

**PRODUKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM SELULASE EKSTRAK KASAR DARI BAKTERI YANG DIISOLASI DARI LIMBAH RUMPUT LAUT****PRODUCTION AND CHARACTERIZATION CELLULOSE ENZYME CRUDE EXTRACT FROM BACTERIA ISOLATED FROM SEAWEED WASTE**Isna Rahma Dini<sup>1\*</sup>, Ifah Munifah<sup>2</sup>**INFO ARTIKEL**

Submit: 1 Agustus 2014  
Perbaikan: 4 September 2014  
Diterima: 9 September 2014

**Keywords:**

cellulose, characterization,  
production, seaweed waste

**ABSTRACT**

Seaweed waste is a source of bacteria that can produce cellulase enzyme. PMP 0126w isolate is one collection isolate of BBP4BKP obtained from seaweed *Glacilaria* sp waste from Pameungpeuk area, Garut, West Java. The aims of this research were to produce and characterize the cellulase enzyme. PMP 0126w isolate was a Gram-positive rod shape bacteria. The isolate had 0.8 cellulolytic index on Carboxymethyl Cellulose (CMC) agar medium. The highest cellulase activity obtained on the third day of fermentation time with a cellulase activity of 0,074 U/mL and specific activity of 0.092 U/mg. Optimum activity of the cellulase enzyme crude extract was pH 5 and 30°C. The activity of the cellulase was increased by addition of 5 mM CaCl<sub>2</sub> and 10 mM FeCl<sub>3</sub> ions and decreased by the addition of 10 mM ZnCl<sub>2</sub> ions. The cellulase with the highest activity of 0.237 U/mL was obtained from *Glacilaria* sp. seaweed waste treated with NaOH 6%.

**1. PENDAHULUAN**

Perkembangan industri berbasis hayati dengan memanfaatkan senyawa biologi seperti enzim yang berasal dari mikroorganisme seperti bakteri dan kapang terus ditingkatkan di berbagai negara. Salah satu sumber isolat bakteri penghasil enzim yaitu limbah hasil pengolahan rumput laut. Pengolahan agar-agar memanfaatkan rumput laut jenis *Glacilaria* sp., sedangkan karagenan menggunakan rumput laut jenis *Eucheuma* sp. Berbagai industri rumput laut yang dilakukan menghasilkan limbah sekitar 65-75% dari bahan baku segar yang diolah (Kim *et al.*, 2008).

Peningkatan pengolahan rumput laut *Glacilaria* sp. menjadi agar-agar dapat menimbulkan masalah pencemaran karena limbah selulosa tersebut sangat sulit larut dalam air. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan ialah dengan mengisolasi bakteri dari limbah rumput laut. Bakteri yang hidup pada limbah ini diduga dapat menghasilkan enzim yang dapat menguraikan limbah selulosa menjadi sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri tersebut diharapkan dapat menghidrolisis limbah selulosa menjadi glukosa. Glukosa merupakan bahan untuk fermentasi dalam memproduksi bioetanol, sehingga pemanfaatan limbah selulosa dan bakteri penghasil enzim penghidrolisis selulosa dapat memberikan peluang pada pengembangan bioenergi.

Enzim selulase adalah suatu sistem enzim yang terdiri atas tiga tipe enzim utama yaitu kompleks endo- $\beta$ -1,4-glukanase (CMCase, Cx selulase endoselulase, atau carboxymethylcellulase), kompleks ekso- $\beta$ -1,4-glukanase (aviselase,

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kampus Bina Widya, Pekanbaru, Indonesia

<sup>2</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP)

\*email: [isna\\_radin@yahoo.com](mailto:isna_radin@yahoo.com)

selobiohidrolase, C1 selulase), dan  $\beta$ -1,4-glukosidase atau selobiase (Crueger and Crueger, 1984). Selanjutnya Kulp (1984) menambahkan bahwa enzim selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa dengan memutus ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 dalam selulosa, selodektrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya menjadi gula sederhana atau glukosa.

