

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Enzim Selulase

Sel hidup mensintesis zat yang bersifat sebagai biokatalisator, yaitu enzim.

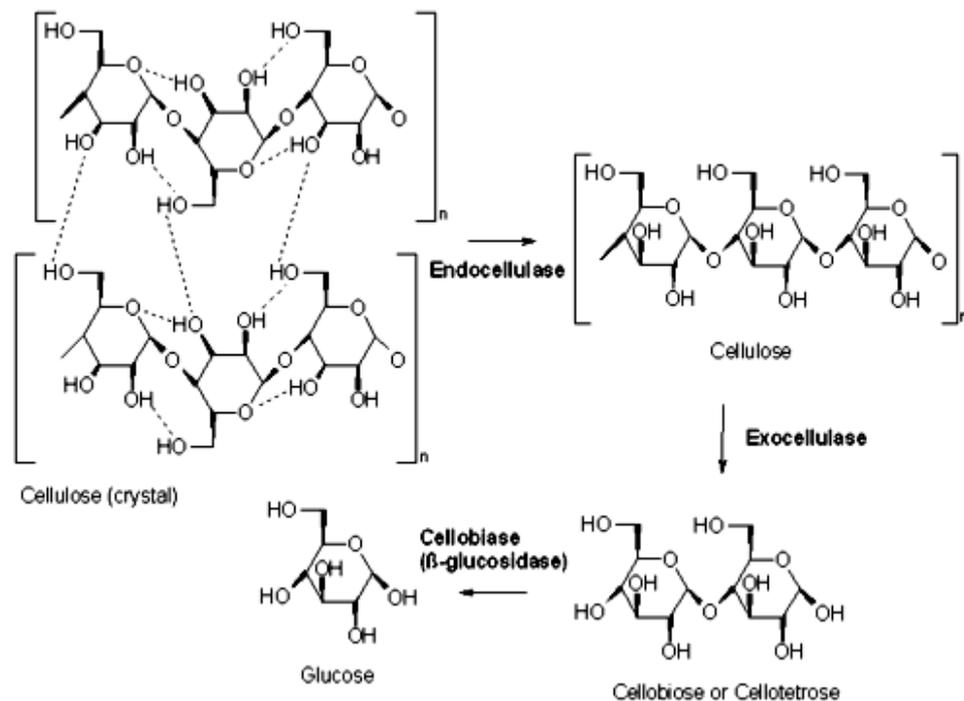
Enzim ini dapat mempercepat proses suatu reaksi tanpa mempengaruhi hasilnya (Mc. Kee, 2003). Selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri atas kompleks endo- β -1,4-glukonase (CMCase, Cx selulase, endoselulase atau *carboxymethyl cellulase*), kompleks ekso- β -1,4-glukonase (aviselase, selobiohidrolase, C1 selulase), dan β -1,4-glukosidase atau selobiase (Crueger *et al.*, 1984).

Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga tipe enzim selulase ini, yaitu :

- Endo-1,4- β -D-glucanase (endoselulase, carboxymethylcellulase atau CMCase), yang mengurai polimer selulosa secara random pada ikatan internal α -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligodekstrin dengan panjang rantai yang bervariasi (Ikram *et al.*, 2005).
- Exo-1,4- β -D-glucanase (selobiohidrolase), yang mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan non pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan/atau glukosa (Ikram *et al.*, 2005).

- β -glucosidase (selobiase), yang mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa (Ikram *et al.*, 2005).

Ketiga enzim tersebut bekerja secara sinergis mendegradasi selulosa dan melepaskan gula reduksi (glukosa) sebagai produk akhirnya. Reaksi pemecahan selulosa menjadi glukosa, selengkapnya disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Proses pemecahan selulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase kompleks (Sixta, 2006).

Enzim selulase menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa (Afsahi *et al.*, 2007). Enzim ini umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti teknologi pangan, tekstil, pakan ternak, kertas, pertanian, dan dalam pengembangan penelitian (Kovács, 2009).

