

# PENGARUH SUHU DAN pH TERHADAP HIDROLISIS CMC OLEH ENZIM SELULASE DARI ISOLAT BAKTERI LARVA KUPU-KUPU *COSSUS COSSUS*

Maswati Baharuddin<sup>1</sup>, Abd. Rauf Patong<sup>2</sup>, Ahyar Ahmad<sup>2</sup>, Nursiah La nafie<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dosen Jurusan Kimia Fak. Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar

<sup>2</sup>Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin

Email: bmaswati@gmail.com

**Abstract:** *Cellulase enzymes can be isolated from microorganisms that are resistant to high pH and temperature. Cellulase enzyme has a different character depending on the source and the enzyme environment. This study aimed to characterize the cellulase enzymes from bacteria isolates CC2 dan CC4 which includes the determination of the optimum pH and temperature of the enzyme activity. In this study, an enzyme produced from isolates of bacteria larva Cossus cossus by centrifugation cold 4 ° C with a speed of 3000 rpm for 15 min to obtain a crude extract of the enzyme cellulase. Determination of pH performed using citrat acid buffer (3; 3,6; 4; 4,6; 5;5, dan 5) and phosphate buffer with pH variation (6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0), while for the determination of done an optimum temperature variations in temperature (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90) ° C enzyme activity were further tested using the Nelson-Samogy measured on a UV-Vis spektrofotometer at a wavelength of 545 nm. Result showed greatest activity isolat CC2 at pH 7,5 enzyme cellulase activity of  $15,8806 \times 10^{-4} \text{ U / mL}$  while the optimum temperature of 70 ° C with the activity obtained at  $19,4121 \times 10^{-4} \text{ U / mL}$ . Greatest activity isolat CC4 at pH 4 enzyme cellulase activity of  $15,4069 \times 10^{-4} \text{ U / mL}$  while the optimum temperature of 70 ° C with the activity obtained at  $20,3487 \times 10^{-4} \text{ U / mL}$*

**Key words:** *Cossus cossus, Cellulase, pH, Temperature.*

## I. PENDAHULUAN

**M**ikroorganisme selulolitik dari kelompok bakteri memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk produksi enzim lebih pendek. Selain itu, tingkat variasi genetik kelompok bakteri sangat beragam sehingga memungkinkan dilakukan rekayasa genetik untuk optimasi produksi maupun aktivitas selulasenya.

Mikroorganisme mempunyai masa pertumbuhan yang bervariasi dimana dalam aktivitas metabolisme tersebut mikroorganisme memiliki beberapa fase dalam pertumbuhannya. Pada awal pertumbuhan fase yang dilalui adalah fase pertumbuhan kemudian aktivitas metabolisme akan menurun setelah mikroorganisme melewati fase puncak pertumbuhannya, fase penurunan ini disebut *death phase*. Fase-fase pertumbuhan tersebut sangat berpengaruh terhadap enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk membantu pencernaan makanannya. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH dan ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Bakteri selulolitik menghasilkan enzim secara induktif, yaitu enzim yang dihasilkan karena adanya induktor dari senyawa kimia tertentu dalam media produksinya. Salah satu contoh enzim induktif yaitu enzim yang dihasilkan karena di dalam media pertumbuhan hanya ada selulosa sebagai satu-satunya sumber karbon, maka untuk mempertahankan hidupnya mikroorganisme tersebut harus menghasilkan selulase agar dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Glukosa merupakan gula sederhana yang dapat langsung digunakan tanpa harus didegradasi terlebih dahulu sebagai sumber karbon untuk memasuki jalur glikolisis dalam proses metabolismenya. Akibatnya pembelahan sel berlangsung dengan cepat dan jumlah sel bertambah banyak sehingga konsentrasi enzim yang dihasilkan akan meningkat dan aktivitas enzim yang dihasilkan juga akan semakin besar.

