulase yang berasal dari saluran pencernaan keong mas dalam menghidrolisis selulosa secara in-vitro. Dengan diketahui aktifitas enzim selulase diharapkan dapat dikembangkan untuk mendapatkan formulasi yang efektif dari enzim selulase sehingga dapat meningkatkan produktifitas ternak.

Satu ekor keong mas (*Pomacea canaliculata*) dewasa yang berasal dari persawahan di Surabaya ditimbang, kemudian dibuka cangkangnya, diambil isi perutnya sebanyak 1 gram ditambah dengan *phosphate buffer saline* (PBS) steril, divortex kemudian disentrifugasi dan diambil supernatannya.

Supernatan tersebut kemudian diuji aktifitasnya menggunakan media *carboxyl methyl cellulose* (CMC), *p-nitrophenyl cellulose* (pNPC), *p-nitrophenol-β-D-glucopiranoside* (pNPG) untuk mengukur aktifitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan β-glukanase yang terkandung di dalamnya.

Hasil penelitian uji aktifitas menunjukkan bahwa larutan 0,02% isi usus keong mas memiliki aktifitas enzim endoglukanase lebih tinggi bila dibandingkan dengan 0,1 µg/L enzim selulase murni dan larutan 0,0002% isi usus keong mas mempunyai aktifitas enzim eksoglukanase dan β-glukanase lebih tinggi daripada 0,1 µg/L enzim selulase murni.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktifitas enzim selulase asal keong mas lebih tinggi dibandingkan enzim selulase murni.

Mengetahui,
Komisi Pembimbing



Herman Setyono, M.S., Drh
Pembimbing Pertama



Dr. M. Zainal Arifin, M.S., Drh
Pembimbing Kedua

**KEMAMPUAN ENZIM SELULASE ASAL RAYAP
(*Macrotermes sp.*) DALAM MENDEGRADASI
SELULOSA SECARA IN-VITRO**

Agustina Desi Irawati

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan selama dua bulan dengan menggunakan materi 50 ekor rayap (*Macrotermes sp.*) yang diambil dari pekarangan di Surabaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas enzim selulase yang berasal dari saluran pencernaan dan untuk mengetahui aktifitas enzim selulase secara *in-vitro*.

Enzim selulase diambil dari saluran pencernaan 50 ekor rayap (*Macrotermes sp.*) yang ditambah dengan PBS steril, divortex, disonikasi kemudian disentrifugasi dan diambil supernatannya. Enzim selulase dari supernatan tersebut kemudian diuji aktifitasnya dengan menggunakan CMC, pNPC dan pNPG untuk mengukur aktifitas masing-masing jenis enzim.

Hasil penelitian uji aktifitas enzim selulase rayap menunjukkan bahwa aktifitas enzim endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase yang berasal dari rayap lebih tinggi daripada enzim murni. Larutan 0,2% isi perut rayap mempunyai aktifitas endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase lebih tinggi daripada 1 μ g/ml enzim selulase murni.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa rayap mengandung enzim selulase yang meliputi endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Aktifitas enzim selulase rayap lebih tinggi dibandingkan enzim murni dan larutan 0,2% isi perut rayap mengandung enzim selulase lebih tinggi dari 1 μ g/ml enzim selulase murni.

Mengetahui,
Komisi Pembimbing



Herry Agoes Hermadi, MSi., Drh
Pembimbing Pertama



Tri Nurhajati, MS., Drh
Pembimbing Kedua