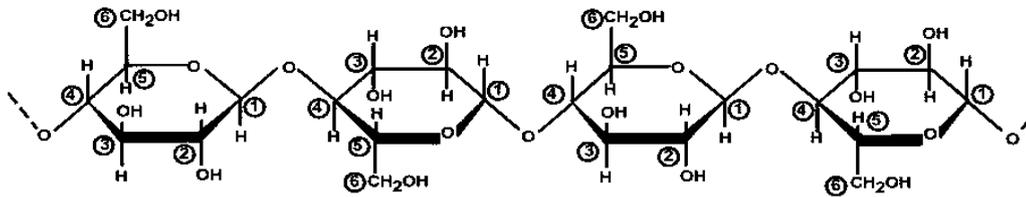
B. Selulosa

Selulosa merupakan polimer lurus dari β -1,4-D-Glukosa (Fessenden, 1992). Biokonversi selulosa menjadi glukosa merupakan proses yang kompleks yang memerlukan selulase dengan beragam aktivitas. Dari sudut pandang industri, produksi enzim selulase yang memiliki beragam aktivitas sangat diperlukan khususnya yang memiliki aktivitas CMC-ase dan avicelase (Ray *et al.*, 2007). Selulosa merupakan biomolekul yang paling banyak ditemukan di alam dan merupakan unsur utama penyusun tumbuhan (Koolman, 2001). Banyak hewan mengkonsumsi tumbuhan yang mengandung selulosa sehingga di dalam pencernaan hewan dibutuhkan bakteri selulolitik yang dapat membantu proses penguraian selulosa menjadi glukosa.

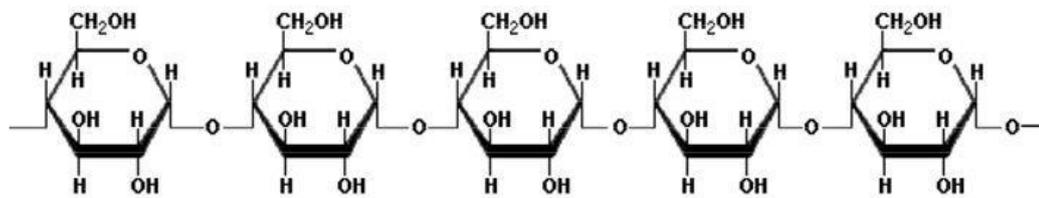
Selulosa adalah suatu homopolimer rantai lurus yang disusun oleh unit β -glukosa, dua molekul β -glukosa digabungkan melalui suatu ikatan 1,4 untuk membentuk β -3-selobiosa. Molekul selulosa adalah polimer sederhana rantai lurus yang terdiri dari 1000-10.000 unit selobiosa yang saling bergabung melalui ikatan 1,4- β -glukosidik. Rumus β -glukosa pada selulosa ditunjukkan pada Gambar 2.

Selain selulosa, polisakarida lain yang memiliki monomer hanya berupa glukosa adalah pati atau amilum. Struktur kimia dari kedua polisakarida ini sangat mirip. Beda amilum dan selulosa yaitu terdapat pada ikatan glikosidiknya, dimana glukosa amilum terikat pada 1,4- α -D-glukosa sedangkan glukosa selulosa terikat pada 1,4- β -D-glukosa. Hal ini menyebabkan amilum dapat dicerna oleh tubuh karena enzim-enzim