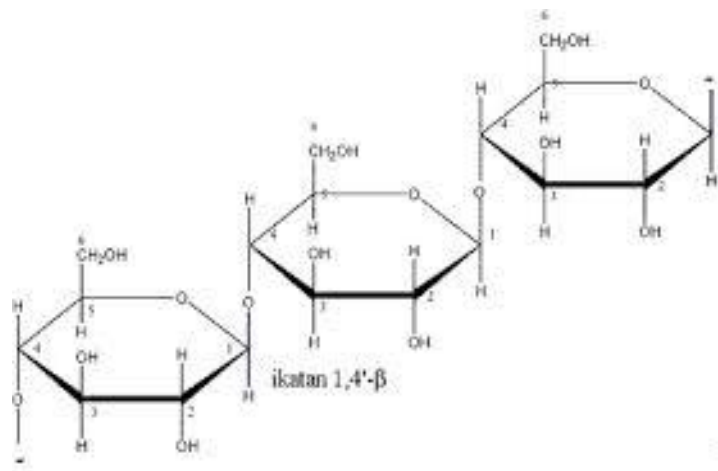
Telur *Cossus cossus* disisipkan diantara celah-celah kulit kayu dimana perkembangan embrio telur berlangsung selama 12 sampai 15 hari. Larva *Cossidae* memiliki karakteristik yang mencerminkan cara hidup mereka, mengebor pada kayu dan batang. Kepala besar, lebih panjang dan lebar dengan rahang besar. *Prothorax* berbentuk seperti plat yang khas atau perisai yang memiliki ekor margin halus pada *Cossus* (Southdene Sdn,1986 : 11 ).



Gambar 1. Siklus hidup *Coccus coccus*

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang memiliki kemampuan menguraikan selulosa menjadi monomer glukosa dan menjadikannya sebagai sumber karbon dan sumber energi. Pemanfaatan bakteri selulolitik yaitu sebagai penghasil enzim selulase yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa. Setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase berbeda, tergantung gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Pemanfaatan bakteri sebagai penghasil enzim dipilih karena mempunyai beberapa keuntungan antara lain: biaya produksi murah, dapat diproduksi dalam waktu singkat, mempunyai kecepatan tumbuh tinggi serta mudah dikontrol (Dyah dkk, 2012: 34-45).

Mikroorganisme selulolitik adalah mikroorganisme penghasil selulase, selulase merupakan kelompok enzim yang mampu memutus ikatan  $\beta$ -1,4 glukosidik dalam molekul selulosa, selodekstrin, selobiosa dan turunan selulosa lainnya. Selulosa merupakan biomolekul yang paling banyak ditemukan di alam dan merupakan unsur utama penyusun kerangka tumbuhan. Hidrolisis selulosa dialam berlangsung sangat lambat, hal ini disebabkan karena selulosa mempunyai struktur yang rapat pada bagian kristalin selulosa resisten terhadap aksi individual selulase (Faisal, 2013). Kristalinitas selulosa merupakan faktor utama yang menentukan biodegradabilitas selulosa oleh enzim selulolitik sehingga mikroorganisme yang memiliki kemampuan menghidrolisis Kristal yang tinggi berpotensi untuk menghidrolisis selulosa yang terdapat di alam.



Gambar 2. Struktur Selulosa

Hidrolisis selulosa secara enzimatis dengan enzim selulase akan menguraikan selulosa menjadi bentuk yang sederhana antara lain selobiosa dan

glukosa. Kompleks selulase digunakan secara komersial dalam pengolahan kopi, industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas bahkan kadang-kadang digunakan dalam industri farmasi. Mikroba selulolitik adalah mikroba yang mempunyai enzim untuk menghidrolisis selulosa dan kristalin selulosa. Ada tiga enzim selulase yang berperan dalam hidrolisis, yaitu (1) endo-1,4- $\beta$ -D-glukanase yang bekerja secara acak sepanjang rantai selulosa menghasilkan situs baru untuk selobiohidrolase, (2) ekso-1,4- $\beta$ -D-glukan yang bekerja sebagai eksoglukanase melepas selobiosa sebagai produk utama, dan (3) 1,4- $\beta$ -D-glukosidase yang menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.