Selain dalam bidang industri, pemanfaatan enzim selulase dari bakteri dapat memberikan solusi dalam masalah pencemaran yakni mengurangi jumlah limbah selulosa seperti rumput laut serta dapat menjadi nilai tambah terhadap pemanfaatan limbah rumput laut tersebut. Pada akhirnya beberapa isolat bakteri yang memiliki aktivitas selulase ekstraseluler salah satunya isolat PMP 0126w berhasil diisolasi dari limbah pengolahan agar-agar rumput laut *Glacilaria* sp. dari daerah Pameungpeuk, Subang Jawa Barat (Munifah *et al.*, 2011). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk memproduksi dan mengkarakterisasi enzim selulase dari isolat bakteri PMP 0126w.

## 2. MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP), dari bulan Februari 2011-Februari 2012.

### A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain ialah isolat PMP 0126w koleksi dari BBP4BKP hasil isolasi dari limbah pengolahan rumput laut *Glacilaria* sp. dari daerah Pameungpeuk Jawa Barat. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu agar-agar nutrisi (NA), kaldu nutrisi (NB), Carboxymethyl Cellulose (CMC),  $MgSO_{4.7}H_2O$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $FeSO_{4.7}H_2O$ ,  $CaCl_{2.2}H_2O$ , ekstrak khamir,  $NH_4NO_3$ ,  $KH_2PO_4$ , glukosa. Bahan kimia lain yang digunakan antara lain yaitu bovine serum albumin (BSA) standar, sodium tartarat, asam dinitrosalisilat (DNS), bufer sitrat-fosfat, bufer asetat, bufer tris-HCl, NaCl, etanol, merah kongo.

Alat yang digunakan antara lain : laminar/*transfer box* (Labconco), jarum tanam bulat (ose), jarum tanam tajam, marker OHP permanen, penggaris, gunting, pemantik api mekanik, cawan petri steril, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, gelas *beaker*, gelas ukur, pembakar spiritus, botol alkohol, spatel Drygalski, Colony counter (Chiltern), spektrofotometer UV (Spectronic ® 20 Genesys TM), sentrifus mikro

suhu rendah (Beckman Coulter TM Microfuge ® 22 R Centrifuge), timbangan analitik (Mettler Toledo Model : ML204/02 Type New Classic MF), timbangan digital (Mettler PE 360 Deltra Range®), pemanas air kompor listrik (Maspion), vorteks (Thermolyne maxi mix plus), tabung mikro, autoklaf (Hirayama Tokyo Japan), oven (Sanyo), inkubator (GallenKamp), inkubator statis/goyang (Shel Lab), mikropipet 10 mL, 1 mL, 200  $\mu$ L, dan 20  $\mu$ L (NICHIRYO Tokyo Japan), lemari pendingin, dan batang pengaduk.

### B. Peremajaan dan Pengamatan Morfologi Isolat PMP 0126w

Isolat PMP 0126w diremajakan dalam media nutrisi agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam. Kemudian, dilakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui morfologi isolat PMP 0126w.

### C. Uji Kualitatif Enzim Selulase

Uji kualitatif selulase dilakukan berdasarkan metode dari Kader dan Omar (1998), di mana :

Indeks selulolitik =

$$\frac{\text{diameter zona bening (mm)} - \text{diameter koloni (mm)}}{\text{diameter koloni (mm)}}$$

### D. Penentuan Waktu Optimum Aktivitas Enzim Selulase

Penentuan waktu optimum produksi enzim selulase diawali dengan penentuan waktu penuangan inokulum. Hal ini dilakukan agar dapat diketahui waktu pertumbuhan eksponensial bakteri pada inokulum yang akan digunakan. Penentuan waktu inokulum dilakukan dengan mengkultur 2 lup isolat di dalam 10 mL kaldu nutrisi dan diinkubasi selama 12-14 jam, kemudian dituang ke dalam 50 mL media cair CMC. Kultur diinkubasi pada suhu 30 °C di dalam penangas goyang dengan kecepatan agitasi 150 rpm. Pengambilan sampel dilakukan selama 27 jam inkubasi dengan rentang waktu sampling 3 jam untuk diukur nilai Optical Density (OD) pada panjang gelombang 600 nm. Setelah itu, dibuat kurva pertumbuhan bakteri untuk menentukan waktu yang terbaik pada penuangan inokulum pada media produksi.

