

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Selulolitik

Sebagian besar bakteri selulolitik berbentuk *coccus* yang memperlihatkan tipe struktur dinding sel Gram-positif dan berbentuk *bacill* yang memperlihatkan tipe struktur dinding sel Gram-negatif (Ogimoto dan Imai, 1981). Struktur dinding sel bakteri memiliki peran khusus dalam integritas selular, bentuk dan stabilitas fisiologis. Sel bakteri Gram-positif mempunyai dinding tebal yang terdiri dari suatu jaringan multilayer peptidoglikan (sekitar 30-70% dari bobot total dinding sel) yang terikat oleh membran bagian dalam. Sel bakteri Gram-negatif mempunyai dinding relatif tipis dari peptidoglikan yang terisi diantara dua membran (<10% dari bobot total dinding sel). Membran luar terdiri dari lipoprotein dan liposakarida. Kedua tipe Gram mempunyai membran bagian dalam dengan tipikal struktur dua lapis protein/lemak dari membran sitoplasmik (Ling, 1990).

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang dapat menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Glukosa tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi dan karbon bagi pertumbuhan organisme ini. Bakteri selulolitik mensintesis seperangkat enzim yang dapat menghidrolisis selulosa. Enzim tersebut adalah enzim

selulase. Mikroba mensintesis enzim selulase selama tumbuh pada media selulosa (Ibrahim dan El-diwany, 2007).

Mikroba yang dapat menghidrolisis selulosa kristal dapat mensekresikan kompleks selulase (Shinmada *et al*, 1994). Selulase dihasilkan karena adanya respon terhadap selulosa pada lingkungannya. Proses ini berlangsung apabila sel bakteri berkontak langsung pada permukaan selulosa (Busto *et al*, 1995). Kemampuan biosintesis selulase dapat dimiliki oleh banyak mikroba (Raza dan shafiq-Ur-Rehman, 2008).

Beberapa bakteri selulolitik yang berhasil diisolasi dari rumen ternak adalah kelompok bakteri dari *Fibrobacter succinogenes*, *Butirivibrio fibrisolens* dan *Ruminococcus albus* (Madigan, 1997; Weimer, 1999), sedangkan dari usus ayam petelur ditemukan kelompok bakteri selulolitik dari *Bacillus laterosporus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* dan *Bacillus alvei* (Sjofjan, 2007). Bakteri ini dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa karena memiliki enzim selulase. Selain itu, bakteri ini menghasilkan suksinat, asetat, format dan butirat.

Secara alami, bakteri mampu menghidrolisis selulosa baik secara anaerob maupun aerob. Bakteri selulolitik dapat mendegradasi senyawa selulosa dan akan menghasilkan air dan karbondioksida pada kondisi aerob, sedangkan pada kondisi anaerob akan menghasilkan molekul hidrogen dan senyawa metan. Bakteri selulolitik anaerob hanya dapat tumbuh pada sumber selulosa dan produk selulolitiknya. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada oligosakarida, monosakarida dan polisakarida yang berasal dari gula lain selain glukosa

(Lynd *et al*, 2002). Bakteri selulolitik aerob dapat menggunakan sumber karbon lain di samping glukosa. Bakteri selulolitik digolongkan menjadi dua berdasarkan akan kebutuhan oksigen, yaitu kelompok bakteri aerob dan anaerob. Bakteri selulolitik aerob meliputi bakteri *Pseudomonas*, *Cellvibrio*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Actinomycetes* (*Streptomyces*, *Microbispora*, *Thermomonospora*) dan *Acidothermus*, sedangkan bakteri selulolitik anaerob meliputi *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Caldocellum*, *Bacteroides* dan *Acetivibrio* (Fogarty dan Kelly, 1990).

Bakteri selulolitik anaerob dapat diklasifikasikan menjadi bakteri mesofil pembentuk spora, bakteri mesofil bukan pembentuk spora dengan bentuk *bacill* atau *coccus* dan bakteri termofil yang menghasilkan spora. Bakteri anaerob banyak ditemukan di alam adalah anggota genus *Clostridium*. Sebagian jenis bakteri anaerob dapat memecah selulosa pada temperatur 60-65°C. Mikroba ini terdistribusi secara luas di alam dan dapat ditemukan dalam intestinum binatang, sungai dan tanah lumpur (Salle, 1974).

