



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

# **ISOLASI, SELEKSI DAN OPTIMASI PERTUMBUHAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM SELULASE THERMOSTABIL DARI SUMBER AIR PANAS KABUPATEN SOLOK SELATAN SUMATERA BARAT**

**SKRIPSI**



**DON KENEDI  
07 162 022**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 2012**

**ISOLASI, SELEKSI DAN OPTIMASI PERTUMBUHAN BAKTERI  
PENGHASIL ENZIM SELULASE THERMOSTABIL DARI SUMBER AIR  
PANAS KABUPATEN SOLOK SELATAN SUMATERA BARAT**

Don Kenedi, dibawah bimbingan  
Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS dan Ir. Harnentis, MS  
Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan  
Universitas Andalas Padang 2012

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan optimasi pertumbuhan bakteri penghasil enzim selulase yang diisolasi dari sumber air panas Kab. Solok Selatan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Industri Pakan Fak. Pernakan. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan tahap penelitian 1) isolasi bakteri dari sumber air panas Kabupaten Solok Selatan; 2) seleksi (penapisan) isolat penghasil enzim selulase; 3) optimasi pertumbuhan bakteri penghasil enzim selulase termostabil; 4) produksi enzim selulase termostabil dari isolat terpilih. Hasil penelitian diperoleh 9 isolat bakteri, namun setelah dilakukan seleksi diperoleh 6 isolat bakteri yang mempunyai kemampuan mendegradasi CMC (NG1, NG2, NG3, NG4, NG5 dan NG6). Dari 6 isolat, isolat NG2 memperlihatkan kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi CMC yang ditandai dengan besarnya zona bening (0.5 - 1 cm), setelah dilakukan optimasi pertumbuhan maka isolat NG2 tumbuh baik pada pH 7.0, suhu 60 °C dan lama inkubasi 30 jam dengan aktivitas enzim selulase 34.16 U/ml, protein enzim 1.313 mg/ml, dan aktivitas spesifik 26.01 U/mg.

Kata kunci: Isolasi, optimasi, termostabil, bakteri, selulase



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT, dengan limpahan rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”Isolasi, Seleksi dan Optimasi Pertumbuhan Bakteri Penghasil Enzim Sellulase Thermostabil dari Sumber Air Panas Kabupaten Solok Selatan Sumatera Barat”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS, selaku pembimbing I dan Ibu Ir. Harnentis, MS selaku pembimbing II yang telah banyak membantu, membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Dan tak lupa kepada Ayah dan Ibunda tercinta yang selalu mendo’akan penulis, serta kepada semua pihak yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan moril dan materil dalam menyelesaikan laporan ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan untuk maksud dan tujuan penelitian ini dapat dicapai. Akhir kata semoga penelitian ini bermanfaat bagi kita semua.

Padang, Juli 2012

Don Kenedi

# DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GRAFIK</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.5. Hipotesis Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Limbah Pertanian yang Pengandung Selulosa yang Tinggi.....	5
2.2. Bakteri Termofilik.....	6
2.3. Enzim Termostabil .....	7
2.4. Enzim Selulase .....	8
2.5. Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme.....	9
2.5.1. Lama Inkubasi .....	9
2.5.2. pH Optimum.....	9
2.5.3. Temperatur .....	10
<b>III. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Materi Penelitian .....	11
3.1.1. Bahan Penelitian.....	11
3.1.2. Peralatan .....	11
3.2. Metode Penelitian.....	12
3.3. Prosedur Penelitian.....	12
3.3.1. Isolasi bakteri dari sumber air panas kabupaten solok selatan.....	12

3.3.1.1. Lokasi Pengambilan Sampel Air Panas Solok Selatan...	12
3.3.1.2. Isolasi Bakteri ke Medium NB dan Penumbuhan Kultur Bakteri ke Medium NA.....	13
3.3.2. Identifikasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Selulase .....	14
3.3.2.1. Mengamati Zona Bening.....	14
3.3.2.2. Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Secara Mikroskopis.....	15
3.3.3. Optimasi Pertumbuhan Bakteri Selulolitik .....	16
3.3.3.1. Lama Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2 .....	16
3.3.3.2. Pengaruh pH Medium Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2 .....	16
3.3.3.3. Temperatur Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2. ....	17
3.3.4. Produksi Enzim Selulase dari Isolate Bakteri NG2 .....	18
3.3.4.1. Ekstraksi Enzim dari Kultur Cair Bakteri Termofil.....	18
3.3.4.2. Pertumbuhan Larutan Standar Glukosa.....	18
3.3.5. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Termofil .....	19
3.3.6. Penentuan Protein Enzim.....	20
3.4. Waktu dan Tempat .....	20
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Isolasi Bakteri dari Sumber Air Panas Kabupaten Solok Selatan.....	21
4.1.1. Pengambilan dan Pengukuran Sampel Dari Sumber Air Panas Kab. Solok Selatan.....	21
4.1.2. Isolasi bakteri ke medium NB dan Penumbuhan Kultur Bakteri ke Medium NA.....	22
4.2. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase Termofilik .....	22
4.3. Optimasi Pertumbuhan Bakteri Penghasil Enzim Selulase.....	25
4.3.1. Lama Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2 .....	25
4.3.2. pH Medium Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2 .....	26
4.3.3. Suhu Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2 .....	27

4.4. Produksi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri NG2 .....	28
<b>V. KESIMPULAN</b> .....	29
5.1. KESIMPULAN .....	29
5.2. SARAN .....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	30
<b>LAMPIRAN</b> .....	34
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	45



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1. Pengambilan dan pengukuran sampel (Suhu dan pH) di sumber air panas Kabupaten Solok Selatan.....		22
2. Isolat bakteri penghasil enzim selulase menggunakan CMC sebagai inducer.....		24



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1. Pengambilan dan pengukuran sampel (Suhu dan pH) di sumber air panas Kabupaten Solok Selatan.....		22
2. Isolat bakteri penghasil enzim selulase menggunakan CMC sebagai inducer .....		24





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Halaman
1.	Foto pengambilan dan pengukuran sampel (suhu dan pH) di sumber air panas Kabupaten Solok Selatan.....	34
2.	Foto pewarnaan bakteri.....	35
3.	Foto pewarnaan spora.....	37
4.	Kurva Standar Glukosa.....	39



# I. PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang biasa didegradasi oleh enzim selulase. Bahan lignoselulosa merupakan komponen organik berlimpah di alam, yang terdiri tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-30%) dan lignin (10-25%) (Saha, 2004). Konversi bahan lignoselulosa banyak didegradasi oleh enzim yang dihasilkan dari mikroba selulolitik maupun xilanolitik (Pason *et al.*, 2003).

Saat ini semakin meningkatnya usaha pertanian/industri maka akan semakin banyak limbah atau hasil ikutannya yang dapat dijadikan bahan pakan. Namun, kandungan selulosa tinggi yang terdapat dalam bahan pakan tersebut merupakan suatu permasalahan dalam ransum ternak monogastrik, karena ternak monogastrik seperti unggas tidak menghasilkan enzim selulase pada saluran cernanya, sehingga terjadi gangguan penetrasi enzim pencernaan lain dan penyerapan nutrisi (Kulkarni, 1999). Pemecahan masalah keterbatasan daya cerna ternak monogastrik bisa ditanggulangi dengan penambahan enzim selulase di dalam ransum (Bedford dan Partridge, 2001).

Enzim selulase dapat dihasilkan dari mikroorganisme. Penggunaan mikroorganisme dalam produksi enzim selulase sangat menguntungkan, selain mudah dibiakkan, mikroorganisme mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi dan mudah dikontrol pertumbuhannya (Gusmanizar *et al.*, 2004). Berbagai jenis

mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan Actinomycetes diketahui dapat menghasilkan selulase. Selulase adalah enzim kompleks yang memotong secara bertahap rantai selulosa menjadi glukosa. Enzim ini terdiri dari eksoselulase atau eksobiohidrolase, endoselulase atau endo- $\beta$ -1,4-glukonase dan  $\beta$ -1,4-glukosidase atau selobiase (Gerhartz, 1990).

Penelitian terhadap enzim selulase ini sangat penting, karena enzim selulase dapat dimanfaatkan untuk penggunaan bahan yang mengandung selulosa menjadi monomernya glukosa. Glukosa ini dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, seperti industri bioetanol, industri kertas, industri makanan, pakan ternak dan industri obat-obatan (Hidayat *et al.*, 2006).