Selanjutnya dilakukan penentuan waktu optimum aktivitas enzim selulase. Sebanyak 5 mL kaldu nutrisi yang telah mengandung biakan sel diinokulasikan ke dalam 25 mL media inokulum yang mengandung glukosa 0,1%. Inokulum tersebut dituang ke dalam 250 mL media produksi tanpa glukosa (sebanyak 10% dari media produksi). Waktu penuangan inokulum dilihat

dari waktu pertumbuhan eksponensial bakteri (fase pertumbuhan logaritmik) yang telah diketahui dari kurva pertumbuhan bakteri. Pengambilan sampel dilakukan setiap hari selama 6 hari waktu inkubasi dilakukan.

Supernatan yang dihasilkan kemudian diuji aktivitas enzimnya dengan menggunakan metode Miller yang dimodifikasi berdasarkan absorbansi maksimum larutan pereaksi (Wood and Saddler 1988). Larutan sampel disentrifugasi pada suhu 4 °C dengan kecepatan 9000 x g selama 10 menit. Sebanyak 1,8 mL substrat (selulosa 1%) yang dilarutkan dalam 0,1 M bufer sitrat fosfat pH 5, kemudian ditambah dengan 0,2 mL enzim selulase, dikocok kuat dengan vortex, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30 °C, dan reaksi enzim dihentikan dengan pendidihan pada suhu 100 °C selama 15 menit. Setelah itu, diambil sebanyak 1 mL dari campuran reaksi dan ditambah dengan 1 mL DNS, dididihkan pada suhu 100 °C selama 15 menit.

Setelah larutan dingin absorbansi diukur pada λ 575 nm. Perlakuan kontrol dan blanko dilakukan secara bersamaan dengan metode dan tahapan yang sama. Pada kontrol, enzim yang akan direaksikan dengan substrat telah dinaktivasi terlebih dahulu dengan memanaskan enzim selama 15 menit dalam air mendidih. Pada blanko, larutan enzim diganti dengan akuades untuk direaksikan dengan substrat. Aktivitas enzim diukur pada setiap pengambilan sampel yang dilakukan sehingga dapat diketahui waktu optimum produksi enzim selulase.

Aktivitas selulase dinyatakan dalam satuan internasional yaitu U/mL. Satu unit merupakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk memecah 1 μmol selulosa menjadi gula pereduksi per menit pada kondisi pengujian. Kadar glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa dengan enzim selulase berdasarkan nilai absorbansi pada λ 575 nm.

$$\text{Kadar glukosa} = ((A_s - A_b) - (A_k - A_b))$$

$$\text{Aktivitas selulase (U/mL)} = \frac{\text{Kadar glukosa} \times \text{faktor pengenceran} \times 1000}{V \times t \times \text{BM}}$$

Keterangan :

A<sub>s</sub> = Absorbansi sampel

A<sub>b</sub> = Absorbansi blanko

A<sub>k</sub> = Absorbansi kontrol

V = volume enzim(0,2 mL)

t = waktu inkubasi (30 menit)

BM = BM glukosa (180 dalton)

## E. Produksi dan Karakterisasi Enzim Ekstrak Kasar Selulase

Produksi enzim selulase dilakukan dengan kondisi dan tahapan yang sama dengan penentuan waktu optimum enzim. Enzim selulase dipanen pada hari optimum aktivitas selulase tertinggi. Enzim selulase ekstrak kasar dipisahkan dari pelet bakteri dengan sentrifugasi 10.000 x g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Kemudian, enzim selulase dikarakterisasi meliputi pH optimum menggunakan bufer asetat (pH 3-5), sitrat posfat (pH 5-7), dan tris-HCl (pH 7-9). Selain itu juga dilakukan karakterisasi suhu optimum (20-90 °C), pengaruh ion logam, dan substrat spesifik. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan sesuai dengan metode pengukuran aktivitas enzim untuk penentuan waktu optimum aktivitas enzim selulase.

