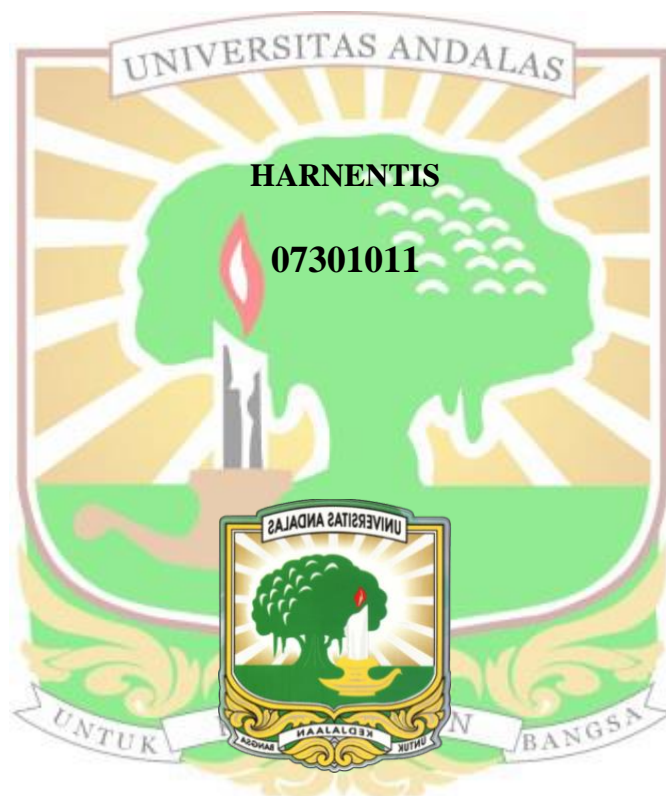


**ISOLASI DAN PRODUKSI ENZIM MANNANASE DARI BAKTERI
TERMOFILIK ASAL AIR PANAS SERTA APLIKASINYA
DALAM MENINGKATKAN KUALITAS
PAKAN TERNAK UNGGAS**

DISERTASI



Pembimbing:

**Prof. Dr. Ir. Yetti Marlida, MS
Prof. Dr. Ir. Yose Rizal, MSc
Prof. Dr. Ir. Maria Endo. M, MS**

**Program Doktor Ilmu Peternakan
Fakultas Peternakan
Universitas Andalas
2015**

Isolasi dan produksi enzim mannanase dari bakteri termofilik asal air panas serta aplikasinya dalam meningkatkan kualitas pakan ternak unggas

Oleh: Harnentis

(Di bawah bimbingan Yetti Marlida, Yose Rizal dan Maria Endo Mahata)

RINGKASAN

Tujuan penelitian adalah untuk meningkatkan kualitas gizi pakan yang mengandung mannan tinggi sebagai pakan ternak unggas melalui proses pembuatan pellet dengan suplementasi enzim mannanase termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas Solok Selatan.

Penelitian dibagi 4 tahap percobaan. Tahap pertama, memperoleh bakteri termofilik yang aktif menghasilkan enzim mannanase termostabil ekstraseluler dari sumber air panas, mendapatkan isolat bakteri dan menentukan kondisi optimum pertumbuhan bakteri tersebut pada substrat *locust bean gum* (pH, temperatur dan lama inkubasi optimum). Tahap kedua, menentukan kondisi produksi enzim mannanase termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik (sumber karbon, nitrogen, pH, temperatur dan lama inkubasi optimum). Tahap ketiga, mengetahui karakter enzim mannanase termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik (substrat spesifik, K_m dan V_{max} , konsentrasi enzim, lama reaksi enzim dan pengaruh ion logam). Tahap keempat, mengetahui *recovery* (sisa aktivitas) mannanase termostabil pada proses pembuatan pellet pada bahan pakan yang mengandung mannan tinggi terpilih pada percobaan Tahap ketiga (Bungkil kelapa), mengetahui perubahan kandungan zat gizi setelah pelleting (hemiselulosa) dan kualitas zat gizi pelet (kecernaan hemiselulosa, retensi nitrogen dan energi metabolisme).

Hasil percobaan tahap pertama, diperoleh satu isolat bakteri termofilik yang aktif menghasilkan enzim mannanase termostabil yaitu isolat SM-1.4, yang diidentifikasi sebagai genus *Bacillus*, mempunyai kesamaan 91% dengan *Bacillus cereus* dan *Bacillus thuringiensis*. pH dan temperatur optimum pertumbuhan *Bacillus* sp. SM-1.4 adalah pada pH 7,0, temperatur 60°C dan lama inkubasi 24 jam dengan tingkat kekeruhan (turbidity) pada OD₆₀₀ sebesar 0,316. Aktivitas

enzim mannanase dari *Bacillus* sp. SM-1.4 pada substrat *locust bean gum* (LBG) adalah 1,95 U/mg protein