Mikroorganisme potensial yang sering digunakan untuk memproduksi enzim selulase adalah *Trichoderma viridae* yang merupakan golongan jamur. Selain jamur *Trichoderma*, masih banyak golongan bakteri yang dapat memproduksi enzim selulase terutama enzim selulase termostabil. Bakteri tersebut dapat di seleksi dari sumber air panas dan tanah (Rosia, 2002).

Bakteri termofilik mampu hidup secara optimal diatas suhu  $45^{\circ}\text{C}$  dengan struktur protein penyusun enzim yang tetap stabil atau tidak terdenaturasi oleh panas. Mikroorganisme ini tidak hanya bersifat toleran terhadap suhu lingkungannya yang bersifat ekstrim tetapi juga mampu untuk bertahan hidup dan berkembang biak pada suhu yang ekstrim, serta menghasilkan enzim yang termostabil.

Indonesia juga sebagai salah satu wilayah yang memiliki aktivitas vulkanik dan sumber geothermal yang banyak, memiliki kesempatan untuk menghasilkan sumber-sumber mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim selulase termostabil. Salah satu sumber geothermal adalah mata air panas yang cukup banyak tersebar di Indonesia termasuk diantaranya di Rimbo Panti Pasaman yang di teliti oleh Yonipa (2010). Dalam penelitian ini pengambil sampel terdapat di Kabupaten Solok Selatan yaitu di Kecamatan Koto Parik Badang Diateh dan Sapan Air Aro dan Pauh Duo, salah satunya di daerah pariwisata air panas Sapan Maluluang di Kecamatan Pauh Duo dan di pemukiman penduduk. Diharapkan dari sumber mata air panas tersebut dapat ditemukan mikroorganisme termofilik terutama bakteri penghasil enzim selulase yang tetap memiliki aktivitas pada suhu tinggi. Untuk menemukan mikroorganisme termofilik maka dilakukan isolasi, seleksi dan optimasi pertumbuhan bakteri, sehingga nantinya ditemukan enzim selulase termostabil.

Enzim yang bersifat termostabil dapat diaplikasikan untuk industri seperti industri pembuatan pellet. Pellet dibuat melalui proses pemanasan pada suhu tinggi yaitu suhu diatas  $65^{\circ}\text{C}$ , karena itu kestabilan enzim terhadap perlakuan panas pada industri pakan sangat diperlukan, sehingga perlu dicari bakteri penghasil enzim selulase yang tahan panas, agar pada proses pemelletan bahan pakan, enzim yang dicampurkan tetap aktif dan dapat bisa memecah selulosa yang terdapat pada bahan pakan.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Bahan pakan yang mengandung selulosa tidak bisa dicerna oleh sistem pencernaan ternak monogastrik. Proses pembuatan pellet ransum ternak berlangsung pada suhu yang mencapai diatas 65<sup>0</sup>C. Penambahan enzim dalam ransum membutuhkan enzim yang stabil pada suhu yang tinggi. Oleh karena itu perlu dicari dan diteliti bakteri penghasil enzim selulase termostabil.

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Mendapatkan isolat bakteri penghasil enzim selulase termostabil dari sampel air panas Kab. Solok Selatan dan menentukan kondisi optimum pertumbuhan isolat yang terpilih.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi baru mengenai bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase termostabil yang tahan terhadap suhu tinggi dan dapat di aplikasikan pada industri pembuatan pellet.

## **1.5. Hipotesis**

Hipotesis ini diperoleh beberapa isolat bakteri termofilik yang memiliki kemampuan tinggi menghasilkan enzim selulase termostabil.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Limbah Pertanian Yang Mengandung Selulosa Yang Tinggi

Produksi jagung di Indonesia setiap tahunnya menunjukkan peningkatan. Menurut Biro Pusat Statistic (BPS) Indonesia, angka produksi jagung tahun 2004 mencapai 11,2 juta ton. Tahun 2005 meningkat menjadi 12,5 juta ton, tahun 2006 mencapai 12,13 juta ton. Tahun 2007 produksinya mencapai 14 juta ton. Disamping itu, tingkat konsumsi jagung pada tahun 2006 sekitar 3,5 juta ton, sedangkan tahun 2007 diperkirakan mencapai 4,1 juta ton (BPS, 2007). Banyaknya buah jagung yang dikonsumsi menyebabkan pencemaran lingkungan. Tongkol jagung termasuk limbah pertanian yang diketahui banyak mengandung serat kasar dimana tersusun atas senyawa kompleks lignin, hemiselulosa dan selulosa yang tinggi. Komposisi kandungan tongkol jagung dapat dilihat pada table 1.

**Tabel 1.** Komposisi tongkol jagung

Komponen	%
Air	9.6
Abu	1.5
Hemiselulosa	36.0
Selulosa	41.0
Lignin	6.0
Pektin	3.0
Pati	0.014

Sumber: Lorenz & Kulp (1991).

Masing-masing merupakan senyawa-senyawa yang potensial dapat dikonversi menjadi senyawa lain secara biologi. Selulosa merupakan sumber karbon yang dapat digunakan mikroorganisme sebagai substrat dalam proses enzimatik untuk memproduksi enzim selulase (Hamilton, 1984; Purnomo dan Rochma, 2004). Kandungan selulosa tinggi yang terdapat dalam tongkol jagung tersebut merupakan suatu permasalahan dalam ransum ternak monogastrik, karena ternak monogastrik seperti unggas tidak menghasilkan enzim selulase pada saluran cernanya, sehingga terjadi gangguan penetrasi enzim pencernaan lain dan penyerapan nutrisi (Kulkarni, 1999). Pemecahan masalah terhadap keterbatasan daya cerna ternak monogastrik bisa ditanggulangi dengan penambahan enzim selulase di dalam ransum (Bedford dan Partridge, 2001).

## **2.2. Bakteri Termofilik**

Organisme termofilik diartikan sebagai organisme yang mampu hidup pada suhu tinggi. Organisme ini tidak hanya mampu bertahan hidup tetapi juga tumbuh subur dalam air mendidih (Brock, 1985). Bakteri dibagi menjadi beberapa kelas berdasarkan suhu dimana mereka dapat tumbuh dengan baik hingga suhu  $100^{\circ}\text{C}$  dan suhu optimum  $15^{\circ}\text{C}$  atau lebih rendah. Mesofil dapat tumbuh pada suhu  $20-45^{\circ}\text{C}$ . Termofil tumbuh dengan subur pada suhu di atas  $45^{\circ}\text{C}$ , dan beberapa hidup pada suhu atau bahkan di atas titik didih air. Strain bakteri termofilik telah diidentifikasi dengan rentang suhu optimum dari  $55^{\circ}\text{C}$  hingga  $105^{\circ}\text{C}$ .

Kemampuan bakteri termofilik tumbuh pada suhu tinggi dan menghasilkan enzim ekstraseluler yang stabil merupakan pertanda adanya peningkatan produksi

dan aktifitas enzim mereka melalui rekayasa genetika, oleh karena itu mikroorganisme ini merupakan kandidat pertama untuk menghasilkan enzim yang digunakan dalam industri (Hisotsuyanagi, 1979).

Mikroorganisme bagaimanahalnya makhluk hidup lainnya menyesuaikan diri dengan lingkungan tempat mereka hidup. Organisme termofilik mengandung protein yang bersifat termostabil dan tahan terhadap denaturasi dan proteolisis (Kumar *et al.*, 2001). Membran sel termofilik dibentuk oleh asam lemak jenuh. Asam lemak melengkapi suatu lingkungan hidrofobik untuk menjaga kekakuan sel untuk hidup pada suhu yang meningkat (Herbert *et al.*, 1992).

### **2.3. Enzim Termostabil**

Mikroorganisme termofilik dipercaya berpotensi menjadi pilihan yang baik sebagai sumber enzim termostabil. Bakteri termofilik dapat di isolasi dari lingkungan alam yang bersuhu tinggi yang tersebar di seluruh dunia dan ditemukan di daerah yang memiliki gunung berapi aktif (Brock, 1985).