## F. Pengukuran Kadar Protein

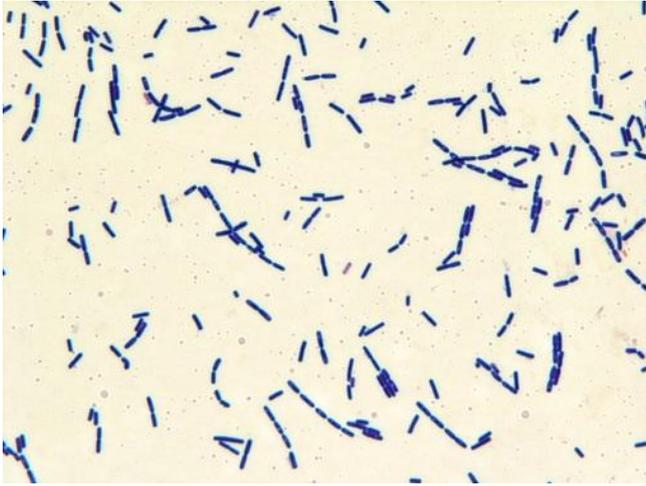
Enzim merupakan suatu protein di mana sangat diperlukan dalam pengukuran enzim juga diketahui aktivitas spesifiknya untuk mengetahui berapa aktivitas enzim sesungguhnya yang dihasilkan oleh protein enzim tersebut. Oleh sebab itu, diperlukan pengukuran kadar protein enzim yang dihasilkan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi yang diperoleh ke dalam kurva standar protein. Pengukuran kadar protein enzim selulase yang dihasilkan menggunakan metode Bradford (1976). Pembuatan kurva standar menggunakan bovine serum albumin (BSA) pada kisaran 0,1-1,0 mg/mL dengan absorbansi λ 280 nm.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat PMP 0126w merupakan salah satu isolat koleksi dari BBP4BKP yang diisolasi dari limbah pengolahan rumput laut menjadi agar-agar di daerah Pameungpeuk, Garut Jawa Barat. Secara morfologi, isolat ini memiliki bentuk koloni putih. Setelah dilakukan pewarnaan gram dan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, isolat ini tergolong ke dalam bakteri Gram positif dan berbentuk batang (Gambar 1).

Isolat PMP 0126w diketahui memiliki aktivitas selulase yang terlihat dari uji kualitatif bakteri pada media agar yang mengandung media CMC 1%. Setelah dilakukan inkubasi selama 5 hari, terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri. Berdasarkan hasil pengukuran, indeks selulolitik yang dihasilkan sebesar 0,8. Menurut Hankin dan Anagnostakis (1997), luas zona bening yang dihasilkan bergantung pada konsentrasi CMC dan agar-agar yang digunakan. Semakin banyak CMC dan agar-agar yang diberikan maka akan

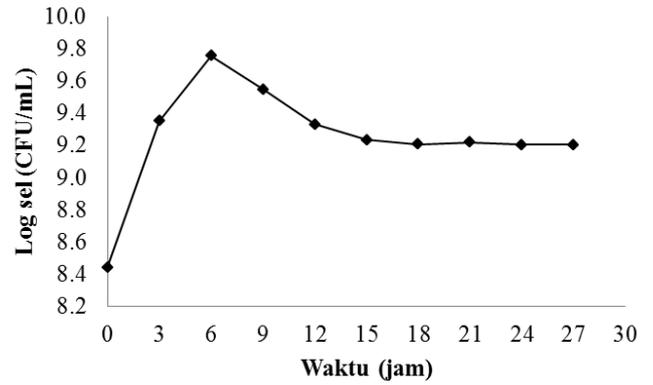
menyebabkan pori-pori mengecil sehingga enzim selulase yang disekresikan lebih sulit melewati pori-pori tersebut dan mengakibatkan terhambatnya proses degradasi. Zverlova *et al.* (2003) menambahkan bahwa diameter zona bening umumnya berukuran lebih besar dibandingkan dengan diameter koloni, karena enzim selulase disekresikan ke lingkungan sekitarnya oleh bakteri pendegradasi selulosa.



