

# ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DARI BAKTERI SIMBION LARVA KUPU-KUPU FAMILY: *Cossidae* TERHADAP VARIASI LAMA INKUBASI

**Rina Dwismar, Maswati Baharuddin, Syamsidar HS**

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar  
Email: rhinachemy@gmail.com

**Abstract:** The study is titled Isolation and Testing Cellulase Enzymes from Bacterial Symbiont butterfly larvae Family: *Cossidae* of Variations on Old Incubation aimed to isolate cellulase enzymes in larvae of butterflies and determine the optimum incubation time of enzyme production and activity of enzymes to degrade CMC substrate. In this study, an enzyme produced from the microbial gut symbionts *Cossidae* butterfly larvae that had been cultured in media cellulolytic, then produced the long incubation variation of 0, 12, 24, 36, 48, 60, and 72 hours, crude enzyme obtained by centrifugation at a speed of 5000 rpm at 4°C and then tested enzyme activity using UV-VIS spectrophotometer. From the research result that cellulolytic bacteria can be isolated from the gut of larvae of butterflies Family: *Cossidae* with old optimum activity of cellulase enzyme production is 60 hours with a value of activity amounted to  $2,38 \times 10^{-3}$  U/mL

**Keywords:** enzymes, cellulolytic bacteria

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang mengarah pada pemanfaatan bioenergi sebagai salah satu energi terbarukan yang ramah lingkungan. Salah satu yang menjadi dasar pemanfaatan bioenergi dikarenakan Indonesia memiliki basis yang besar pada sektor pertanian, perkebunan dan kehutanan. Bioetanol merupakan produk energi alternatif yang menggunakan gula sebagai bahan baku pembuatan etanol. Sumber bahan baku yang dapat digunakan yaitu biomassa salah satunya selulosa (Agung Marssada Biorata, 2012).

Selulosa merupakan jenis karbohidrat golongan polisakarida. Karbohidrat memegang peranan penting dalam kehidupan yaitu sebagai salah satu sumber energi utama makhluk hidup. Karbohidrat terdiri atas kelompok monosakarida, disakarida dan polisakarida. Karbohidrat yang paling banyak terdapat pada tanaman, khususnya kayu yaitu polisakarida yang tersusun dari pati dan lignoselulosa (selulosa, hemiselulosa dan lignin) (Agung Marssada Biorata, 2012).

Biomassa berselulosa memiliki struktur yang kompleks. Oleh sebab itu, biomassa berselulosa merupakan material yang lebih sulit didegradasi dan dikonversi dibandingkan material berbahan dasar dari starch. Namun

demikian, hidrolisis biomassa berselulosa relatif prospektif karena menghasilkan monomer-monomer glukosa (Emy Fitriani, 2003).

Hidrolisis sempurna senyawa lignoselulosa menghasilkan glukosa yang merupakan bahan dasar bagi industri fermentasi seperti bioetanol. Potensi ini terkendala dengan sifat lignoselulosa yang sulit untuk didegradasi. Salah satu penyebab sulitnya lignoselulosa didegradasi adalah struktur kristalin dari selulosa (Emy Fitriani, 2003). Oleh karena itu diperlukan katalis untuk mempercepat proses degradasi, salah satunya menggunakan enzim.

Enzim dapat dihasilkan oleh sejumlah serangga. Namun, kebanyakan serangga dibantu berbagai mikroorganisme yang terdapat dalam sistem pencernaannya. Enzim dihasilkan oleh mikroba yang mencerna makanan. Salah satu spesies serangga yang memiliki habitat pada kayu yang juga sebagai sumber makanannya yaitu family Lepidoptera. Kebanyakan proses pencernaan terhadap karbohidrat, protein dan lipid terjadi di usus tengah (midgut), meskipun sebagian pencernaan selulosa yang disebabkan oleh enzim selulase mikroba juga terjadi di usus belakang (hindgut). Enzim selulase serangga umumnya ditemukan di usus tengah (midgut) (Agung Marssada Biorata, 2012).