Enzim termostabil memungkinkan terjadi proses pada suhu tinggi, yang jelas menguntungkan sebab memiliki reaktifitas yang tinggi, stabilitas yang lebih tinggi, hasil yang lebih tinggi, viskositas yang rendah dan masalah kontaminasi yang lebih rendah (Moszhaev, 1993). Enzim termostabil dapat diperoleh dari organisme mesofilik dan termofilik, bahkan psikrofilik memiliki beberapa enzim termostabil (Adams *et al.*, 1998). Enzim termostabil yang di isolasi dari organisme termofilik memiliki sejumlah pemakaian secara komersial oleh karena stabilitasnya (Demirijian *et al.*, 2001). Keuntungan dari bioproses yang berlangsung pada suhu tinggi adalah kecepatan difusi yang lebih tinggi,



menurunkan viskositas substrat, kecepatan reaksi lebih tinggi (Milo *et al.*, 1999), meningkatkan kelarutan reaktan dan mengurangi risiko terjadinya kontaminasi dengan mikroba patogen (Mutzel *et al.*, 1996).

#### 2.4. Enzim Selulase

Selulase adalah enzim yang mampu menguraikan selulosa dengan menghidrolisis ikatan  $\beta$  (1-4)-glukosida menjadi bentuk sederhana yang kemudian menguraikan lebih lanjut hingga menjadi glukosa. Penguraian oleh enzim selulase dalam yang perlu diuraikan kembali. Dimana selulosa merupakan pembentuk struktur dasar dari tumbuh-tumbuhan, komponen utama pada limbah dan banyak terdapat sebagai limbah pertanian (Marsiati, 1989).

Enzim selulase mendegradasi selulosa dengan memecah ikatan  $\beta$  (1-4)-glukosida. Proses degradasi selulosa pada prinsipnya melibatkan 3 jenis enzim yang bekerja secara sinergis, yaitu endo- dan exo-1,4  $\beta$ -glucanase serta  $\beta$ -glucosidase. (i) endoglukanase, 1,4- $\beta$ -D-glucan glucanohydrolase dan CMC-ase secara acak menghidrolisis bagian dalam 1,4-D-glycosidic dari glukosa. Hasil dari reaksi ini adalah memendeknya polimer glukosa secara cepat yang diikuti dengan meningkatnya gula reduksi secara perlahan-lahan; (ii) eksoglukanase, 1,4- $\beta$ -D-glucan cellobiohydrolase dan avicelase menghidrolisis rantai ujung selulosa yang tidak tereduksi dengan selobiosa sebagai struktur primer, (iii)  $\beta$ -glucosidase dan cellobiase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Robson dan Chambliss, 1989).

## 2.5. Factor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

### 2.5.1. Lama Inkubasi

Lama inkubasi adalah selang waktu yang dibutuhkan mikroorganisme untuk memperbanyak diri atau meningkatkan populasi menjadi dua kali lipat. Lama inkubasi untuk suatu spesies bakteri tidak sama pada segala kondisi bergantung pada cukup tidaknya nutrient medium serta pada seseuai tidaknya kondisi fisik (Pelczar dan Chan, 1988).

### 2.5.2. pH Optimum

Enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang dapat menghasilkan aktivitas tertinggi dalam mengkatalis suatu reaksi. Kondisi pH optimum dibutuhkan oleh enzim untuk mengaktifkan seluruh enzim yang mengikat substrat dan mengubahnya menjadi produk. Pada umumnya enzim hanya aktif pada kisaran pH yang terbatas. Enzim memiliki sisi aktif dengan gugus-gugus tertentu yang berperan sebagai katalis dalam pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Perubahan pH berpengaruh terhadap ionisasi gugus fungsi yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan konformasi enzim selulase dan sifat katalitiknya (Irawadi, 1991).

Catriona *et al.* (1994) melaporkan bahwa aktivitas selulase yang dihasilkan dari beberapa bacillus optimum pada rentang pH 5.0 – 7.0. Immanuel *et al.* (2006) melaporkan bahwa enzim selulase dari *Celluomonas*, *Bacillus* and *Micrococcus* spp, menghidrolisis substrat pada rentang pH 4.0 – 9.0, dengan aktivitas maksimum pada pH 7.0.

### 2.5.3. Temperatur

Semua proses pertumbuhan yang bergantung pada reaksi kimiawi dan laju reaksi dipengaruhi oleh temperature. Temperature juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme. Temperature inkubasi yang memungkinkan pertumbuhan tercepat selama periode waktu singkat dikenal sebagai temperature pertumbuhan optimum.

Robson *et al.* (1984), Horikoshi. (1984), Naz *et al.* (1986), Akhtar. (1998) menyatakan suhu optimum bagi kerja enzim selulase umumnya berkisar antara 40-60<sup>0</sup>C. Pengaruh suhu pada aktivitas enzim secara umum ditunjukkan melalui mekanisme kompleks yang melibatkan fenomena berlawanan dari stimulasi dan inaktivasi. Aktivitas mula-mula akan meningkat dengan makin meningkatnya suhu, namun pada suatu titik tertentu akan terjadi inaktivasi enzim yang akan ditandai dengan menurunnya aktivitas enzim.

### III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi Penelitian

##### 3.1.1. Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri sumber air panas Kecamatan Koto Parik Gadang Diateh dan Kecamatan Pauh Duo Nagari Duo Nan Tido, Kabupaten Solok Selatan, media agar untuk seleksi bakteri termofilik, media agar untuk seleksi bakteri selulolitik, kristal violet, Nutrient agar (NA), Nutrient broth (NB), aquadest, gram iodine, alcohol, safarin, malachite green, reagent nelson, buffer phosphate, CMC, yeast extract,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , ammonium chloride, trace element as a mineral source, NaOH, Lugol solution, media for enzyme production.

##### 3.1.2. Peralatan

Equipment used includes glassware, sterile petri dishes, universal bottles, inoculation loops, Bunsen burner, pipette, hot stick, electric stove, glass beaker, spoon, measuring glass, gloves, yellow tips, spirit lamp, analytical scale, aluminum foil, laminar flow, Erlenmeyer flask and Eppendorf cup, centrifuge, incubator, petri dish, reaction tube, autoclave, digital photo camera, spectrophotometer, and water shaker.

### **3.2. Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Industri Pakan Fakultas Peternakan yang terdiri dari 4 tahap :

1. Isolasi bakteri dari sumber air panas Kabupaten Solok Selatan
  - Pengambilan dan pengukuran sampel dari sumber air panas Kabupaten Solok Selatan
  - Isolasi bakteri ke Muidium NB (Peremajaan bakteri)
  - Penumbuhan kultur bakteri ke Medium NA (Medium padat)
2. Seleksi bakteri penghasil enzim selulase, dimana semua isolat bakteri ditumbuhkan pada medium selektif yang mengandung CMC (carboxy methyl cellulose) sebagai inducer.
3. Optimasi pertumbuhan bakteri penghasil enzim selulase termostabil, meliputi; penentuan lama inkubasi, pH, dan suhu pertumbuhan.
4. Produksi enzim selulase termostabil dari isolat terpilih.

### **3.3. Prosedur Penelitian**

#### Percobaan Tahap Pertama

#### **3.3.1. Isolasi Bakteri dari Sumber Air Panas Kabupaten Solok Selatan**

##### **3.3.1.1. Lokasi Pengambilan Sampel Air Panas Solok Selatan**

Sampel air panas diambil dari sumber mata air panas Kabupaten Solok Selatan, masing-masing pada 3 tempat yang berbeda yaitu Nagari Sapan, Nagari Sapan Aia Angek (Kec. Koto Gadang Parik Diateh) dan Nagari Pinang Awan (Kec. Pauh Duo). Sebelum sampel air diambil terlebih dahulu dilakukan pengukuran parameter fisika dan kimia di lapangan kerja. Parameter yang diukur pertama adalah suhu air di tiap titik pengambilan dengan menggunakan termometer yang dicelupkan selama 3 menit ke dalam tiap bagian tempat

pengambilan sampel dan di catat suhunya. Parameter kedua adalah pH air di tiap titik pengambilan diukur dengan pH meter yang dicelupkan ke permukaan air lalu angka pH yang tertera dicatat. Sampel air diambil dari bagian kolam dengan kedalaman 50 cm dari permukaan air. Sampel air diambil sebanyak 200 ml dari tiap tempat dan dimasukkan ke dalam botol steril dan diberi label. Selanjutnya sampel air di bawa ke Laboratorium Teknologi Industri Pakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang untuk dilakukan isolasi.