Gambar 1. Isolat PMP 0126w dari Pameungpeuk, Garut Jawa Barat merupakan Gram positif berbentuk batang (pembesaran 1000x)

Setelah dilakukan uji kualitatif selulase pada media agar, maka dilanjutkan dengan pengukuran kurva pertumbuhan isolat PMP 0126w pada media CMC 1%. Kurva pertumbuhan bakteri yang dilakukan digunakan untuk menentukan waktu terbaik untuk penuangan media starter ke dalam media produksi. Berdasarkan hasil pengamatan, waktu terbaik penuangan starter ke dalam media produksi yaitu setelah waktu inkubasi 3-6 jam. Pada waktu inkubasi tersebut merupakan fase logaritmik isolat PMP 0126w yang menghasilkan sebesar 9,4-9,8 log<sub>10</sub> CFU/mL pada (Gambar 2). Penuangan starter sebaiknya dilakukan pada saat pertumbuhan logaritmik di mana menurut Dwijoseputro (2010) menyatakan bahwa fase logaritmik pembiakan bakteri berlangsung sangat cepat sehingga bakteri yang berada dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum.

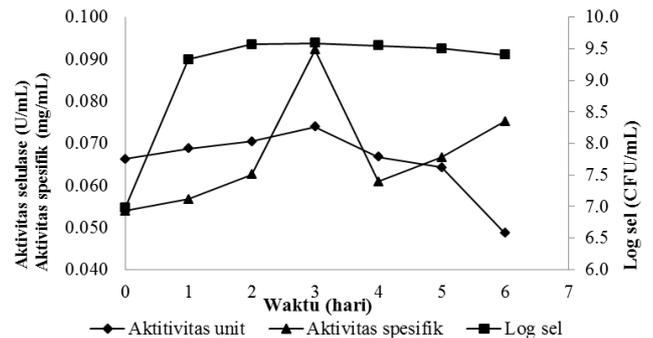
Laju pertumbuhan bakteri pada fase logaritmik (antara 3-6 jam waktu inkubasi) digunakan sebagai penentuan waktu terbaik untuk penuangan media inokulum ke media produksi. Hal ini dilakukan agar isolat tidak membutuhkan waktu lama untuk fase adaptasi di dalam media produksi sehingga diharapkan produksi enzim selulase pada media produksi lebih cepat.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat PMP 0126w

**A. Optimasi Enzim Selulase PMP 0126w**

Optimasi produksi enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat PMP 0126w diperoleh aktivitas selulase tertinggi pada hari ketiga waktu fermentasi yaitu sebesar 0,074 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,092 U/mg dan kadar protein sebesar 0,802 mg/mL. Hasil pengukuran aktivitas selulase dan aktivitas spesifik dapat dilihat pada Gambar 3.



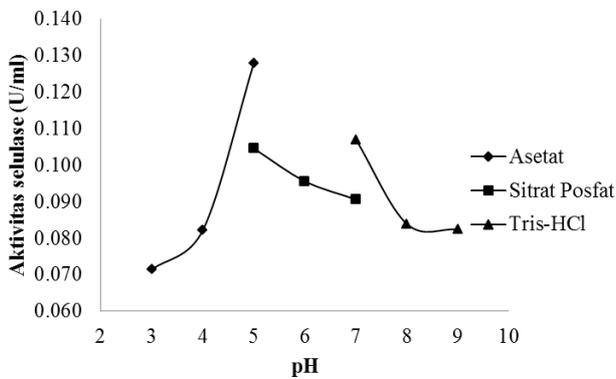
Gambar 3. Kurva aktivitas selulase, aktivitas spesifik, dan jumlah sel bakteri PMP 0126w

Pada Gambar 3 dapat juga dilihat bahwa isolat PMP 0126w mengalami pertumbuhan eksponensial pada media produksi pada hari pertama dan kedua yaitu sebesar sebesar 9,3-9,6 log<sub>10</sub> CFU/mL, dan pada hari ketiga bakteri mengalami fase stasioner (jumlah bakteri hidup dan mati sebanding). Hal ini diduga sumber karbon pada media mulai berkurang atau habis sehingga isolat PMP 0126w mulai memanfaatkan CMC sebagai sumber karbon dengan enzim selulase yang dihasilkannya sehingga diperoleh aktivitas selulase tertinggi pada hari ketiga inkubasi.