Enzim dihasilkan oleh semua makhluk hidup untuk mengkatalisis reaksi biokimia dalam tubuh makhluk hidup tersebut. Enzim dalam kebutuhan industri diekstraksi dari berbagai jenis mikroorganisme sebab mikroorganisme menghasilkan enzim yang dapat dimanfaatkan manusia dalam jumlah dan jenis yang sangat bervariasi selain mikroorganismenya sendiri dapat dikulturkan untuk memperoleh enzim yang dihasilkan (Agung Marssada Biorata, 2012).

Mikroba selulolitik dari kelompok bakteri memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi selulase menjadi lebih pendek. Selain itu, tingkat variasi genetik kelompok bakteri sangat beragam sehingga memungkinkan dilakukan rekayasa genetik untuk optimasi produksi maupun aktivitas selulasenya. Berdasarkan penjelasan tersebut maka dilakukanlah penelitian ini, yaitu mengisolasi bakteri simbion yang terdapat pada saluran pencernaan serangga larva kupu-kupu Cossidae untuk memproduksi enzim selulase dan menentukan lama inkubasi optimum enzim selulase yang dihasilkan dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa.

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui cara mengisolasi enzim selulase dari bakteri simbion larva kupu-kupu dan menentukan lama inkubasi optimum enzim selulase dari bakteri simbion larva kupu-kupu terhadap aktivitas enzim.

## **2. METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juni di Laboratorium Biokimia, Laboratorium mikrobiologi (Farmasi FIKES), laboratorium Zoologi (biologi FST) dan Laboratorium Riset & Edukasi Univeristas Islam Negeri Alauddin Makassar.

## Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrofotometer uv-vis, sentrifuge dingin, autoklaf, inkubator, neraca analitik, mikropipet, shaker, laminar flow, lemari pendingin, cawan petri, bunsen, sendok tanduk, jarum ose, botol semprot, oven, toples, dan alat-alat gelas yang umum dipakai di laboratorium.

## Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva kupu-kupu, CMC, pereaksi Nelson-Samogyi, Natrium klorida (NaCl), Pepton, yeast extract, natrium nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KNO}_3$ , bakto agar, Congo red, spiritus, alkohol 70%, aluminium foil, aquadest, label dan tissue.

## Prosedur Kerja

### *Penyiapan Sampel*

Sampel larva kupu-kupu diperoleh dari hutan kabupaten Soppeng untuk diidentifikasi mengenai jenis serangga, siklus hidupnya dan mengisolasi bakteri penghasil enzim selulase yang terdapat pada organ pencernaannya.

Identifikasi jenis dan siklus hidup dilakukan pada larva yang diawetkan dalam larutan alkohol 70% untuk mencegah pembusukan. Sedangkan isolasi bakteri penghasil enzim selulase dilakukan dengan tiga cara yaitu pembuatan suspensi usus larva, pengambilan usus dan bagian organ pencernaan lainnya. Pengambilan usus dilakukan dengan cara memotong bagian kepala dan bagian ekor larva kemudian menarik keluar ususnya dengan menggunakan pinset.

### *Pembuatan Media dan Uji Pendahuluan*

Komposisi bahan media cair untuk uji pendahuluan yaitu 1 gram yeast ekstrak, 1 gram NaCl dan 1 gram pepton yang dilarutkan dengan aquadest hingga volume 100 mL. Sebanyak 2 mL suspensi larva kupu-kupu dimasukkan ke dalam media tersebut kemudian di-shaker pada suhu  $50^\circ\text{C}$ , kecepatan 150 rpm selama 24 jam.

Setelah melakukan uji pendahuluan, selanjutnya membuat media dasar dengan komposisi dari media yaitu 0,1 gram  $\text{NaNO}_3$ , 0,4 gram  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,05 gram KCl, 0,05 gram  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 gram yeast ekstrak dan 1,5 gram bakto agar. Komposisi dari bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquadest hingga volume akhir 100 mL. Selanjutnya dihomogenisasi dengan magnetik stirrer, kemudian dipanaskan sampai larut lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$ , tekanan 1 atm, didinginkan kemudian dituang pada cawan petri steril.