### **3.3.1.2. Isolasi Bakteri ke Medium NB dan Penumbuhan Kultur Bakteri ke Medium NA**

Media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri termofil terdiri Nutrien agar disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, dituang pada petri steril. Setelah media padat sebanyak 0,1 ml sampel air panas disebar dengan hoki stik pada permukaan agar, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 50 °C.

Tiap sampel air panas dibuat ulangannya 2 kali. Untuk pemurnian bakteri, tiap koloni bakteri yang tumbuh berbeda pada kultur sebelumnya. Koloni bakteri yang tumbuh harus dimurnikan dulu untuk mendapatkan single koloni dengan cara mengoreskan ke media padat, sehingga didapatkan single koloni dengan cara mengoreskan ke media padat, sehingga didapatkan single koloni.

#### **a. Pembuatan Stok Kultur**

Stok kultur disiapkan dengan cara mengores satu ose dari tiap isolat bakteri yang tumbuh di kultur pemurnian sebelumnya, dalam bentuk media miring dengan komposisi media sama seperti media pemurnian isolat.

Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 65°C, selanjutnya disimpan di kulkas untuk stok isolat. Stok kultur ini diremajakan sekali dalam 3 minggu.

b. Karakterisasi Morfologi Bakteri Penghasil Enzim Selulase Termofil

Morfologi isolat bakteri penghasil selulase diamati pada kultur isolat yang dimurnikan. Pengamatan morfologi dari tiap isolat meliputi warna koloni, bentuk koloni dilihat dari atas, permukaan koloni dilihat dari samping dan tepi koloni dilihat dari atas (Cappuccino, 1983).

Percobaan Tahap Kedua

**3.3.2. Identifikasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Selulase**

**3.3.2.1. Mengamati Zona Bening**

Bakteri yang murni atau single koloni diambil satu ose dan digores ke tiap cawan petri lain yang mengandung media agar selektif selulitik (Yeast ekstrak 0,2 %, NH<sub>4</sub> SO<sub>4</sub> 1 %, NaCl 0,05 %, TE 3,5 ml, tepung agar 5 % dan CMC 1,2%), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 50°C (Fooladi and Sajjadian, 2010). Hal ini dilakukan untuk mendapatkan biakan tunggal tiap jenis bakteri termofil penghasil selulase yang hidup pada sumber air panas. Setiap isolat murni yang dapat tumbuh diasumsikan dapat menggunakan media yang mengandung CMC tersebut. Untuk memastikannya dilakukan uji iodine dengan cara meneteskan iodine pada permukaan agar yang berisi isolat, bila terdapat zona bening pada media mengindikasikan enzim selulase diproduksi oleh isolat sehingga di daerah tersebut selulitik sudah dihidrolisis (Cappuccino, 1983).

Sedangkan media yang berwarna biru kehitaman menandakan selulitik di tempat itu belum terhidrolisis. Isolat yang menghasilkan enzim selulase menghasilkan zona bening pada agar di sekitar koloninya jika ditetesi dengan

larutan iodin dan diukur diameternya. Zona hidrolisis selulase diukur dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri. Tiga isolat terbesar zona beningnya dilanjutkan untuk diteliti.

Sebelum pengujian tiap isolat disiapkan dulu stok kulturnya pada media miring. Hal ini perlu dilakukan karena lugol membuat isolat bakteri mati karena larutan lugol bersifat desinfektan (Pelezar Dan Chan, 1988).

### 3.3.2.2. Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Secara Mikroskopis

#### a. Pewarnaan gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri, diletakkan pada kaca objek yang ditetesi 1 tetes air disebar, kemudian difiksasi dengan mememanaskannya di atas lampu bunsen. Pewarnaan dilakukan dengan kristal violet dengan memiringkan gelas objek. Setelah 1 menit dibilas dengan air secara perlahan, kemudian diberi gram iodin, setelah itu secepatnya diberi alkohol dan dibilas. Kemudian ditetaskan larutan safranin sebagai zat warna tandingan, dibiarkan satu menit, lalu dibilas dengan air dan dikeringkan perlahan dengan tissue. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop, bentuk dan penataan sel-selnya serta gramnya (Cappuccino, 1983).

#### b. Pewarnaan spora

Pewarnaan spora dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri, difiksasi pada kaca objek, lalu diberikan 2-3 tetes *Malachite green*, lalu dipanasuapkan selama 5 menit (sampai uap terlihat), didiamkan selama 1 menit, bilas dengan aquades, ditetaskan safranin dan dibiarkan selama 30 detik, lalu dikeringkan tanpa pemanasan. Setelah itu diamati dengan



mikroskop, spora berwarna hijau sedangkan bagian sel lainnya berwarna merah (Cappucinno, 1983).

#### Percobaan Tahap Ketiga

### **3.3.3. Optimasi Pertumbuhan Bakteri Selulolitik**

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mendapatkan substrat yang tepat dan kondisi optimum untuk pertumbuhan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim selulase termostabil dan kondisi optimum dalam memproduksi enzim selulase. Hasil penelitian ini akan memberikan informasi yang baru mengenai strain bakteri yang dapat menghasilkan enzim yang stabil terhadap suhu, pH yang ekstrim dan tahan terhadap enzim pencernaan.

#### **Optimasi Medium dan Kondisi Optimum Pertumbuhan Bakteri**

Isolat Bakteri ditumbuhkan pada medium basal yang mengandung selulitik sebagai sumber karbon. Perlakuan yang diteliti adalah :

##### **3.3.3.1. Lama Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2**

Lama waktu inkubasi ditentukan dengan cara menumbuhkan Isolat bakteri dalam 50 mL medium basal pH 7 mengandung 1 % selulosa (Lan *et al.*, 2002) pada temperatur 50°C (Gusmanizar *et al.*, 2008) selama 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 48 jam. Aktifitas enzim dan pertumbuhan bakteri (CFU/mL) diukur setiap semua parameter lama inkubasi. Penelitian dilakukan dengan 3 kali ulangan.

##### **3.3.3.2. Pengaruh pH Medium Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2**

pH medium untuk pertumbuhan bakteri perlu diperhatikan karena pH medium dapat berubah selama masa inkubasi akibat reaksi metabolik yang menghasilkan senyawa asam atau basa. Buffer perlu ditambahkan kedalam

medium untuk mempertahankan pH akibat produk pembuangan bakteri yang terkumpul selama masa pertumbuhan.

Pengaruh pH medium untuk pertumbuhan isolat bakteri terpilih ditentukan dengan buffer dengan pH awal 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 dan 8 diinkubasi selama optimum jam pada temperatur optimum. Penambahan buffer sesuai dengan pH yang diinginkan sebanyak 100 mM didalam medium. Buffer disiapkan berdasarkan pada Stool dan Blanchard (1990). pH buffer dalam medium basal diatur dengan penambahan menggunakan HCl atau NaOH. Aktifitas enzim dan pertumbuhan bakteri (CFU/mL) diukur setiap semua parameter pada lama inkubasi optimum. Penelitian dilakukan dengan 3 kali ulangan.

### **3.3.3.3. Temperatur Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2**

Temperatur optimum pertumbuhan ditentukan dengan menumbuhkan isolat bakteri dalam 10 mL medium basal yang mengandung 1 % selulosa pH 7 (Lan *et al.*, 2002) dan diinkubasi pada temperatur 30, 40, 50, 60, 70, 80°C (Tang *et al.*, 2008) sesuai lama inkubasi optimum parameter sebelumnya. Temperatur ini dipilih berdasarkan pada jarak temperatur antara bakteri mesofilik dan thermopilik sebagai bakteri yang berasal dari sumber air panas yang diisolasi dari daerah tropis. Aktifitas enzim dan pertumbuhan bakteri (CFU/mL) diukur setiap semua parameter pada lama inkubasi optimum. Penelitian dilakukan dengan 3 kali ulangan.

## Percobaan Tahap Keempat

### **3.3.4. Produksi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri NG2**

Satu ose kultur bakteri selulolitik dari stok kultur yang berumur 1 hari dimasukkan ke dalam media cair steril untuk perangsang pembentukan selulase. Media cair terbuat dari (gram per liter larutan), 0,2 g yeast ekstrak, 0,170 ml TE, 1%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1% CMC, untuk 100 ml aquades dan larutan kemudian disterilkan. Media yang mengandung kultur bakteri diinkubasi pada lama pertumbuhan, pH pertumbuhan dan suhu pertumbuhan pada *shakerwaterbath* dengan kecepatan 150 rpm (Ajayi, 2007).