## **II. METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. Produksi Enzim**

Isolat enzim selulase diperoleh dari larva *Cossus cossus*. Selanjutnya dua isolat terpilih (Isolat CC2 dan CC4) diproduksi untuk karakterisasi suhu dan pH. Produksi enzim dilakukan dengan cara menuangkan 10 mL biakan bakteri (stok inokulum) pada media produksi yang telah disterilisasi terlebih dahulu dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 48 jam dengan kecepatan 180 rpm. Untuk memperoleh supernatan enzim dilakukan sentrifugasi dingin dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. (Emy Fitriani, 2003)

### **B. Karakterisasi enzim selulase**

#### **1. pH Optimum**

pH optimum ditentukan dengan cara menyediakan 7 tabung reaksi yang berisi 1 mL larutan CMC 1%, kemudian ditambahkan 1 mL buffer dengan pH berbeda (buffer fosfat pH 6,0; 6,5; 7,00; 7,5 dan 8,0 serta buffer asam borat-borax pH 8,6 dan 9,0). Kedalam masing-masing tabung ditambahkan 1 mL ekstrak kasar enzim selulase, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan pemanasan selama 20 menit pada penangas air mendidih. Kadar Gula reduksi ditentukan menggunakan metode Nelson-Semogy.

#### **2. Suhu Optimum**

Suhu optimum ditentukan dengan cara menyediakan 5 buah tabung reaksi yang berisi 1 ml CMC 1% dan 1 mL larutan buffer pH optimum kemudian ditambahkan 1 ml ekstrak kasar enzim selulase. Campuran diinkubasi pada suhu

berbeda (30°C, 40°C, 50°C, 60°C, dan 70°C) selama 1 jam. Setiap campuran dalam tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 20 menit. Kadar Gula reduksi dalam hidrolisat ditentukan dengan menggunakan metode Nelson-Samogy. (Masfufatun, 2012)

### C. Pengukuran aktivitas enzim selulase

Pada pengukuran aktivitas enzim diawali dengan Pembuatan larutan standar. Pembuatan larutan standar glukosa diawali dengan membuat larutan induk glukosa 1000 ppm yang dibuat dengan cara menimbang 0,01 gram glukosa kemudian dilarutkan dengan aquades sampai volume 10 mL. larutan induk kemudian diencerkan hingga diperoleh konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm) dalam 10 mL.

Larutan standar yang telah disiapkan (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm) serta blanko dipipet 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda, ditambahkan 1 mL reagen Nelson dan dikocok. Setiap tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 20 menit lalu didinginkan kemudian ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolybdat. Campuran dikocok hingga homogen lalu ditambahkan 7 mL aquades, dikocok kembali sebelum diukur pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Perlakuan yang sama dilakukan pada sampel (variasi pH dan suhu). Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan 1 µmol glukosa per menit (U/mL).

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{[\text{glukosa}]}{M_{\text{rglukosa}}} \times \frac{F_p}{V_{\text{enzim}}} \times \frac{V_{\text{substrat}}}{t}$$

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas CMC-ase dilakukan dengan mengukur gula pereduksi yang dihasilkan selama proses hidrolisis substrat oleh enzim. Salah satu tujuan pengukuran aktivitas enzim dalam studi mikrobiologi yaitu untuk menyeleksi strain mikroba yang dapat menghasilkan enzim dengan aktivitas tertinggi dalam menghidrolisis substratnya (Dewi, 2003). Aktivitas enzim ditentukan dengan mengukur ekstrak kasar enzim menggunakan metode Nelsom Samogy. Metode Nelsom Samogy merupakan metode yang digunakan dalam penentuan kadar glukosa sebagai gula pereduksi hasil aktivitas enzim selulase.

Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi tembaga (II) menjadi tembaga (I) dalam larutan yang mengandung K-Na tartrat, kemudian penambahan reagen arsenomolibdat menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis. (Musfufatun, 2012).

Pencampuran sampel dengan pereaksi Nelson, dilakukan pemanasan selama 20 menit untuk mempercepat reaksi dan mempertegas warna yang menunjukkan adanya gula reduksi. Pemanasan tidak akan meningkatkan kadar gula pereduksi sebab CMC tidak terhidrolisis dengan adanya pemanasan. Penambahan reagen arsenomolybdat mengakibatkan terjadinya oksidasi ion tembaga (I) menjadi tembaga (II) yang disertai terbentuknya kompleks molybdenum berwarna biru kehijauan. Semakin tinggi konsentrasi glukosa maka semakin pekat intensitas warna yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yakni sampel berwarna hijau muda, hal ini menunjukkan konsentrasi glukosa dalam sampel rendah.