B. Probiotik

Fuller (1992) menyatakan bahwa bahan probiotik adalah makanan tambahan (*feed suplement*) berupa jasad hidup yang mempunyai pengaruh menguntungkan bagi ternak induk semangnya. Mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai probiotik antara lain tidak toksik, mampu bertahan pada suasana asam dan cairan empedu, dapat berkoloni dan melakukan kegiatan metabolisme di dalam usus, dapat tumbuh lama dan menghambat mikroba patogen dan dapat hidup pada berbagai kondisi dalam tubuh ternak.

Pernyataan ini kemudian diperbaharui oleh Salminen *et al.* (1999) probiotik yaitu sediaan sel mikroba atau komponen dari sel mikroba yang mempunyai pengaruh menguntungkan pada kesehatan dan kehidupan inangnya.

Menurut Fuller (1991) bakteri probiotik harus memiliki persyaratan yaitu memberikan efek yang menguntungkan pada host, tidak patogenik dan tidak toksik, mengandung sejumlah besar sel hidup, mampu bertahan dalam kondisi yang tidak menguntungkan dan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus, tetap hidup selama dalam penyimpanan sampai waktu digunakan, mempunyai sifat sensori yang baik, diisolasi dari *host*.

Menurut Mujiasih (2001) mikroorganisme yang sering digunakan sebagai probiotik adalah *Bacillus coagulans*, *B. lentis*, *B. pumilus*, *B. brevis*, *B. alvei*, *B. circulans*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. thermopilus*, *Bacteroides amylophilus*, *B. ruminicola*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *Streptococcus oremoris*, *S. faecium*, *S. lactis*, *S. thermophilus*, *Leiconostoc mesenteroides* dan *Pediococcus acidolacticii*. Penggunaan probiotik pada ternak unggas bertujuan untuk memperbaiki saluran pencernaan dengan cara: (1) menekan reaksi pembentukan racun dan metabolit yang bersifat karsinogenik (penyebab kanker), (2) merangsang reaksi enzim yang dapat menetralkan senyawa beracun yang tertelan atau dihasilkan oleh saluran pencernaan, (3) merangsang produksi enzim (enzim selulase, protease dan alfa-amilase) yang digunakan untuk mencerna pakan, (4) memproduksi vitamin dan zat-zat yang tidak terpenuhi oleh tubuh (Seifert dan Gessler 1997). Menurut Sartika *et al.* (1994)

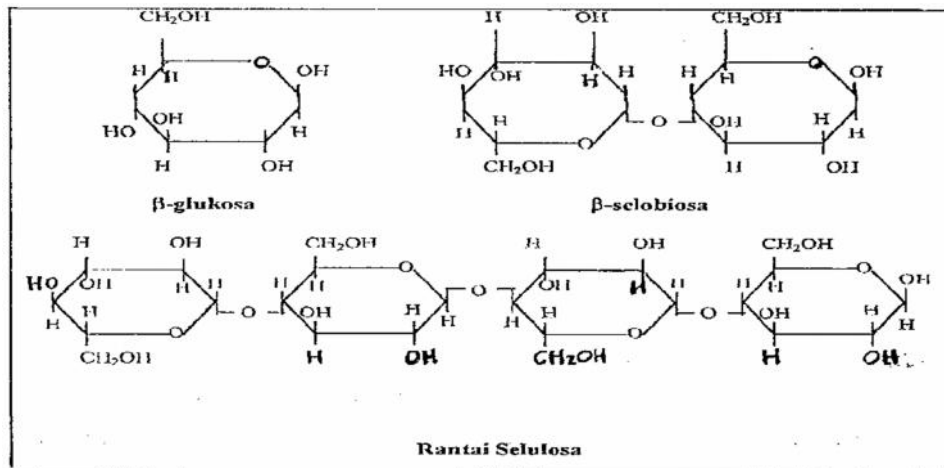
penggunaan probiotik dapat memperbaiki performa ayam broiler meliputi rataan bobot hidup, konversi pakan dan menurunkan mortalitas.