Hasil percobaan tahap kedua, diperoleh substrat terbaik untuk produksi enzim mannanase termostabil yang dihasilkan bakteri termofilik *Bacillus* sp. SM-1.4 adalah menggunakan sumber karbon bungkil kelapa (BK) dengan konsentarsi 1,5% mannan dengan aktivitas mannanase sebesar 12,32 U/mg protein, hampir 6,3 kali dibandingkan dengan LBG. Sumber protein yang terbaik untuk produksi mannanase termostabil adalah 0,05% N yeast extract dan 0,05% N ammonium nitrat, karena dapat meningkatkan aktivitas mannanase dari 5,02 U/mg protein menjadi 19,92 U/mg protein. Penggunaan 0,05% N yeast extract dan 0,05% N ammonium nitrat dapat meningkatkan aktivitas mannanase sebesar 3,96 kali dibanding kontrol (Tanpa N). Temperatur dan pH optimum untuk produksi mannanase termostabil dari *Bacillus* sp. SM-1.4 sama dengan temperatur dan pH pertumbuhan *Bacillus* sp. SM-1.4 yaitu pada temperatur 60°C dan pH 7,0, dengan aktivitas spesifik sebesar 19,74 U/mg protein dan 19,86 U/mg protein. Lama inkubasi optimum untuk produksi mannanase termostabil adalah 18 jam dengan aktivitas spesifik sebesar 22,24 U/mg protein.

Hasil percobaan tahap ketiga, diperoleh pH optimum mannanase termostabil dari *Bacillus* sp. SM-1.4 adalah pada pH 7,0 (4,44 U/mg) dan stabil pada pH 4,0 sampai 9,0 dengan aktivitas relatif sebesar 84,45 dan 85,31%. Temperatur optimum mannanase termostabil adalah 70°C (5,39 U/mg) dan stabil pada temperatur 50°C sampai 90°C dengan aktivitas relatif sebesar 88,19 dan 86,76%. Substrat spesifik enzim mannanase termostabil terbaik adalah bungkil kelapa (BK) dengan aktivitas relatif sebesar 146,16% dibandingkan dengan LBG. Aktivitas enzim mannanase termostabil tertinggi diperoleh pada konsentarsi substrat 9,0 mg/ml, dengan aktivitas spesifik sebesar 15,92 U/mg. Nilai K_m dan V_{max} enzim mannanase termostabil dari *Bacillus* sp. SM-1.4 adalah 6,72 mg/ml dan 23,26 U/mg protein. Konsentrasi optimum enzim mannanase termostabil adalah sebesar 500 U dengan aktivitas spesifik sebesar 22,88 U/mg protein dan lama reaksi enzim mannanase 60 menit dengan aktivitas spesifik sebesar 27,20 U/mg. Enzim mannanase termostabil tahan terhadap ion Fe^{++} , Co^{++} , Mg^{++} , Cu^{++} , dan Na^+ , bahkan aktivitas mannanase meningkat dengan adanya ion Ba^{++} dan

Fe⁺⁺ dengan aktivitas relatif sebesar 129,02% dan 120,49% dibandingkan dengan kontrol.

Hasil percobaan tahap keempat, diperoleh *recovery* (sisa aktivitas) mannanase termotabil dari *Bacillus* sp. SM-1.4 pada bahan pakan yang mengandung mannan tinggi (bungkil kelapa) setelah mengalami proses pelleting berturut-turut 91,27%, 85,42% dan 72,09% pada temperatur pelleting 75⁰C, 85⁰C dan 95⁰C. Kandungan hemiselulosa bungkil kelapa dalam bentuk pellet mengalami penurunan tertinggi pada temperatur pelleting 75⁰C yaitu dari 21,54% menjadi 20,28% dengan persentase penurunan sebesar 5,85% dan dosis suplementasi mannanase 700 U/kg yaitu dari 21,54% menjadi 19,98 dengan persentase penurunan sebesar 7,24%. Peubah-peubah pencernaan hemiselulosa, retensi nitrogen dan energi metabolisme yang dikoreksi dengan retensi nitrogen (MEn) menjadi lebih tinggi dibandingkan tanpa suplementasi mannanase. Kecernaan hemiselulosa, retensi nitrogen dan energi metabolisme yang dikoreksi dengan retensi nitrogen (MEn) tanpa suplementasi enzim kasar mannanase termotabil berturut-turut 56,66%; 52,45%; dan 1884,47 kkal/kg, sementara setelah pelleting menghasilkan pencernaan hemiselulosa, retensi nitrogen dan energi metabolisme yang dikoreksi dengan retensi nitrogen (MEn) berturut-turut 85,17%, 69,06%, dan 2511,32 kkal/kg, dengan peningkatan berturut-turut sebesar 50,32%, 31,66%, dan 33,26%.

Kesimpulan penelitian adalah bakteri termofilik penghasil enzim kasar mannanase termotabil yang aktif dari isolat yang diisolasi dari sumber air panas adalah *Bacillus* sp. SM-1.4. Berdasarkan pada karakter enzimnya, maka enzim mannanase dari *Bacillus* sp. SM-1.4. termasuk enzim termotabil karena menghasilkan sisa aktivitas yang tinggi setelah proses pelleting dan dapat diaplikasikan pada pakan ternak unggas dalam bentuk pellet. Kandungan dan kualitas zat gizi bahan pakan yang mengandung mannan tinggi, setelah proses pelleting dengan suplementasi enzim kasar mannanase termotabil lebih baik dibandingkan sebelum pelleting, hal ini ditandai dengan meningkatnya kualitas zat gizi bahan pakan (BK) dalam bentuk pellet (kandungan dan daya cerna hemiselulosa, retensi nitrogen dan energi metabolis yang dikoreksi dengan retensi nitrogen (MEn)).