Kemampuan selulolitik dapat berbeda disebabkan masing-masing spesies mikroba yang membutuhkan kulturoptimum seperti pH, suhu dan nutrisi yang berbeda untuk memproduksi enzim dalam jumlah maksimal. Selain itu, faktor genetik juga mempengaruhi besarnya produksi enzim. Gen menentukan suatu pembentukan enzim yang berperan dalam rangkaian reaksi kimia pada saat berlangsungnya metabolisme selyaitu anabolisme dan katabolisme. Gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda. Dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu. Beberapa jenis gen menurut fungsinya yaitu gen pengatur dan gen struktural. Gen struktural menentukan struktur enzim yaitu urutan asam aminonya sedangkan gen pengatur mengarahkan laju sintesis enzim.

#### ***A. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim***

Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme mempunyai karakteristik yang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti, suhu, pH lingkungan tempat enzim bekerja, konsentrasi substrat tertentu dan waktu inkubasi. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis mikroorganisme. Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim.

Kondisi pH dan temperatur yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. Sedangkan temperatur dan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang.

Tabel 1. Penentuan pH optimum enzim selulase Isolat CC2

<b>pH</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Konsentrasi glukosa / mg/L</b>	<b>Aktivitas enzim/ U/mL</b>
3	0.0506	7.7325	$7.1597 \times 10^{-4}$
3,5	0.0785	10.9767	$10.1636 \times 10^{-4}$
4	0.0736	10.4069	$9.6360 \times 10^{-4}$
4,5	0.1259	16.4883	$15.2669 \times 10^{-4}$
5	0.1061	14.1860	$13.1351 \times 10^{-4}$
6	0,0708	10,0813	$9.3345 \times 10^{-4}$
6,5	0,0777	10.8837	$10.0775 \times 10^{-4}$
7,0	0,0627	9,1395	$8.4625 \times 10^{-4}$
7,5	0,1316	17,1511	$15,8806 \times 10^{-4}$
8,0	0,1075	14,3488	$13,2859 \times 10^{-4}$

Tabel 2. Penentuan pH optimum enzim selulase Isolat CC4

<b>pH</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Konsentrasi glukosa / mg/L</b>	<b>Aktivitas enzim/ U/mL</b>
3	0.0944	12.8255	$11.8754 \times 10^{-4}$
3,5	0.0460	7.1976	$6.6644 \times 10^{-4}$
4	0.1272	16.5395	$15.4069 \times 10^{-4}$
4,5	0.0907	12.3953	$7.3965 \times 10^{-4}$
5	0.0903	12.3488	$11.4340 \times 10^{-4}$
6	0,1151	15,2325	$14.1041 \times 10^{-4}$
6,5	0,0871	11,9767	$11,0895 \times 10^{-4}$
7,0	0,0681	9,7674	$9,0438 \times 10^{-4}$
7,5	0,1244	16,3139	$15,1054 \times 10^{-4}$
8,0	0,1194	15,7325	$14,5671 \times 10^{-4}$

Pada isolat CC2 diperoleh aktivitas tertinggi pada pH 7,5 sebesar  $15,8806 \times 10^{-4}$  sedangkan isolat CC4 diperoleh aktivitas tertinggi pada pH 4 sebesar  $15.4069 \times 10^{-4}$ . Berdasarkan hasil penelitian, bakteri yang mempunyai aktivitas optimum pada pH 4-7 termasuk dalam golongan bakteri asidofil, yaitu golongan yang mampu tumbuh pada pH asam. Penelitian lain dilakukan oleh Evi Fitrianti (2011), menggunakan *Bacillus circulans* sebagai penghasil selulase dengan aktivitas sebesar  $97,22 \times 10^{-3}$  U/mL pada pH 7. Menurut Meryandini (2009), kisaran pH untuk selulase tergolong luas *Bacillus sp.* galur N-4 menghasilkan selulase yang aktif pada rentang 5 – 10. Immanuel dkk. (2006), melaporkan bahwa enzim selulase dari *Cellulomonas* menghidrolisis substratnya pada pH 9.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. Perubahan pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah (Sumardi, 2010). Perubahan pH juga menyebabkan perubahan tingkat ionisasi pada enzim. Sebagai protein enzim, tidak berbeda dengan protein lain yang berarti mekanisme kerjanya sangat dipengaruhi oleh pH. Jika pH terlalu rendah, maka enzim menjadi tidak aktif, demikian juga jika pH terlalu tinggi, kemungkinan akan menyebabkan denaturasi pada enzim.

