

- 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 IPB.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Selulase yang dihasilkan oleh *E. javanicum* BS4 memiliki aktivitas yang lebih tinggi pada substrat tandan sawit dibandingkan substrat polard. Oleh karena itu diperlukan suatu penelitian untuk membandingkan aktivitas enzim yang dihasilkan *P. nalgiovense* SS240 dalam substrat tandan sawit dan pengaruh senyawa nitrogen terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan.

Penelitian ini bertujuan meningkatkan produksi enzim pemecah serat *P. nalgiovense* SS240 menggunakan substrat tandan sawit dan sumber nitrogen garam nitrat.

Hipotesis yang diambil pada penelitian ini adalah tandan sawit dan Natrium nitrat mampu meningkatkan produksi enzim selulase dari *P. nalgiovense*.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Tandan Sawit

Luas tanaman kelapa sawit di Indonesia dilaporkan mencapai 2.014.000 ha pada tahun 2000 dengan laju pertumbuhan setiap tahunnya mencapai 12.6% (Liwang 2003). Sebagai konsekuensi makin meningkatnya luas tanaman kelapa sawit adalah meningkatnya produk samping hasil olahan kelapa sawit yang sedikit banyak akan menimbulkan problem baru dan perlu diantisipasi.

Selain menghasilkan *Crude Palm Oil* (CPO) sebagai komoditas utama, industri kelapa sawit juga menghasilkan beberapa jenis hasil samping yang potensial untuk digunakan sebagai bahan pakan ternak, yakni serabut mesokarp (*palm press fibre*/PPF), lumpur sawit (*palm oil sludge*/POS), dan bungkil inti sawit (*palm kernel cake*/PKC) yang diperoleh dari pabrik pengolahan kelapa sawit, serta pelepah sawit (*oil palm frond*/OPF) dan batang pohon sawit (*oil palm trunk*/OPT) yang diperoleh dari kebun kelapa sawit. Tandan kosong sawit merupakan limbah pada pabrik kelapa sawit yang jumlahnya sekitar 23% dari tandan buah segar

yang diolah (Elisabeth dan Ginting 2004). Pemanfaatan tandan kosong yang diketahui mengandung serat kasar tinggi dan diindikasikan dengan kandungan serat deterjen asam (ADF) sejumlah 61% memiliki nilai biologis yang rendah. Hingga saat ini produk samping tersebut masih dimanfaatkan sebagai bahan penutup tanah perkebunan sawit dan bahan baku pembuatan kompos. Upaya peningkatan nilai nutrisi produk samping tersebut khususnya sebagai pakan ruminansia belum banyak dilakukan (Diwyanto *et al.* 2003). Tandan sawit memiliki potensi sebagai substrat produksi enzim selulase karena tingginya kadar serat. Tabel 1 memperlihatkan hasil analisis proksimat tandan dan sabut kelapa sawit yang berasal dari limbah pengolahan sawit kelapa sawit PTP IX Sumatra Utara.

### Produksi selulase pada *P. nalgiovense*

*P. nalgiovense* merupakan salah satu jenis kapang yang termasuk dalam kelas Fungi Imperfecti. Kapang ini merupakan mikroba selulolitik yang secara spesifik mampu menghasilkan komponen selulase. Enzim selulase yang berasal dari *P. nalgiovense* S11 ini telah berhasil diproduksi pada medium cair Mendels yang diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30° C dengan konsentrasi substrat polard 2% dan kecepatan agitasi 150 rpm (Nurbayti 2002). Adapun mengenai pengaruh gula pereduksi dan perlakuan substrat telah diteliti oleh Purwadaria *et al.* (2004). Produksi selulase tertinggi dihasilkan pada substrat polar 3% dengan dicuci NaOH terlebih dahulu dan penambahan glukosa 250 ppm. Penambahan 500 ppm glukosa menyebabkan penurunan aktivitas enzim yang menunjukkan adanya pengaruh represi gula pereduksi. Sanjaya (2003) telah memproduksi mutan *P. nalgiovense* yang lebih tahan terhadap represi gula pereduksi. Isolat-isolat mutan terpilih dihasilkan dari radiasi sinar UV. Ginoga (2004) telah menguji perbandingan aktivitas selulase pada tipe dan mutan SS125, SS141, SS170, SS178, SS204

Tabel 1 Analisis proksimat tandan buah kosong dan sabut kelapa sawit

Bahan	Air	Abu	Protei n	Lemak	Serat kasar	Pati	Selulosa	Hemi selulosa	Lignin
Tandan buah kosong	8.84	6.29	2.65	6.04	40.51	18.36	32.55	31.70	22.09
Serabut	8.49	7.13	3.57	9.25	41.44	19.34	28.28	34.78	21.56

Sumber : Darwis (1988)

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 IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

dan SS240 yang diisolasi Sanjaya (2003). Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat mutan SS240 merupakan isolat mutan terpilih yang memproduksi aktivitas komponen selulase (CMCase, FPase,  $\beta$ -glukosidase) tertinggi pada medium 3% polard tanpa penambah glukosa dibandingkan isolat mutan lainnya dan tipe liarnya. Pada substrat polard dengan penambahan glukosa, isolat mutan SS240 juga menghasilkan FPase dan  $\beta$ -glukosidase lebih tinggi dibandingkan tipe liarnya. Hal ini membuktikan bahwa isolat mutan SS240 lebih tahan represi dibandingkan tipe liarnya.