#### **3.3.4.1. Ekstraksi Enzim dari Kultur Cair Bakteri Termofil**

Setelah diinkubasi selama 72 jam, kultur cair bakteri dimasukkan ke dalam tabung centrifuge dan diputar selama 20 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Supernatan yang mengandung ekstrak dari enzim Selulase kasar diambil dengan mikropipet untuk di uji aktivitasnya (Palmer, 1985).

#### **3.3.4.2. Pembuatan Larutan Standar Glukosa**

Aktivitas enzim selulase yang akan diuji dari ketiga isolat terpilih diplotkan ke kurva standar glukosa agar dapat diketahui berapa konsentrasi glukosa yang diperoleh dari hasil hidrolisis CMC yang dikatalis enzim selulase isolat terpilih tersebut. Untuk membuat larutan standar glukosa tersebut dibuat larutan-larutan glukosa dengan konsentrasi mulai dari 20 - 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Untuk tiap konsentrasi diambil 1 ml larutan glukosa tersebut, dan ditambahkan 1,5 ml larutan reagen DNS, divorteks, kemudian diinkubasi dididihkan selama 5 menit, didinginkan dengan air mengalir selama 15 menit, ditambah aquabidest sebanyak

20 ml, divortex, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Dari tiap hasil absorbansi masing-masing larutan glukosa dengan konsentrasi yang berbeda tersebut dibuat garis regresi yang menunjukkan hubungan linier antara absorbansi dan kadar glukosa (Junaidi, 2008).

### 3.3.5. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Termofil

Supernatan yang telah didapat adalah enzim kasar yang diambil 1% dan substrat 1% dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dimasukkan metoda Nelson (1944) dengan campuran Reagen A 25 ml dan Reagen B 1 ml di campur dan diambil 1 ml untuk di masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian di panaskan 20 menit dalam air mendidih, setelah 20 menit diangkat dan di dinginkan dengan air mengalir selama 15 menit, setelah dingin ditambah 1 ml larutan Pospomolidat dan 7 ml aguadest, baru di ukur pakai Spektrofotometer dengan panjang gelombang 575 nm. Untuk melihat besarnya satu unit aktivitas enzim tersebut digunakan rumus :

$$AE = \frac{MG}{BMg \times MI} \times 1000$$

di mana :

AE = Aktifitas enzim ( Unit/mL filtrat enzim).

MG = Mikrogram glukosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisa selulosa

BMg = Berat Molekul Glukosa = 180

MI = Masa Inkubasi = 30 menit

### 3.3.6. Penentuan Protein Enzim

Konsentrasi protein larut ditentukan dengan metode Bradford (1976) menggunakan Blue 250-G. 100 microlet enzim ditambah 1 ml Bradford reagen. Kemudian diamati perubahan warna yang dibaca pada panjang gelombang 595 nm.

### 3.4. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan 17 Maret sampai Agustus 2011 bertempat di Laboratorium Teknologi dan Industri Pakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang.



NG2 memperlihatkan kemampuan tertinggi dalam mendegradasi CMC dengan luas zona bening (0,5 – 1 cm), setelah dilakukan perwarnaan gram ternyata isolat tersebut adalah gram negatif dan berbentuk batang. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3.

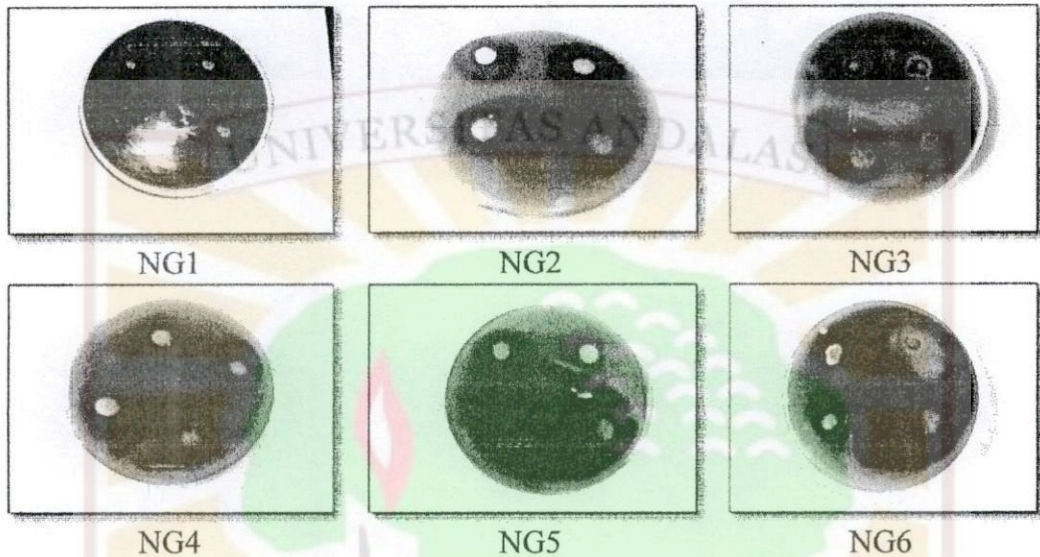


Foto 1. Hasil dari Isolat bakteri penghasil enzim selulase menggunakan CMC sebagai inducer.

Pada penelitian ini dipilih isolat NG2 sebagai isolat penghasil enzim selulase terbaik dan selanjutnya ditentukan optimum pertumbuhan bakteri yang meliputi (lama inkubasi, pH, suhu, dan produksi enzim selulase).

#### **Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase**

Identifikasi morfologi bakteri, meliputi pengamatan secara makroskopis bentuk bakteri sedangkan secara mikroskopis untuk melihat bentuk sel bakteri. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Table 3. Dimana bakteri isolat NG2, NG3, NG4, NG5, NG6, NG7 dan NG8 merupakan bakteri gram negative, didapat dengan warna merah yang terlihat dibawah mikroskop setelah melakukan perwarnaan gram, sel berbentuk batang dan berspora.

**Tabel 3.** Identifikasi morfologi bakteri penghasil enzim selulase pada air panas Kab. Solok Selatan.

Kode isolat	Makroskopis		Mikroskopis		Kemampuan Mendegradasi selulosa
	Warna	Bentuk koloni	gram	Bentuk sel	
NG1	Krem kekuningan	bulat	positif	bulat	++
NG2	Putih susu	bulat	negatif	batang	+++
NG3	Putih susu	bulat	negatif	bulat	+
NG4	Putih susu	bulat	negatif	batang	++
NG5	Putih susu	bulat	negatif	batang	++
NG6	Krem kekuningan	bulat	negatif	batang	+
NG7	Putih susu	bulat	negatif	bulat	-
NG8	Krem kekuningan	bulat	negatif	batang	-
NG9	Krem kekuningan	bulat	positif	bulat	-

Ket. Kemampuan bakteri mendegradasi CMC :

✓ +++ = 0,5 cm - 1 cm

✓ ++ = 0,1 - 0,5 cm

✓ + = 0,1 cm

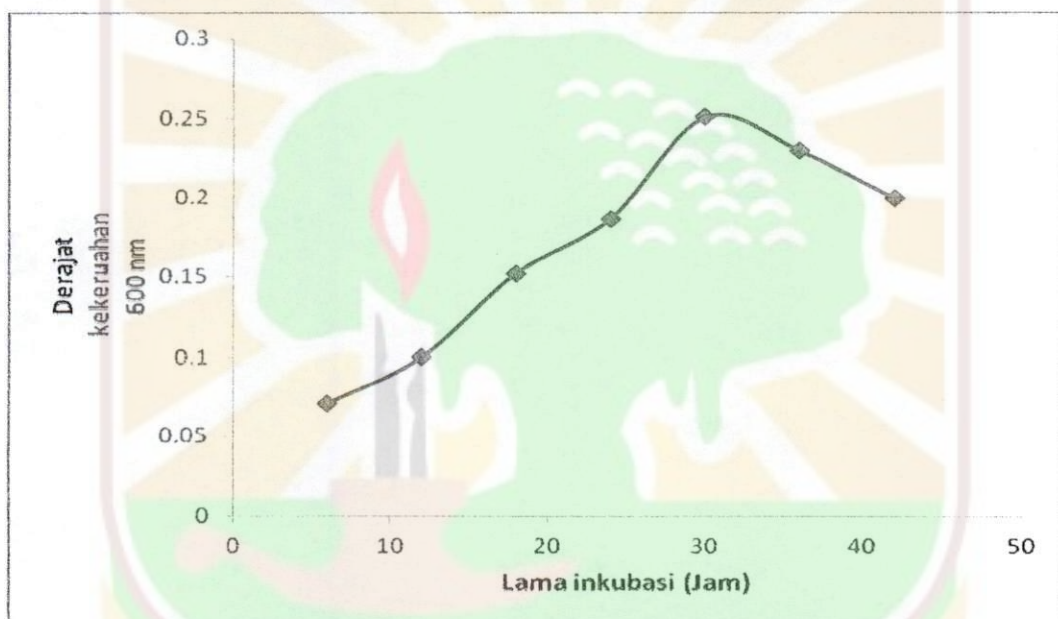
✓ - = Tidak ada kemampuan mendegradasi CMC