Perubahan pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim melalui perubahan struktur atau muatan residu asam amino yang berfungsi dalam pengikatan substrat. pH yang bervariasi juga dapat menyebabkan perubahan struktur enzim. Hal ini terjadi karena gugus bermuatan ( $-\text{NH}_3^+$  atau  $-\text{COO}^-$ ) yang jauh dari daerah terikatnya substrat, yang mungkin diperlukan untuk mempertahankan struktur tersier, akan mengalami perubahan muatan pada pH yang berbeda. Hal ini akan menyebabkan terganggunya ikatan ionik sehingga struktur dasar enzim berubah. Perubahan konformasi enzim akan menyebabkan aktivitas enzim menjadi menurun. Aktivitas enzim ditentukan oleh gugus aktif pada rantai samping enzim. Proses katalisis hidrolisis selulosa oleh selulase terjadi pada sisi aktif asam amino glutamat. Fraksi gugus  $-\text{COOH}$  dari asam amino glutamat akan bermuatan negatif membentuk  $-\text{COO}^-$  pada kondisi pH 6-7,5 (Diah, 2007). Kisaran pH ini sesuai dengan aktivitas optimum enzim selulase dalam menghidrolisis substratnya.

## **B. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim**

Selain pH, suhu memainkan peranan yang sangat penting dalam reaksi enzimatik. Kisaran suhu untuk aktivitas enzim menentukan sifat pertumbuhan



mikroorganisme. Suhu tertinggi dimana mikroorganisme masih dapat tumbuh disebut suhu maksimum, sedangkan minimum adalah suhu terendah di mana mikroorganisme masih dapat tumbuh. Suhu tidak hanya mempengaruhi aktivitas enzim, namun mempengaruhi sifat fisik membran sel. Permeabilitas membran sel tergantung pada kandungan dan jenis lipida. Peningkatan 5-10 °C di atas suhu optimum dapat menyebabkan proses lisis dan kematian sel mikro. Kenaikan suhu sampai suhu optimum akan mempercepat reaksi enzim karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Penentuan suhu optimum dilakukan variasi suhu (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90)°C yang selanjutnya diuji aktivitas enzimnya menggunakan metode Nelson-Samogy yang diukur pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 545 nm sehingga diperoleh hasil seperti pada tabel berikut:

Tabel 3. Penentuan suhu optimum enzim selulase Isolat CC2

Suhu /oC	Absorbansi	Konsentrasi glukosa / mg/L	Aktivitas enzim/ U/mL
20	0,1082	14,4302	13,3612 x 10 <sup>-4</sup>
30	0,1196	15,7558	14,5887 x 10 <sup>-4</sup>
40	0,1191	15,6976	14,5348 x 10 <sup>-4</sup>
50	0,1201	15,8139	14,6425 x 10 <sup>-4</sup>
60	0,1262	16,5232	15,2992 x 10 <sup>-4</sup>
<b>70</b>	<b>0,1644</b>	<b>20,9615</b>	<b>19,4121 x 10<sup>-4</sup></b>
80	0,1201	15,8139	14,6425 x 10 <sup>-4</sup>
90	0,0902	12,3372	11,4233 x 10 <sup>-4</sup>

Tabel 3. Penentuan Suhu optimum enzim selulase Isolat CC4

Suhu /oC	Absorbansi	Konsentrasi glukosa / mg/L	Aktivitas enzim/ U/mL
20	0,0957	12,5359	11,6104 x 10 <sup>-4</sup>
30	0,1256	16,4534	15,2346 x 10 <sup>-4</sup>
40	0,1167	15,4186	14,6317 x 10 <sup>-4</sup>
50	0,1200	15,8139	14,6425 x 10 <sup>-4</sup>

60	0,1418	18,3372	16,9788 x 10 <sup>-4</sup>
<b>70</b>	<b>0,1731</b>	<b>21,9767</b>	<b>20,3487 x 10<sup>-4</sup></b>
80	0,1264	16,5465	15,3208 x 10 <sup>-4</sup>
90	0,1039	13,9302	12,8983 x 10 <sup>-4</sup>