C. Selulosa

Selulosa merupakan komponen struktural tumbuhan yang tidak dapat dicerna oleh manusia dengan rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$. Salah satu jenis polisakarida karbohidrat dari β -glukosa adalah selulosa. Tumbuhan berkayu dan berserat yang sangat melimpah di alam banyak mengandung selulosa. Karbohidrat utama yang disintesis oleh tanaman adalah selulosa dan menempati hampir 60% komponen penyusun struktur tanaman (Salma dan Gunarto, 1999). Ujung polimer (eksoselulase) atau kepingan polimer selulase dapat memecah molekul glukosa menjadi molekul yang lebih kecil melalui pencernaan internal (endoselulase).

Selulosa di alam banyak ditemukan sebagai selulosa natif yang masih berikatan dengan senyawa lainnya seperti lignin dan selulosa. Selulosa dapat dijadikan serbuk bahkan dimurnikan dengan derajat kristalinitas tinggi seperti avisel. Avisel merupakan selulosa mikrokristal yang banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi terutama sebagai pengikat pada proses pembuatan tablet cetak langsung. Avisel bersifat sukar larut dibandingkan dengan serbuk selulosa. 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 -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 (Salle, 1974; Fogarty dan Kelly,

1990). Rumus β -glukosa dan β -selobiosa serta rantai selulosa ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumus kimia β -glukosa, β -selobiosa dan rantai selulosa (Salle, 1974).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis selulosa, yaitu tipe substrat, suhu, waktu, pH, konsentrasi substrat, pemanfaatan enzim kembali dan tipe reaktan, banyak dari faktor-faktor tersebut saling ketergantungan sehingga menjadikan keseluruhan proses benar-benar lengkap (Linko, 1975).

Laju metabolisme selulosa dapat diatur oleh beberapa pengaruh, yaitu lingkungan, karakteristik fisik dan kimia tanah yang bervariasi memiliki kapasitas selulolitik yang berbeda. Faktor lingkungan utama yang mempengaruhi transformasi tersebut, yaitu suhu, aerasi, kelembapan, pH, tingkat kesediaan nitrogen, keberadaan karbohidrat lainnya dan proporsi relatif lignin dalam sisa-sisa tumbuhan (Martin, 1977).