**B. Karakterisasi Enzim Ekstrak Kasar Selulase PMP 0126w**

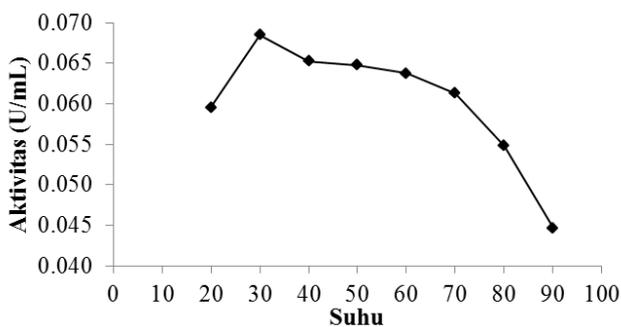
Setiap isolat bakteri memiliki karakteristik pH dan suhu optimum yang berbeda. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH karena sifat ionik gugus

karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH sehingga apabila terjadi perubahan pH maka akan menyebabkan denaturasi enzim dan menghilangkan aktivitas enzim. Enzim selulase PMP 0126w ekstrak kasar menghasilkan aktivitas optimum pada bufer asetat 0,05 mM pH 5 dengan aktivitas selulase masing-masing 0,128 U/mL (Gambar 4). Daya katalis enzim akan menjadi rendah maupun tinggi karena terjadinya denaturasi protein. Enzim mempunyai gugus aktif yang bermuatan positif dan negatif. Aktivitas enzim akan optimum jika terdapat keseimbangan antara kedua muatannya. Pada keadaan asam, muatannya cenderung positif dan pada keadaan basa muatannya cenderung negatif sehingga aktivitas enzimnya menjadi berkurang dan bahkan menjadi tidak aktif.



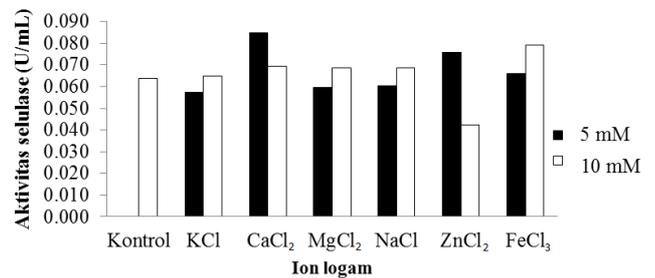
Gambar 4. pH optimum aktivitas selulase PMP 0126w

Selain pH, suhu sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase. Maka selanjutnya dilakukan pengujian karakterisasi suhu untuk mencari suhu optimum. Suhu optimum yaitu suhu yang menyebabkan terjadinya reaksi kimia dengan kecepatan paling besar. Bila suhu yang digunakan melebihi suhu optimum akan terjadi kerusakan struktur enzim (Mutia *et al.*, 2013). Diketahui bahwa suhu optimum aktivitas selulase PMP 0126w yaitu pada suhu 30 °C yang menghasilkan aktivitas enzim sebesar 0,068 U/ml.