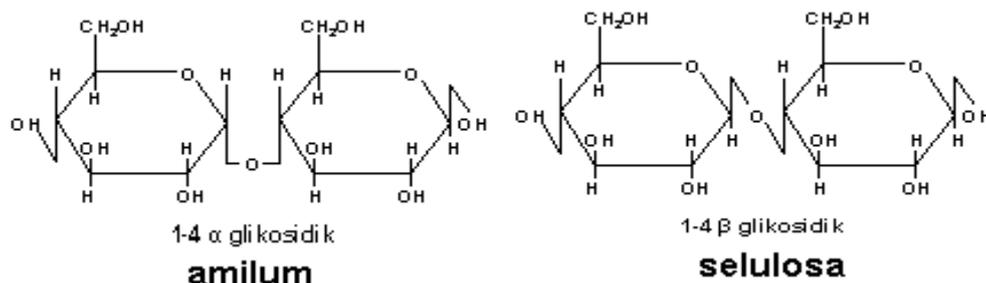
pencernaan tubuh dapat menghidrolisis ikatan α -nya tetapi tidak mampu menghidrolisis ikatan β pada selulosa (Campbell, 2002).



Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa (Koolman *et al.*, 2001).



Gambar 3. Struktur Kimia Amilosa (Fessenden, 2005).



Gambar 4. Perbedaan ikatan glikosidik antara amilum dan selulosa

C. Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh banyak faktor. Beberapa faktor yang mempengaruhi kerja enzim adalah sebagai berikut:

a. Substrat

Enzim mempunyai spesifitas yang tinggi. Enzim hanya mampu berikatan dengan substrat yang memiliki bentuk yang sesuai dengan sisi aktif enzim. Selain itu konsentrasi substrat juga mempengaruhi aktivitas

enzim. Semakin tinggi konsentrasi substrat dapat meningkatkan atau mengurangi kecepatan suatu reaksi enzimatik, jika konsentrasi substrat jumlahnya lebih sedikit daripada jumlah enzim maka peningkatan kandungan substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya kadar substrat sampai suatu titik tertentu. Saat enzim jenuh dengan substrat, penambahan kadar substrat tidak akan berpengaruh pada kecepatan reaksi (Hames & Hooper, 2000).

b. Suhu

Suhu mempengaruhi laju reaksi katalisisenzim dengan dua cara. Pertama, kenaikan suhu akan meningkatkan energi molekul substrat dan pada akhirnya meningkatkan laju reaksi enzim. Peningkatan suhu juga berpengaruh terhadap perubahan konformasi substrat sehingga sisi reaktif substrat mengalami hambatan untuk memasuki sisi aktif enzim dan menyebabkan turunnya aktivitas enzim. Kedua, peningkatan energi termal molekul yang membentuk struktur protein enzim tersebut akan menyebabkan rusaknya interaksi-interaksion kovalen (ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik) yang menjaga struktur 3 dimensi enzim secara bersama-sama sehingga enzim mengalami denaturasi. Denaturasi menyebabkan struktur lipatan enzim membuka pada bagian permukaannya sehingga sisi aktif enzim berubah dan terjadi penurunan aktivitas enzim (Hames & Hooper, 2000).

c. pH (keasaman)

Perubahan pH dapat menyebabkan turunnya aktivitas enzim sehubungan dengan perubahan ionisasi gugus-gugus fungsionalnya. Hal ini terjadi karena pada hakekatnya enzim adalah protein yang tersusun atas asam amino yang dapat melakukan ionisasi yaitu mengikat dan melepaskan proton atau ion hidrogen pada gugus amino, karboksil dan gugus fungsional lainnya. Perubahan pH juga dapat mengakibatkan enzim mengalami denaturasi karena akibat adanya gangguan terhadap gugus ioniknya. Gugus ionik ini berperan penting dalam menjaga konformasi sisi aktif enzim untuk mengikat dan mengubah substrat menjadi produk. Enzim mempunyai aktivitas maksimum pada pH tertentu. Ada enzim yang bekerja maksimum pada kondisi asam, ada juga pada kondisi basa. Namun kebanyakan enzim bekerja maksimum pada pH netral (Hames & Hooper, 2000).

d. Waktu

Waktu kontak/reaksi antara enzim dan substrat menentukan efektivitas kerja enzim. Semakin lama waktu reaksi maka kerja enzim juga akan semakin maksimum.

e. Produk Akhir

Reaksi enzimatik selalu melibatkan 2 hal, yaitu substrat dan produk akhir. Selain substrat, produk akhir juga menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim menurun, hal ini terjadi karena adanya *feed back inhibition* dari glukosa sehingga dapat menghambat aktivitas

enzim selulase. Molekul glukosa sebagai produk akhir dari enzim selulase menempel pada sisi alosterik enzim sehingga sisi aktif enzim selulase tidak dapat lagi ditempati oleh substrat selulosa (Simanjuntak *et al.*, 2010).