Berdasarkan tabel 3 untuk isolat CC2 dan CC4 diperoleh suhu optimum pada suhu 70 °C dengan aktivitas untuk isolat bakteri CC2 sebesar 19,4121 x 10<sup>-4</sup> U/ml sedangkan isolat CC4 sebesar 20,3487 x 10<sup>-4</sup>U/ml. Pada suhu optimum reaksi enzimatik berlangsung paling cepat karena aktivitas enzim maksimum. Peningkatan suhu menyebabkan aktivitas ekstrak kasar enzim meningkat. Hal ini disebabkan oleh meningkatkan energi kinetik, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dengan enzim. Pada suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat sangat efektif, sehingga pembentukan kompleks enzim-substrat makin mudah dan produk yang terbentuk meningkat. Kenaikan suhu di atas suhu optimum, protein enzim akan mengalami perubahan konformasi sehingga gugus reaktif terhambat bahkan mengalami denaturasi dan kehilangan aktivitas katalitiknya (inaktivasi). Proses inaktivasi enzim pada suhu yang sangat tinggi berlangsung melalui dua tahap yaitu diawali dengan pembukaan parsial struktur sekunder, tersier dan atau kuaterner molekul enzim akibat putusannya ikatan-ikatan kovalen maupun ikatan hidrofobik dan selanjutnya terjadi perubahan struktur primer enzim karena adanya kerusakan asam-asam amino tertentu oleh pemanasan. Kenaikan suhu akan mengubah struktur protein yang menyusun enzim sehingga terjadi pemutusan interaksi nonkovalen (ikatan hidrogen, gaya van der Waals dan interaksi lainnya) yang menopang struktur tiga dimensi. Suhu tertentu akan meningkatkan aktivitas enzim karena menyediakan kondisi optimum bagi kerja enzim.

Aktivitas enzim isolat CC2 dan CC4 pada suhu 80 dan 90°C mengalami penurunan. Hal ini diduga karena enzim mulai terdenaturasi. Pada suhu optimum reaksi enzimatik berlangsung paling cepat karena aktivitas enzim maksimum. Kenaikan suhu di atas suhu optimum menyebabkan protein enzim mengalami perubahan struktur sehingga aktivitas enzim menurun. Adanya perubahan suhu juga akan mempengaruhi ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik yang berperan dalam menjaga struktur molekul enzim. Perubahan struktur akan mempengaruhi sisi aktif dari enzim.

Pengukuran pada spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan mencari panjang gelombang maksimal untuk serapan glukosa dalam sampel. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 545 nm. Pada panjang gelombang ini komponen warna dari pereaksi Nelson-Samogy ikut menyerap cahaya sehingga blanko yang digunakan juga ditambahkan dengan pereaksi tersebut.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- a. Enzim selulase dari isolat bakteri larva *Cossus cossus* mempunyai karakteristik pH yaitu pH 4 dengan aktivitas optimum sebesar  $15,4069 \times 10^{-4}$  U/mL untuk isolat CC4 sedangkan isolat CC2 pada pH 7,5 dengan aktivitas  $15,880 \times 10^{-4}$  U/mL
- b. Enzim selulase dari isolat bakteri termofilik mempunyai karakteristik suhu yaitu  $70^{\circ}\text{C}$  dengan aktivitas optimum sebesar  $19,4121 \times 10^{-4}$  U/mL isolat CC2 dan isolat CC4 dengan aktivitas  $20,3487 \times 10^{-4}$  U/mL

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alam, Sarjono, dan Aminin. "Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah", *Jurnal Kimia* 1, No. 1, (2013), h. 190-195.
- Ayu, Dyah Saropah, dkk. "Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul", *Alchemy* 2 No. 1, (2012), h. 34-45.
- Budiman, Albar dan Sigit Setyawan. " Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi", *Jurnal*. (2010), h. 5-6.
- Diah Natalia Monica, Athitya, "Studi Aktivitas Spesifik Selulase Dari *Lactobacillus collinoides* Yang Dimurnikan Dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat", *Skripsi*. Malang: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, 2007
- Ervina Sinaga, Roida "Karakterisasi Enzim Selulase dan Aplikasinya pada Substrat Limbah Pertanian" *Tesis*, Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2013.