Gambar 5. Suhu optimum aktivitas selulase PMP 0126w

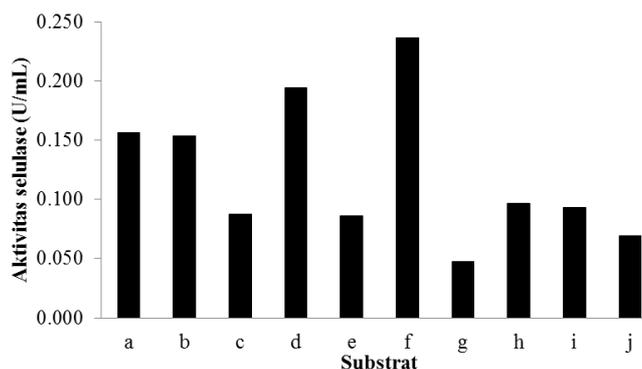
Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat PMP 0126w diketahui bahwa aktivitas enzim selulase dapat meningkat pada penambahan ion logam 5 mM dari CaCl<sub>2</sub> dan FeCl<sub>3</sub> dan menurun akibat penambahan 10 mM ion logam ZnCl<sub>2</sub> secara berturut-turut menghasilkan aktivitas sebesar 0,085 U/mL; 0,079 U/mL; dan 0,042 U/ml jika dibandingkan dengan aktivitas selulase kontrol sebesar 0,064 U/mL (Gambar 6). Scopes (1987) menyatakan bahwa ion Ca<sup>2+</sup> merupakan modelator positif yang menyebabkan perubahan konformasi sisi katalitik enzim, yang akan mempermudah interaksi antara enzim dengan substrat sehingga meningkatkan aktivitas katalitik enzim.



Gambar 6. Pengaruh penambahan logam 5 mM dan 10 mM terhadap aktivitas selulase PMP 0126w

Uji aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat diketahui bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat PMP 0126w dapat menghidrolisis substrat limbah rumput laut *Glacilaria* sp. dari limbah Pameungpeuk NaOH 6% dengan aktivitas tertinggi sebesar 0,237 U/mL. Limbah tersebut dilakukan delignifikasi dengan basa NaOH 6% (w/w). Proses delignifikasi merupakan suatu proses dalam menghilangkan lignin dari lignoselulosa yang dilakukan dengan menggunakan bahan kimia asam atau basa (Ahmed *et al.* 2001). Akan tetapi, limbah agar yang diperlakukan awal dengan asam pekat H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% (v/w) aktivitas selulase hanya sebesar 0,048 U/mL.

Substrat CMC merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk amorphous sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo-1,4-β-glukanase dimana enzim ini bekerja pada rantai dalam CMC menghasilkan oligosakarida atau rantai selulosa yang lebih pendek (Lynd *et al.*, 2002). CMC yang digunakan dalam pegujian terbagi menjadi dua yaitu CMC murni dan CMC teknis, dimana aktivitas enzim selulase pada CMC murni lebih besar yaitu sebesar 0,157 U/mL dibandingkan dengan aktivitas selulase pada CMC teknis sebesar 0,153 U/mL.



Gambar 7. Substrat spesifik isolat PMP 0126W  
Keterangan:

a) CMC murni, b) CMC teknis, c) Avicel, d) Limbah agar-agar PT. Agarindo NaOH 6%, e) Limbah agar-agar Pameungpeuk NaOH 4%, f) Limbah agar-agar Pameungpeuk NaOH 6%, g) Limbah agar-agar Pameungpeuk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, h) Limbah agar-agar Pameungpeuk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5%, i) Kertas Whatman No.1, j) Limbah alginat sargassum.

Pada substrat avicel yang merupakan substrat selulosa yang berbentuk kristalin (Kim dan Kim 1995), aktivitas selulase yang dihasilkan cukup tinggi yaitu sebesar 0,087 U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat PMP 0126w juga memiliki aktivitas enzim ekso-1,4-β-glukanase yang memotong ujung rantai oligosakarida menjadi selobiosa, yaitu dua molekul glukosa yang berikatan secara β-1,4-glikosidik (Kim dan Kim 1995). Mulcahy (1996) menambahkan bahwa bakteri pendegradasi selulosa baik aerob atau anaerob cenderung untuk mendegradasi selulosa kristalin karena degradasi biasanya dilakukan lebih dari satu enzim selulase.