## Percobaan Tahap Ketiga

### 4.3. Optimasi Pertumbuhan Bakteri Penghasil Enzim Selulase

#### 4.3.1. Lama Optimum Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2

Penentuan lama inkubasi diukur pada waktu 6, 12, 18, 24, 30, dan 36 jam. Pada penelitian ini di dapat lama inkubasi optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 30 jam dengan tingkat kekeruhan adalah 0.251 Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Grafik 1.



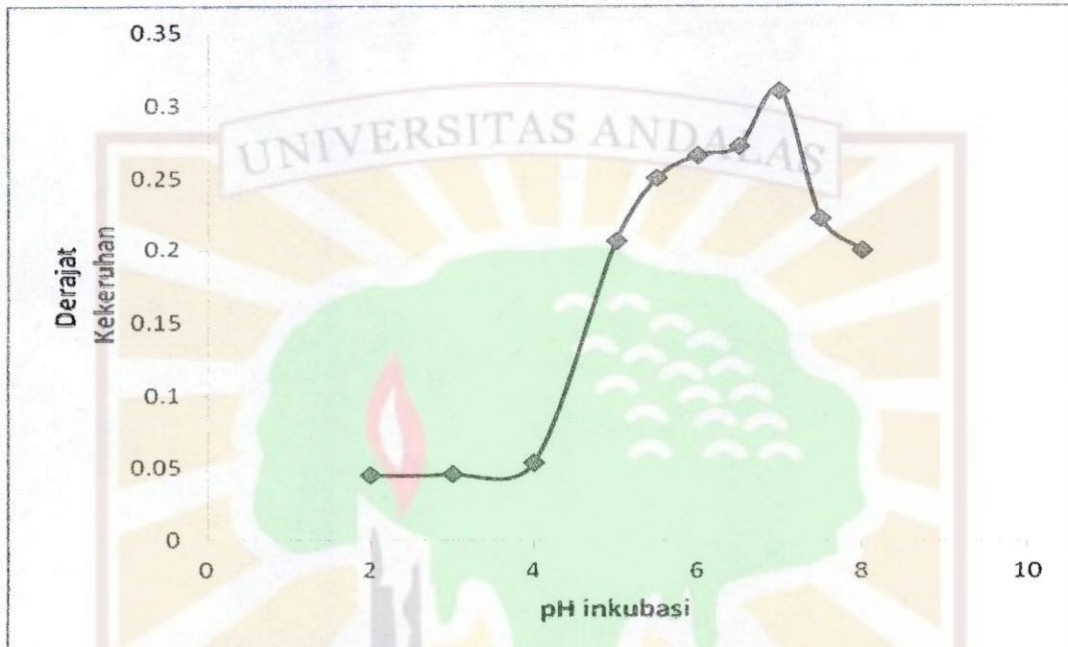
Grafik 1. Lama optimum inkubasi terhadap pertumbuhan bakteri NG2

Pada Grafik 1, dapat dilihat bahwa pola pertumbuhan isolat bakteri NG2 adalah mengikuti pola sigmoid, dimana pada lama inkubasi 6 - 12 jam adalah masa pertumbuhan lag fase atau fase penyesuaian, sementara pada 12 - 30 jam adalah fase log atau eksponensial dimana pada saat lama inkubasi 30 jam diperoleh titik optimal pertumbuhan, namun setelah itu (30 - 42 jam) adalah fase menuju kematian atau fase autolisis. Pola pertumbuhan yang sama juga dapat ditemukan pada bakteri termofilik penghasil enzim selulase yang diisolasi dari sumber air panas di Egyp (Ibrahim dan Ahmed, 2007).



#### 4.3.2. pH Medium Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2

Penentuan pH pertumbuhan yang berbeda di uji pada rentang pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, dan 8.0 dengan lama inkubasi yang didapat (30 jam) dapat dilihat pada Grafik 2.

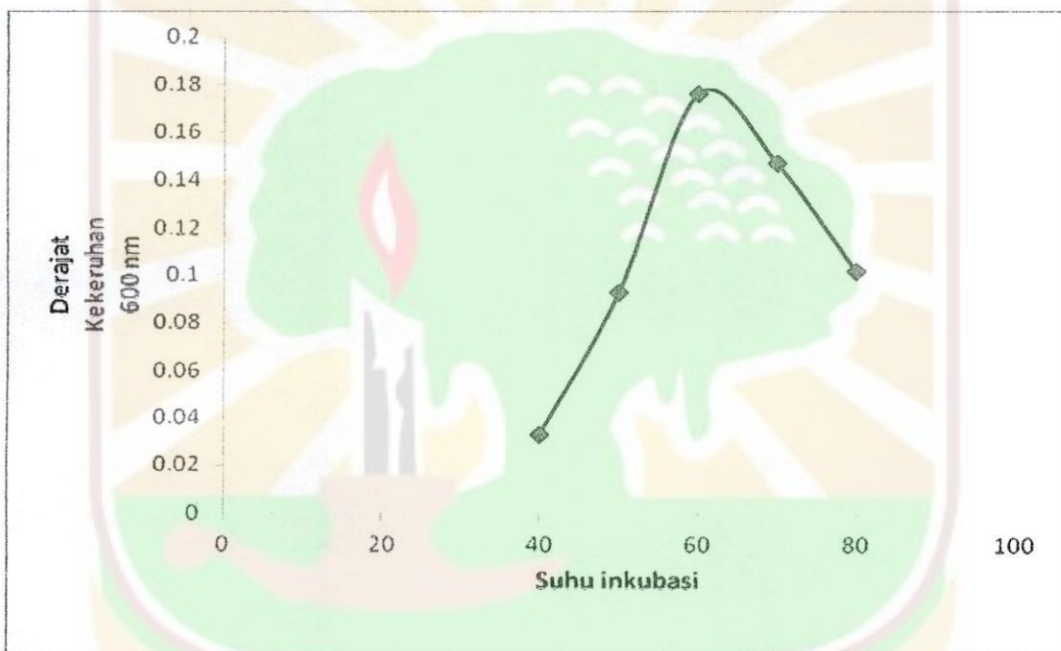


Grafik 2. pH inkubasi terhadap pertumbuhan isolat bakteri NG2

Hasil penelitian dapat dilihat bahwa pH pertumbuhan isolat bakteri NG2 cukup luas yaitu dari pH 5.0 sampai pH 8.0, dimana terlihat pada rentang pH tersebut pertumbuhan cukup bagus, namun mencapai puncaknya pada pH 7.0. Pada pH 2.0 sampai 4.0 pertumbuhan isolat bakteri NG2 tetap dan tingkat pertumbuhan rendah. Yeti dkk (2002) menyatakan aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena sifat ionic gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. Perubahan pH atau pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah. Selain itu perubahan pH juga menyebabkan denaturasi enzim dan mengakibatkan menurunnya pertumbuhan isolat bakteri NG2 dan hilangnya aktivitas enzim.

### 4.3.3. Suhu Inkubasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri NG2

Pada penentuan temperatur inkubasi ini, digunakan pH awal medium 7,0, lama inkubasi 30 jam dan temperatur inkubasi pada suhu yang berbeda yaitu dimulai 40, 50, 60, 70 dan 80 °C. Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa optimum pertumbuhan diperoleh pada suhu 60 °C. Pada suhu 50 dan 70 °C bakteri dapat tumbuh namun jumlah pertumbuhan menurun secara signifikan. Hal ini disebabkan mulai terjadinya denaturasi enzim untuk pertumbuhan.