D. Mikroorganisme Penghasil Selulase

Enzim selulase dapat diproduksi dari mikroba selulolitik baik kapang maupun bakteri. Kapang selulolitik yang biasa digunakan dari jenis *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Sedangkan bakteri yang pada umumnya menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, dan *Sporosphytophaga* (Lynd *et al.*, 2002).

Beberapa penelitian tentang karakterisasi selulase dari berbagai jenis mikroorganisme sudah dilakukan, dan menunjukkan karakteristik enzim selulase yang berbeda-beda. Perbedaan karakteristik tersebut disebabkan karena sumber isolat dan strain bakteri yang berbeda (Alamet *et al.*, 2013).

Beberapa karakteristik enzim selulase yang sudah diketahui beserta sumber mikrobanya akan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik selulase dari beberapa jenis mikroorganisme

No	Jenis mikroorganisme	Karakterisasi enzim		Akt. Enzim (U/mL)	Sumber karbon	Sumber Nitrogen	Pustaka
		Suhu (⁰ C)	pH				
1	<i>Chryseobacterium</i>	30	5	0,09	CMC		Chasanah Ekowati, 2013
2	Isolat dari Bakteri bekicot <i>Achatina fulica</i>	50	5,2	0,053	CMC		Masfufatun, 2009
3	<i>Bacillus circulans</i>	50	7		CMC		Evi Susanti, 2011
4	Isolat PMP 0126W	30	5	0,128	CMC	NH ₄ NO ₃	Isna Rahma Dini, 2014

5	Isolat OS-16	85	8	0,033	CMC	KNO ₃	Sonia <i>et al.</i> , 2015
6	Kapang Endofit	60	4	0,042	CMC	<i>p</i> -NPG	Oktavia <i>et al.</i> , 2014
7	Bakteri selulolitik pencernaan rayap	28	5	0,0058	CMC	(NH ₄) ₂ SO ₄	Syam, 2008

E. Deskripsi *Bacillus* sp.

Bacillus sp. mempunyai ciri-ciri berbentuk batang yang berukuran 0,3-2,2 x 1,2-7,0 µm, Gram positif, motil, menghasilkan spora, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif. *Bacillus* mempunyai daya resisten terhadap anti mikroba dan dapat menghasilkan antimikroba, sehingga bakteri ini mampu bertahan di dalam saluran pencernaan.

Menurut Whitman (2009) klasifikasi *Bacillus* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Species	: <i>Bacillus</i> sp.

Anggota Genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang berbeda-beda, diantaranya : (1) mampu mendegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar; (2) mampu menghasilkan antibiotik; (3) berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi; (4) pengikat nitrogen; (5) bersifat

khemolitotrof, aerob atau fakultatif anaerob, asidofilik, psikrofilik atau termofilik (Barrow *et al.*, 2003).

Pada umumnya bakteri dari spesies *Bacillus* memiliki beberapa keunggulan sebagai sumber selulase yaitu tidak bersifat patogen, mudah ditumbuhkan, media pertumbuhannya murah dan menghasilkan selulase dengan aktivitas yang tinggi. Beberapa contoh bakteri genus *Bacillus* antara lain *Bacillus circulans* dan *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari usus ikan (Ray *et al.*, 2007), *Bacillus flexus* yang diisolasi dari saluran pencernaan rayap, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, dan *Bacillus cereus* yang ditemukan pada saluran pencernaan ayam (Whitman, 2009).