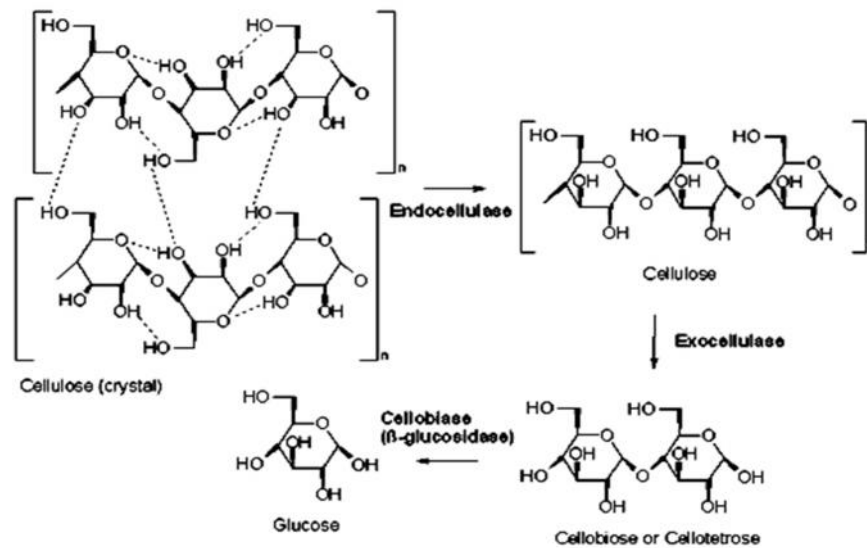
D. Enzim Selulase

Selulase merupakan enzim yang mampu menguraikan selulosa menjadi menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa (Schlecel dan Schmidt, 1994). Struktur selulase terdiri atas satu pusat katalitik, daerah pengikat selulosa dan rantai terglukolisasi. Enzim selulase adalah enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik jika di dalam media hidupnya terdapat selulosa sebagai sumber karbon dan energi (Rahayu, 1991). Selulosa berperan sebagai inducer dalam sintesis selulase yang memiliki dua fungsi, yaitu sebagai inducer pada sintesis enzim dan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel (Gong dan Tsao, 1979).

Enzim selulase merupakan suatu protein yang terdiri dari 434 residu asam amino. Enzim ini memiliki beberapa sisi aktif yang terletak di beberapa bagian pada rantai protein tersebut. Sisi aktif enzim selulase antara lain pada glutamat 212, aspartat 214, glutamat 217, histidin 228, glutamat 295 (Winarno, 1986).

Selulase terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu endo- α -1,4-glukanase, ekso- α -1,4-glukanase dan β -glukosidase. Ketiga komponen enzim ini bekerjasama dalam menghidrolisis selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa (Schlecel dan Schmidt, 1994).

Mekanisme kerja enzim selulase dimulai dari proses hidrolisis selulosa yang terdiri dari tiga tahap yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme kerja enzim selulase (Whithers, 1995).

Mekanisme di atas adalah proses hidrolisis selulosa oleh bakteri yang dilakukan dengan bantuan enzim ekstraseluler, yaitu endo -1,4-glukanase, ekso -1,4-glukanase dan -glukosidase. Enzim endo -1,4-glukanase menghidrolisis polimer secara acak dan menghasilkan molekul selulosa sederhana. Selulosa sederhana atau dua subunit glukosa dihidrolisis oleh ekso -1,4-glukanase pada bagian ujung sehingga menghasilkan selobiosa disakarida. Selanjutnya selobiosa dihidrolisis oleh enzim -glukosidase menjadi glukosa. Enzim mempunyai kekhasan dalam mengenali dan mengikat substrat, karena enzim mempunyai sisi aktif yang digunakan untuk mengikat substrat, sisi aktif enzim yang dimiliki sangat spesifik. Enzim selulase mempunyai gugus aktif -COOH yang merupakan gugus aktif dari asam amino jenis asam aspartat (Whithers, 1995).

Enzim merupakan protein yang terdapat di dalam sel hidup sehingga diperlukan kondisi tertentu agar enzim dapat aktif. Faktor-faktor yang

mempengaruhi aktivitas enzim, yaitu suhu, pH, sinar ultraviolet, konsentrasi substrat dan enzim, senyawa pengaktif (*activator*) dan senyawa penghambat (*inhibitor*) (Salle, 1974).

Suhu dapat mempengaruhi terhadap aktivitas enzim, pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Enzim dapat berfungsi dengan baik sebagai katalisator pada suhu optimum, jika suhu menyimpang dari suhu optimum maka aktivitas enzim akan menurun (Hastowo dan Lay, 1994). Kecepatan reaksi suatu enzim seiring dengan peningkatan suhu. Suhu memiliki dua pengaruh yang saling berlawanan terhadap aktivitas enzim, yaitu meningkatnya suhu akan meningkatkan aktivitas enzim tetapi sebaliknya juga mendenaturasi enzim (Martoharsono, 1993). Menurunnya aktivitas mengikuti meningkatnya suhu di atas optimum biasanya disebabkan oleh kerusakan enzim. Sebagian besar enzim mempunyai aktivitas optimum pada suhu antara 30°C dan 40°C (Volk dan Wheeler, 1988).

Shabib (1992) menyatakan bahwa peningkatan suhu di atas suhu optimum menyebabkan rusaknya enzim karena enzim mengalami denaturasi.