### Selulosa

Selulosa merupakan komponen utama pembentuk dinding sel tanaman yang menyusun sekitar setengah dari tanaman keras dan sepertiga dari tanaman setahun. Setiap jutaan ton selulosa diproduksi oleh tanaman melalui fotosintesis. Produksi selulosa umumnya banyak digunakan dalam industri tekstil dan kertas. Sekarang ini terdapat dua cara utama yang dilakukan untuk mengonversi selulosa menjadi glukosa: kimiawi dan enzimatik. Penelitian terhadap kedua metode telah mendapat perhatian dari banyak peneliti di seluruh dunia. Setiap molekul selulosa mengandung 1000 sampai 1 juta unit D-glukosa yang dihubungkan bersama oleh ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida. Selulosa dari berbagai sumber memiliki struktur molekuler yang sama. Namun selulosa dari berbagai sumber memiliki perbedaan dari struktur kristalnya dan ikatan dengan biomolekul lainnya.

Terdapat dua jenis ikatan hidrogen pada molekul selulosa yang terbentuk antara OH pada gugus C<sub>3</sub> dan oksigen pada cincin piranosa dalam molekul yang sama dan juga antara OH pada gugus C<sub>6</sub> dari satu molekul dengan oksigen pada ikatan glikosida dari molekul yang lain. Ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida sendiri tidak terlalu sulit untuk dipecah. Namun karena ikatan hidrogen selulosa dapat membentuk kristal yang sangat kuat.

Derajat kristalisasi merupakan faktor penting yang mempengaruhi degradasi hidrolitik oleh selulase. Terdapat hubungan linear antara derajat kristalisasi dengan proses degradasi. Adanya asosiasi secara fisik dengan kristal lain seperti lignin dan hemiselulosa menghambat aktivitas hidrolitik. Kontak fisik antara enzim dan substrat sangat diperlukan untuk terjadinya aksi hidrolitik. Semakin tinggi area permukaan atau semakin

kecil partikel, semakin tinggi kemudahan proses hidrolisis.

### Kompleks enzim selulase

Selulase merupakan suatu kompleks multienzim yang bekerja bersama-sama menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Telah diketahui bersama saat ini bahwa setidaknya terdapat paling sedikit tiga enzim yang terlibat dalam hidrolisis sempurna selulosa menjadi glukosa: 1,4- $\beta$ -D-glukan selobiohidrolase (CBH) (eksoglukanase), yang secara spesifik memutus unit-unit selobiosa dari ujung nonpereduksi dari rantai selulosa; endo-1,4- $\beta$ -D-glukan 4-glukanohidrolase (endoglukanase), yang memutus ikatan internal selulosa; and  $\beta$ -D-glukosida-glukohidrolase atau  $\beta$ -D-glukosidase (selobiose), yang memutus secara spesifik unit glukosa dari ujung nonpereduksi dari selo-oligosakarida (Kim 1995).

Selobiohidrolase telah dijelaskan dalam banyak literatur terhadap aktivitasnya terhadap selulosa mikrokristal dengan selobiosa sebagai produk utama dan ketidakmampuannya menghidrolisis ikatan internal selulosa dari karboksimetil selulosa (CMC) (Kim 1995). Degradasi daerah selulosa diperkirakan terjadi sebagai hasil kerja CBH mengatalisis pelepasan selobiosa dari ujung nonpereduksi dari rantai selulosa. Kim (1995) melaporkan dalam hasil penelitiannya bahwa endoglukanase yang berasal dari bakteri *Bacillus circulans* mampu menghidrolisis avisel.

Aktivitas total selulase ditentukan dengan mengukur aktivitas campuran enzim yang menghidrolisis bahan yang mengandung selulosa dan menghasilkan glukosa sebagai produk akhir. Aktivitas total selulase menggambarkan pengaruh sinergisme antara enzim yang berbeda dan pengaruh hambatan dari produk akhir. Substrat yang digunakan adalah selulosa tak larut, sehingga diperlukan waktu reaksi yang cukup lama agar enzim dapat berdifusi ke dalam serat selulosa (Enari 1983). Substrat yang biasa digunakan adalah kertas saring Whatman No 1 atau avisel. Enzim yang menghidrolisis substrat ini dikenal sebagai FPase.

Gambar 1 memperlihatkan tahap-tahap pemecahan selulosa oleh kompleks enzim selulase. Tahap pertama, enzim endoglukanase menyerang daerah amorf dari selulosa secara acak dan membentuk makin banyak ujung-ujung nonpereduksi yang memudahkan kerja eksoglukanase. Enzim eksoglukanase selanjutnya menghidrolisis

- 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 IPB.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

daerah kristal dari selulosa dengan membebaskan dua unit glukosa. Kerja sama kedua enzim ini menghasilkan unit-unit sakarida yang lebih kecil yang selanjutnya dihidrolisis oleh  $\beta$ -glukosidase menghasilkan glukosa.