- Fikrida. “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Ektremofilik dari Ekosistem Air Hitam” *Tesis* (Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2000).
- Fitrianti, Emy, “Aktivitas Enzim Karboksimetil Selulase *Bacillus pumilus* Galur 55 pada Berbagai Suhu Inkubasi”, *Skripsi*, Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, 2003.
- Hartanti. “Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik Termofilik dari Kawah Air Panas Gunung Pancar Bogor”, *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2010.
- Gayang, Faisal, “Konversi Lignoselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Gula Pereduksi Menggunakan Enzim Xilanase Dan Selulase Komersial”, *Skripsi*, Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2013.
- Kusmiati Dan Dody Priadi, “Kriopreservasi Bakteri Selulolitik *Bacillus pumilus* dengan Krioprotektan Berbeda”, *Pusat Penelitian Bioteknologi*., Cibinong-Bogor: LIPI, 2003.
- Luthfi, Muhammad Ramadhan, dkk., “Analisis Potensi dan Karakterisasi Molekuler Gen 16S rRNA Bakteri Selulolitik yang diisolasi dari Makroalga *Eucheuma* sp. dan *Sargassum* sp. Sebagai Penghasil Enzim Selulase”, *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 3, no. 3 (2012): h. 61-63.
- Marina, Ince Dewi, “Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air panas Tinggi Raja Simalungun, Sumatera Utara”, *Tesis* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2008.
- Meryandini, Anja dkk., “Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya”, *Makara Sains* 13, no. 1, (2009), h. 36-
- Masfufatun, “Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase”, *Jurnal*, (2012), h. 1-11.
- Muharni, dkk., “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Protease dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan”, *Jurnal*, (2013), h. 1.
- Monica, Athitya Diah Natalia, “Studi Aktivitas Spesifik Selulase Dari *Lactobacillus collinoides* Yang Dimurnikan Dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat”, *Skripsi*. Malang: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, 2007.
- Mushoffa, “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Feses Kambing”, *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, 2012.

- M. K. Abdushshamad, *Mukjizat Ilmiah dalam Al-Quran* Jakarta: Akbar Media Eka Sarana, 2003.
- Pol, Dipali Seeta Laxman and Mala Rao, "Purification and Biochemical Characterization of Endoglucanase from *Penicilium Pinophilum* MS 20", *Indian Jurnal of Biochemistry & Biophysics* 49 (2012): h. 189.
- Rahman Razak, Abdul, "Optimalisasi Hidrolisis Sukrosa Menggunakan Resin Penukar Kation Tipe Sulfonat", *Jurnal Natural Science* 1 no.1 (2012), h.4
- Rahmi, F. L. dkk., "Optimalisasi Komposisi Media dan Konsentrasi Sumber Karbon Produksi Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Strain Lokal S-16 dan S-22", *Jurnal*, (2012), h. 1
- Rumiris, Mary, dkk., "Optimalisasi Suhu dan Waktu Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik Strain Lokal S-16", *Jurnal*, (2012), h. 1
- Saraswati. Rasti "Penelitian dan pengembangan pengomposan dengan DSAPlus Selulolitik dan Lignolitik < 5 Hari untuk Pembuatan Foliar Biofertilizer dan Biostimultan yang Mampu Meningkatkan Efisiensi Pemupukan > 25%", *Balai Penelitian Tanah*, 2010, h. 17.
- Satria, Hasrul Nur, dkk., "Pemanfaatan Bakteri Selulolitik dan Xilanolitik yang Potensial untuk Dekomposisi Jerami Padi", *J. Tanah Trop.* 14, No.1,(2009), h. 1-11.
- Sekarsari, Ike Dewi, "Seleksi Isolat Bakteri Rumen (Anaerob) Penghasil Karboksi Metil Selulase", *Skripsi* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB Bogor, 2003.
- Sianturi, Dessy Christina, "Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara" *Tesis*. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam USU Medan, 2008.
- Sumardi dkk. "Isolasi Basillus Penghasil selulase dari saluran pencernaan ayam kampung", FMIPA Unila Lampung, (2013), h.5.
- Sutiamiharja, Nurhalijah, "Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Kasar Termofilik dari Sumber Air Panas Gurukinayan Sumatera Utara", *Tesis*. Medan: Pasca Sarjana USU Medan, 2003.
- Wahyuni, Vera "Aktivitas Selulase *Bacillus pumilus* Galur 55 yang Diisolasi dari Sumber Air Panas", *Skripsi*, Bogor: Fakultas Matetamtika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2011

Widayani, Asih “Isolasi, Pengelompokan warna dan Optimasi Media Pertumbuhan Aktinomiset Seluloliti Asal Hutan Sulawesi Tengah”, *Skripsi*, Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, 2006.