Kecepatan reaksi enzim sangat ditentukan oleh perubahan suhu. Sensitifitas enzim terhadap perubahan suhu ini dikenal dengan kestabilan enzim atau kestabilan panas (*heat stability*). Kestabilan panas berarti sampai berapa derajat pengaruh suhu tersebut terhadap kestabilan enzim (Zey, 1996). Suhu rendah dapat menyebabkan laju aktifitas enzim sangat lambat tetapi pada suhu tinggi laju aktifitas enzim sangat cepat sehingga reaksi enzimatik praktis berhenti sama sekali.

Perbedaan sumber enzim menyebabkan perbedaan daya tahan panas. Istilah yang digunakan untuk menyatakan pengaruh suhu terhadap laju reaksi enzim adalah koefisien suhu (Q_{10}) yang biasanya bernilai sekitar 2,0. Hal ini berarti bahwa laju reaksi akan mencapai dua kali lipat untuk peningkatan suhu 10°C sampai denaturasi terjadi (Martoharsono, 1993). Setiap enzim mempunyai suhu optimum, maksimum dan minimum (Salle, 1974). Karakteristik suhu tersebut dipengaruhi oleh sejumlah faktor seperti misalnya konsentrasi enzim, sifat dasar dan konsentrasi substrat, pH dan keberadaan senyawa pengaktif dan penghambat. Pada umumnya enzim memiliki aktifitas optimum pada suhu optimum yang sama dengan suhu optimum untuk pertumbuhan sel bakteri (Rodwell, 1985).

Enzim merupakan protein yang tersusun atas asam amino, oleh karena itu pengaruh pH berhubungan erat dengan sifat asam-basa yang dimiliki oleh protein. Umumnya enzim menunjukkan titik optimum aktifitas pada pH tertentu (Martoharsono, 1993). Volk dan Wheeler (1988) menyatakan bahwa konsentrasi ion hidrogen, yaitu keasaman atau kebasaan larutan sangat mempengaruhi aktifitas suatu enzim. Hal ini disebabkan karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim harus berada dalam keadaan ionisasi yang tepat agar menjadi aktif. Setiap enzim memiliki pH maksimum, optimum dan minimum. Nilai-nilai pH tersebut bervariasi dengan suhu, tipe dan konsentrasi substrat, tipe larutan penyangga (*buffer*), ada atau tidak adanya senyawa penghambat atau pengaktif dan waktu yang dibutuhkan enzim tersebut untuk bekerja (Salle, 1974).

Efek sinar ultraviolet salah satunya adalah merusak dan memodifikasi kerja enzim. Kecepatan perusakan itu secara praktis tidak tergantung pada suhu tetapi dipengaruhi oleh pH dan kondisi lingkungan yang lain. Enzim yang murni lebih mudah rusak oleh sinar ultraviolet daripada enzim yang sama dalam preparasi yang kurang murni. Enzim, seperti halnya bakteri dan sel hidup lainnya paling sensitif pada panjang gelombang yang sama dari sinar UV, yaitu di sekitar 2650 Å (Salle, 1974).

Menurut Salle (1974), semakin tinggi konsentrasi substrat mungkin dapat meningkatkan atau mengurangi kecepatan suatu reaksi enzimatik, jika konsentrasi substrat jumlahnya lebih sedikit daripada jumlah enzim maka suatu peningkatan kandungan substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya kadar substrat sampai suatu titik tertentu. Sekali enzim jenuh dengan substrat, penambahan kadar substrat tidak akan berpengaruh pada kecepatan reaksi. Makin rendah kadar substrat yang akan menghasilkan aktivitas maksimum, yaitu menjenuhkan enzim maka makin besar hubungan yang dimiliki enzim dengan substratnya (Volk dan Wheeler, 1988).

Beberapa substansi yang dapat memulihkan aktivitas enzim disebut dengan aktifator, sedangkan substansi lain yang dapat menghambat aktivitas enzim disebut dengan inhibitor. Substansi-substansi tersebut mungkin salah satunya bersifat spesifik atau non-spesifik, yaitu meliputi senyawa asam, logam berat, senyawa alkali atau basa (Salle, 1974).