Grafik 3. Suhu optimum terhadap pertumbuhan isolat bakteri NG2.

Ketika suhu lebih tinggi dari suhu optimum, protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat. Perubahan konformasi ini dapat menyebabkan enzim terdenaturasi (Yeti dkk, 2002). Substrat juga dapat berubah konformasinya pada suhu yang tidak sesuai, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim (Meryandini dkk, 2009).

Enzim yang memiliki aktivitas optimum pada suhu 50°C sampai dengan 80°C disebut termozim dan enzim yang memiliki aktivitas optimum di atas 80°C

disebut hipertermozim (Yeti dkk, 2002). Oleh karena itu selulase yang dihasilkan isolat NG2, termasuk termozim atau thermostabil.

#### Percobaan Tahap Keempat

#### **4.4. Produksi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri NG2**

Produksi enzim selulase dilakukan pada medium cair, dimana 100 ml medium ditempatkan pada erlenmeyer 250 ml dengan kondisi optimum (pH 7.0, suhu 60 °C, dan lama inkubasi 30 jam), dan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas selulase (Nelson, 1944) dan pengujian protein enzim (Bradford, 1976). Hasil penelitian menunjukkan aktivitas selulase adalah 34.16 U/ml dan protein enzim selulase 1,313 mg/ml. Sehingga diperoleh aktivitas spesifik 26.01 U/mg. Aktivitas enzim selulase yang didapat pada penelitian ini jauh lebih tinggi dari hasil penelitian Purwadaria (2003) yaitu hanya 0.93 U/mg oleh *Bacillus pumilus* PU 4-2 dan 2.39 U/mg oleh kapang *Aspergillus flavus*.

## V. KESIMPULAN

### 5.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa diperoleh 6 isolat bakteri asal air panas Kab. Solok Selatan penghasil enzim selulase, bakteri isolat NG2 merupakan isolat terbaik yang memiliki zona bening terbesar (0.5 – 1 cm). Bakteri isolat NG2 merupakan bakteri gram negative, berspora dan berbentuk batang. Kondisi optimum untuk aktivitas enzim selulase bakteri isolat NG2 adalah pada lama inkubasi 30 jam, pH pertumbuhan 7.0, suhu pertumbuhan 60 °C dan aktivitas spesifik enzim 26.01 U/mg.

### 5.2. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan purifikasi dan karakterisasi enzim selulase termotabil dan dapat di aplikasikan pada pembuatan pellet broiler yang berbahan dasar tongkol jagung dll.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.W.W. and Kelly, R.M. 1998. *Finding and using thermophilic enzymes*. Trends in Biotechnology 16: 329-332.
- Ajayi, O. A and Fagade, E. O. 2007. Heat activation and stability of amylase from *Bacillus species*. African Journal of Biotechnology. 6: 1181-1184.
- Akhtar, Muhammad Saleh. 1998. Bioconversion of Cellulasic Materials by the Action of Microbial Cellulases. *Thesis*. Institute of Chemistry University of the Punjab.
- Badan Pusat Statistik. 2007. Memahami data strategis yang dihasilkan BPS. Jakarta.
- Bailey MJ (1988). A note on the use to dinitrosalicylic acid for determining the products of enzymatic reactions. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 494-496.
- Bedford, M.R and G.G. Partridge. (eds). 2001. Enzyme in Farm Animal Nutrition. CABI Publishing. United Kingdom.
- Bernfeld P (1951). Enzymes of starch degradation and synthesis. In: "Advances in Enzymology" (ed. Nord FF), Interscience Publications inc. New York. pp. 379-424.
- Bradford, M. M., 1976, A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein Dye Binding, Anal. Biochem. 72: 61 - 67.
- Brock, T. D. 1985. Life at high temperatures. Science 230 : 132-138.
- Cappucino, J. G. 1983. Microbiology: A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company.
- Catriona AW, Sheila IM dan Thomas MW. 1994. Characterization of a  $\beta$ -D-Glucosidase from the anaerobic rumen fungus *neocallimastix frontalis* with particular reference to attack on cello-oligosaccharides. J. Biotechnol. 37: 217 - 227.
- Demirijian, D.C., Morris-varas, F., and Cassidy, C. S. 2001. Enzyme from extremophiles. Curr. Opln. Chem. Boil. 5: 144-151.
- Fooladi J and Sajjadian A. 2010. Screnibg the thermophilic and hypertemophilic bacterial population of three Iranian hot-spring to detect The thermostabil amylase production strain. Iranian Journal of Microbiology 2 (4): 49-53).
- Gerhartz, W. 1990. Emzymes in industry : Production and Applications. VCH Verlagsgesellschaft mbH, D. 6940. Weinheim p. 81-82.

- Gusmanizar, N., J. Suriani, Z. Asrah, M. A Syed, J. Ramli and M. Y. Shuukor. 2004. Secreening and Isolation of acrylamide-degrading bacteria from Malaysian soils. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 9 : 73.
- Hamilton (1984). Effect of ferric tartrate sodium hydroxide solvent pretreatment on enzyme hydrolysis of cellulose in corn residue, *Biotechnology and bioengntneering*. 16.
- Herbert, R. and Sharp, R. 1992. *Molekular Biology and Bioteknologi of Extermophiles*. Chapman and Hall. New York.
- Hidayat, Nur., dkk. 2006. *Mikroba industry*. Yogyakarta : penerbit Andi.
- Hisotsuyanagi, K. 1979. Stepwise introduction of regulatori genes stimulatiteg production of  $\alpha$ -amilase into *Baciilus subtilis* : Constructions of  $\alpha$ -amilase extrahyper producing strain. *Agric. Biol. Chem.* 43 : 2343-2349.
- Horikoshi K., Nakao M., Kurono Y and sashihara N. 1984. Cellulases of an alkalophilic bacillus strain isolated from soil. *Can. J. microbial.* 30: 774-779.
- Ibrahim, A. S. S. and Ahmed A. E. 2007. Isolation and Identification of New Cellulases Producing Thermophilic Bacteria. from an Egyptian Hot Spring and Some Properties of the Crude Enzyme *Australian journal of Basic and applied Sciences*, 1, (4) 473-478.
- Immanuel, G., R. Dhanusa, P. Prema and A. Palavesam, 2006. Effect of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bacteria isolated from coir retting effluents of estuarine environment. *Int. j. environ. Sci. tech.*, 3: 25-34.
- Irawadi, T. T. 1991. Laporan penelitian analisis produk hidrolisis enzim pada limbah berserat dari industry pertanian dengan metode HPLC. FMIPA, IPB, Bogor.
- Junaidi, H. M. 2008. Deteksi produksi Amilase. <http://www.blogger.com/profile/>. Dikunjungi 1 Juni 2008.
- Kulkarni N. A. 1999. Molecular dan biotechnological aspect of xylanases. *FEMS microbial.* Vol 23: 411 – 456.
- Kumar, H.D. and Swati, S. 2001. *Modern Concepts of Microbiology*, Second revised ed. Vikas Publishing House Put. Ltd., New Delhi.
- Lan, G. Q., Y. W Ho and N. Abdullah. 2002. *Mitsuokella jalaludinii* sp. nov., from the rumens of cattle in Malaysia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 713–718.