**Represi katabolit**

Represi katabolit adalah kemampuan intermediet di dalam rangkaian reaksi katabolik yang dikatalisis enzim untuk merepresi sintesis enzim katabolik. Efek ini pertama-tama terlihat pada *E. coli* yang sedang tumbuh pada media bersumber karbon bukan glukosa. Penambahan glukosa merepresi sintesis enzim yang berhubungan dengan katabolisme sumber karbon tersebut. Fenomena ini mula-mula dinamakan sebagai efek glukosa. Istilah represi katabolit digunakan karena nutrien nonglukosa yang dapat dioksidasi juga menghasilkan efek

serupa. (Murray *et al.* 2004).

Represi katabolit berlangsung dengan perantaraan cAMP. cAMP bekerja melalui suatu reseptor protein (CRP). CRP merupakan protein dimer yang memiliki dua subunit identik yang masing-masing mampu mengikat satu molekul cAMP. CRP memiliki dua domain yang berbeda. Bagian ujung N mengikat cAMP dan bagian ujung C terikat pada DNA. Adanya cAMP menyebabkan CRP melakukan perubahan konfigurasi alosterik yang menyebabkan terbentuknya ikatan dengan bagian DNA yang spesifik dekat dengan daerah promotor operon yang bergantung cAMP. Ikatan ini memungkinkan RNA polimerase untuk terikat dan memulai transkripsi pada daerah sekitar 30 sampai 50 nukleotida dari daerah pengikatan CRP. Substrat yang mampu dimetabolisme seperti glukosa secara cepat meningkatkan konsentrasi ATP dan menurunkan cAMP sehingga merepresi operon yang bergantung pada cAMP (Fennington *et al.* 1984).

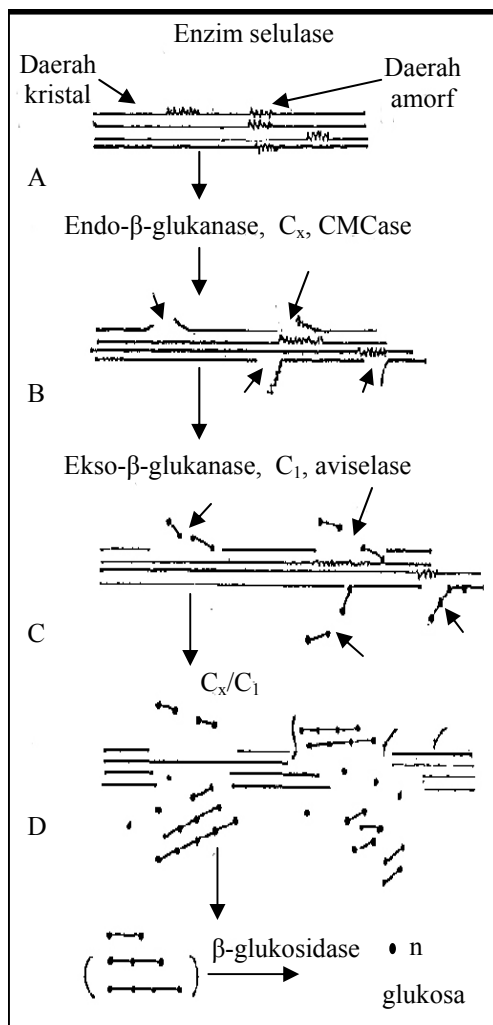
Selulase merupakan enzim induktif yang biosintesisnya dipengaruhi oleh induser dan represor. Selulosa, selobiosa, saforos dan laktosa merupakan induser selulase, sedangkan glukosa dan gliserol dikenal sebagai represor yang efektif. Hal ini sejalan dengan pernyataan Gong dan Tsao (1979) yang menyatakan bahwa berlebihnya gula terlarut di dalam pertumbuhan sel dapat menekan produksi enzim.

**BAHAN DAN METODE**

**Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian yaitu autopipet 250-1000  $\mu$ l dan 40-200  $\mu$ l, sentrifus berpendingin Beckman GS-ISR, sentrifus Clements model B-Universal, spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, penangas air, inkubator bergoyang, *magnetic stirrer*, autoklaf, *Willey Mill*, oven, tanur, dan lemari pendingin.

Bahan-bahan yang dipakai yaitu kapang *Penicillium nalgiovense* SS240 dan *Eupenicillium javanicum* BS4 koleksi Balai Penelitian Ternak, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *yeast extract*, bacto pepton, NaOH 0.5%, medium Mandels, tandan sawit, polard gandum, Natrium azida 20%, *Comassie Brilliant Blue* (CBB), *Bovine Serum Albumin* (BSA), asam dinitrosalisilat (DNS), bufer sitrat, glukosa, kertas saring Whatman no.1, p-nitrofenil-glukosida (p-NPC) dan p-nitrofenol.



Gambar 1 Skema tahap-tahap pemecahan selulosa