#### 4. KESIMPULAN

Isolat PMP 0126w merupakan isolat yang diisolasi dari limbah pengolahan agar di daerah Pameungpeuk Garut, Jawa Barat. Isolat ini tumbuh pada suhu 30 °C, bersifat Gram positif berbentuk batang. Aktivitas enzim selulase tertinggi dihasilkan pada hari ketiga waktu inkubasi dengan aktivitas selulase sebesar 0,074 U/mL dan aktivitas spesifik sebesar 0,092 U/mg. Aktivitas selulase optimum pada bufer sitrat fosfat pH 5 dan suhu 30 °C. Penambahan substrat limbah pengolahan agar Pameungpeuk dengan perlakuan NaOH 6% pada pengujian substrat spesifik memberikan aktivitas selulase tertinggi sebesar 0,237 U/mL. Penambahan ion CaCl<sub>2</sub> 5 mM dan FeCl<sub>3</sub> 10 mM dapat meningkatkan aktivitas selulase berturut-turut sebesar 0,085 dan 0,079 U/ml sedangkan penurunan aktivitas dipengaruhi

oleh penambahan ZnCl<sub>2</sub> 10 mM yang menghasilkan 0,042 U/ml.

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan memurnikan enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat PMP 0126w agar dapat memisahkan enzim dari non protein dan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dapat ditingkatkan.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) yang telah membiayai penelitian ini sampai dengan selesai.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed Z, Banu H, Rahman M, M Akhter F, dan Haque MS. 2001. Microbial activity on the degradation lignocellulosic polysaccharides. *J Biol Sci* 1: 993-997
- Arifin H. 2006. Bacterial cellulase from a local isolate, *Bacillus pumilus* EB3. [tesis]. Kuala Lumpur: Degree of Master Science, Universiti Putra Malaysia.
- Crueger W, Crueger A. 1984. *Biotechnology* T. D. Brock, editor. A Textbook of Industrial Microbiology. Sunderland: Minuaer Associates. hlm 267-276.
- Bradford MM. 1976. A Rapid and sensitive methode for the quantitation of micogram quantities of protein in utilizing the principle of protein-dye Binding. *Anal Biochem* 72:248-254.
- Dwijoseputro D. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Hankin L, Anagnostakis SL. 1997. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect Cx cellulase activity of microorganisms. *J Gen Microbiol* 98: 109-115.
- Kader A J, Omar O. 1998. Isolation of cellulolytic fungi from Sayap-Kinabalu Park, Sabah. Serawak. *ASEAN Review of Biodiversity and Enviromental Conservation*. hlm 1-6.
- Kim CH, Kim DS. 1995. Purification and specificity of specific endo-β-D-glucanase (Avicelase II) resembling exo-cellobiohydrolase from *Bacillus circulans*. *Enzyme Microbial Technol*, 17:248-254.
- Kim GS, Myung KS, Kim YJ, Oh KK, Kim JS, Ryu HJ, Kim KH. 2008. *Methode of Producing Biofuel Using Sea Algae*. Seoul: World Intellectual Property Organization.
- Kulp K. 1984. *Teknologi Pengolahan Jerami sebagai Makanan Ternak*. Bandung: Yayasan Dian Grahita.
- Lynd LR, Paul JW, Willem H, Isak SP. 2002. *Microbiol Molecul. Bio Reviewers* 66:506.
- Mulcahy. 1996. An investigation of cellulose Binding Domain in non-cellulose binding domain in non-cellulolytic enzymes. Final year project university of Limerick.
- Munifah I, Chasanah E, Fawzuya YN. 2011. Screening of cellulolytic bacteria from Indonesia's marine environment. Di dalam: *Prosiding Seminar ISISM (International Seminar of Indonesian Society for Microbiology)*; Bogor, 26 Juni 2011. Bogor: Perhimpunan Mikrobiologi Cabang Bogor.
- Mutia M, Seniwati D, Rugaiyah A, Firdaus Z. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase dari Akar Rimpang Alang-Alang (*Imperata cylindrica*).

- Scopes RK. 1987. Protein Purification and Practice. Ed ke-2. New York: Springer Verlag.
- Wood TM, Saddler JN. 1988. Increasing the availability of cellulose in biomass materials. In Wood WA and Kellog JA, editor. *Methods in Enzymology Cellulose and Hemicellulose*. Volume ke 160. New York: Academic press. hlm 3-11.
- Zverlova VV, Holl W, and Schwarz H. 2003. Enzymes for digestion of cellulose and other polysaccharides in the gut of longhorn beetle larvae, *Rhagium inquisitor* L. (Col., Cerambycidae). *Inter Biodet Biodeg*. 51:175–179.