- Lorenz KJ. dan Kulp, K. (1991). Handbook of cereal science and technology. New York USA: Marcel Dekker Inc. 882.
- Marsiati, M. 1989. *Isolasi Dan Karakterisasi Enzim Selulase Dari Jamur *Volvarella volvacea**. Thesis. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Meryandini, A., Widosari, W., Marantha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., dan Satria, H, 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakteristik Enzimnya. *Makara Sains*, 13, 33-38.
- Milo, R.E., Duffner, F.M. and Muller, r. 1999. *Catechol 2, 3-dioxygenase from the thermophilic, phenol-degrading *Bacillus thermoleovarans* strain A2 has unexpected low thermal stability*. *Extremophile* 3: 185-190.
- Moszhaev, V. 1993. *Mechanism-based strategies for protein thermostabilization*. *Trends in Biotechnology* 11: 88-95.
- Mutzel, A., Reinscheid, U.M., Antranikian, G. and Muller, R. 1996. *Isolation and characterization of thermostable bacillus strain that degrade phenol and cresol as sole carbon source at 70 °C*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46: 593-596.
- Naz BA., Akhta MW., Malik NN and Sami AJ. 1986. Production of Cellulases by a Newly Isolated Thermophilik *Bacillus*. *Pakistan Journal of Biochemistry*. 19: 19-25.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaption of somogyi method for determination of glucose, *J. Biol. Chem.*, 153-375.
- Palmer, T. 1985. Understanding enzyme. Ellishorwood publisher.
- Pason, P., K. Ratanakhanokchai and K.L., Kyu. 2003. *Multiple Cellulases and Xylanases of *Bacillus circulans* B-6*. *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics Vol. 16*. Proceedings of Project Seminars in 2000-2003 for JSPS-NCRT/DOST/LIPI/VCC. IC Biotech, japan p. 305-310.
- Pelczar, M. J. dan E. C. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Purnomo, H. dan Rochma, F. A. (2004). Pembuatan Glukosa Dari Bagas Secara Enzimatik Dengan Perlakuan Pendahuluan. Skripsi. Institute Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Purwadaria, T., Marbun, A., Sinurat A. P. Ketaren., P. P. 2003. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap JITV. Vol 8, No 4. 2003.
- Robson, L. M. And G. H. Chambliss. 1989. *Enzymes Microbial Technology*. 11: 626-644.

- Robson, Lori M & Glenn H Chambliss. 1984. Characterization of the cellulolytic activity of a bacillus isolate. *Applied and environmental microbiology* : 1039-1046.
- Rosia, Viona. 2002. Amabilisasi enzim selulase dari *trichoderma viridae* dengan matriks perlit yang telah dimodifikasi. Skripsi jurusan kimia FMIPA Universitas Andalas.
- Saha, B.C. 2004. *Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology*. US Government Work. American Chemical Society. 2-14.
- Stoll, V. S. and Blanchard, J. S. 1990. Buffers: Principles and Practice. In *Methods in Enzymology, Guide to Protein Purification* (Edited by: Deutscher MP). San Diego, CA., Academic Press, Inc. 182:24-38.
- Tang, K., R. S. Kobayashi, V. Champreda, L. Eurwilaichitr and S. Tanapongpipat. 2008. Isolation and Characterization of a Novel Thermostable Neopullulanase-Like Enzyme from a Hot Spring in Thailand. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 72 (6): 1448-1456.
- Yetti, M., Agustian and Gusmanizar N. 2002. Isolasi, produksi dan karakterisasi enzim selulase dari kapang endophytic dan aplikasinya dalam meningkatkan kualitas pakan. Laporan penelitian Hibah Bersaing (Dikti/X/2002).
- Yonipa, R. S., 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Fitase dari Sumber Air Panas Rimbo Panti Pasaman. Skripsi.







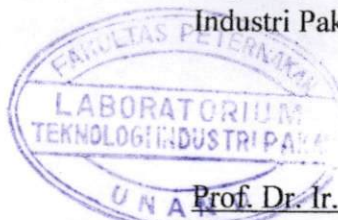
**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL**  
**LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN**  
**JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK**  
**FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS**  
**Kampus Limau Manis, Padang 25163**

Kepada Yth.  
Sdr. Don Kenedi (07 162 022)  
Mahasiswa Fakultas Peternakan  
Di Padang

Hasil data pengukuran absorban dari lama pertumbuhan isolat NG2

Kode isolat	Lama inkubasi (jam)	Ulangan	Absorban	Rataan
NG2	6	1	0.092	0.071
		2	0.066	
		3	0.056	
	12	1	0.122	0.1
		2	0.092	
		3	0.086	
	18	1	0.131	0.152
		2	0.272	
		3	0.174	
	24	1	0.545	0.171
		2	0.131	
		3	0.211	
	30	1	0.146	0.251
		2	0.577	
		3	0.357	
36	1	0.215	0.222	
	2	0.181		
	3	0.229		
42	1	0.201	0.206	
	2	0.208		
	3	0.215		

Padang, Juli 2012  
Kepala Laboratorium Teknologi  
Industri Pakan



Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS  
NIP: 131839480



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN  
JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS  
Kampus Limau Manis, Padang 25163

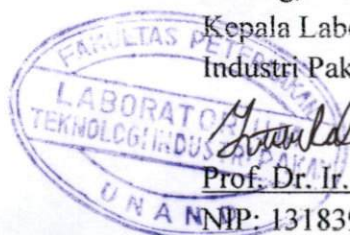
Kepada Yth.  
Sdr. Don Kenedi (07 162 022)  
Mahasiswa Fakultas Peternakan  
Di Padang

Hasil data pengukuran absorban dari pH pertumbuhan isolat NG2

Kode isolat	pH	Ulangan	Absorban	Rataan
NG2	2	1	0.046	0.045
		2	0.041	
		3	0.048	
	3	1	0.046	0.046
		2	0.048	
		3	0.043	
	4	1	0.046	0.054
		2	0.056	
		3	0.061	
	5	1	0.226	0.206
		2	0.252	
		3	0.187	
	5.5	1	0.237	0.250
		2	0.171	
		3	0.264	
	6	1	0.237	0.266
		2	0.248	
		3	0.284	
	6.5	1	0.248	0.272
		2	0.244	
		3	0.301	
	7	1	0.301	0.310
		2	0.284	
		3	0.319	
7.5	1	0.229	0.222	
	2	0.292		
	3	0.215		
8	1	0.229	0.200	
	2	0.171		
	3	0.201		

Padang, Juli 2012

Kepala Laboratorium Teknologi  
Industri Pakan



Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS

NIP: 131839480



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN  
JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS  
Kampus Limau Manis, Padang 25163

Kepada Yth.  
Sdr. Don Kenedi (07 162 022)  
Mahasiswa Fakultas Peternakan  
Di Padang

Hasil data pengukuran absorban dari suhu pertumbuhan isolat NG2

Kode isolat	Lama inkubasi (jam)	Ulangan	Absorban	Rataan
NG2	40	1	0.041	0.033
		2	0.041	
		3	0.018	
	50	1	0.076	0.093
		2	0.086	
		3	0.119	
	60	1	0.168	0.176
		2	0.177	
		3	0.194	
	70	1	0.102	0.106
		2	0.102	
		3	0.114	
	80	1	0.036	0.039
		2	0.036	
		3	0.046	

Padang, Juli 2012

Kepala Laboratorium Teknologi  
Industri Pakan



Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS

NIP: 131839480



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN  
JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS  
Kampus Limau Manis, Padang 25163

Kepada Yth.  
Sdr. Don Kenedi (07 162 022)  
Mahasiswa Fakultas Peternakan  
Di Padang

Hasil data pengukuran absorban dari protein enzim

Kode isolat	Tabung	Ulangan	Absorban	Protein enzim (mg/ml)	Total	Rataan (mg/ml)
NG2	1	1	0.248	1.377	11.818	1.313
		2	0.268	1.488		
		3	0.233	1.294		
	2	1	0.204	1.133		
		2	0.252	1.400		
		3	0.204	1.133		
	3	1	0.68	1.488		
		2	0.222	1.233		
		3	0.229	1.272		

Padang, Juli 2012  
Kepala Laboratorium Teknologi  
Industri Pakan



Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS  
NIP. 131839480



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN  
JURUSAN NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK  
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS  
Kampus Limau Manis, Padang 25163

Kepada Yth.  
Sdr. Don Kenedi (07 162 022)  
Mahasiswa Fakultas Peternakan  
Di Padang

Hasil data pengukuran absorban dari mikrogram glukosa dan aktivitas enzim

Kode isolat	Tabung	Ulangan	Absorban	Mikrogram glukosa	Aktivitas enzim (Unit/ml)	Total	Total Aktivitas spesifik (Unit/ml)
NG2	1	1	0.171	0.177	34.50	307.44	34.16
		2	0.161	0.167	34.57		
		3	0.181	0.188	34.62		
	2	1	0.155	0.161	34.62		
		2	0.194	0.201	34.53		
		3	0.174	0.180	30.92		
	3	1	0.229	0.238	34.64		
		2	0.187	0.194	34.58		
		3	0.177	0.183	34.46		

Padang, Juli 2012

Kepala Laboratorium Teknologi  
Industri Pakan



Prof. Dr. Ir. Hj. Yetti Marlida, MS

NIP: 131839480

MILIK  
UPT PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS ANDALAS