Media dasar dijadikan sebagai dasar bahwa terdapat bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Selanjutnya pembiakan dilakukan pada media selektif selulolitik yang terdiri dari 2 media yaitu: **Media I**; media Selektif selulolitik terdiri dari 0,1 gram  $\text{KNO}_3$ , 0,4 gram  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,05 gram  $\text{CaCl}_2$ , 0,05 gram  $\text{MgSO}_4$ , 0,01 gram yeast ekstrak dan 2 gram CMC. **Media II**; media

Selektif selulolitik terdiri dari 0,1 gram  $\text{NaNO}_3$ , 0,4 gram  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,05 gram  $\text{KCl}$ , 0,05 gram  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,01 gram yeast ekstrak dan 2 gram CMC.

### ***Isolasi Bakteri dan Produksi Enzim***

Sampel berupa suspensi larva, organ pencernaan, usus dan bakteri hasil uji pendahuluan disebar pada permukaan media dasar padat yang telah dibuat sebelumnya untuk menumbuhkan mikroba, diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $50^\circ\text{C}$ . Bakteri yang tumbuh diambil dan digores ke dalam cawan petri yang mengandung media agar selektif selulolitik yaitu media I dan media II kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $50^\circ\text{C}$ . Pengujian mikroba penghasil enzim selulase dilakukan dengan uji Congo red dengan cara meneteskan Congo red pada permukaan media yang berisi isolat. Bila terdapat zona bening, mengindikasikan enzim selulase diproduksi oleh isolat sehingga di daerah tersebut selulosa sudah dihidrolisis.

Isolat mikroba yang telah ditumbuhkan diambil 2-3 ose kemudian digores ke dalam medium inokulum yang telah disiapkan. Komposisi media inokulum sama dengan komposisi media selektif selulolitik hanya dalam bentuk cair. Biakan bakteri tersebut dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam pada suhu  $50^\circ\text{C}$ . Enzim kemudian diproduksi dengan menuangkan 45 mL biakan bakteri pada media produksi (terlebih dahulu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit) dan di inkubasi pada suhu  $50^\circ\text{C}$  dengan variasi lama inkubasi 0, 12, 24, 36, 48 dan 72 jam.

### ***Pengukuran Aktivitas Enzim dengan Metode Nelson–Samogyi***

Penetapan aktivitas enzim dilakukan dengan mengukur pelepasan glukosa dengan menggunakan CMC sebagai substrat sesuai dengan variasi dan inkubasi. Jumlah glukosa bebas yang dihasilkan ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer berdasarkan metode Nelson-Somogy.

Untuk penentuan kadar glukosa bebas terdiri dari tiga tahap yaitu, persiapan larutan glukosa standar, penyiapan kurva kalibrasi, penentuan kadar glukosa bebas hasil hidrolisis.

### ***Penentuan Aktivitas Optimum Enzim Selulase terhadap Variasi Lama Inkubasi***

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 7 buah, masing-masing diisi 1 mL substrat CMC 1% dan 1 mL buffer sitrat pH 5,8 lalu ditambahkan 1 mL supernatan enzim, kemudian diinkubasi selama  $\pm 60$  menit dengan kemudian masing-masing tabung reaksi dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit. Selanjutnya ditentukan kadar glukosanya dengan Metode Nelson-Somogy.

Sebanyak 1 mL reagen Nelson ditambahkan masing-masing ke dalam larutan kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit dan didinginkan pada suhu kamar. 1 mL Arsenamolybdat kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing larutan, dikocok dan dibiarkan pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 7 mL Aquadest ke dalam masing-masing larutan

dan diaduk sampai homogen. Kemudian diukur pada  $\lambda$  745 nm dengan spektrofotometer Uv-Vis

Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang melepaskan satu mikromol glukosa setiap menit.

$$\text{Aktivitas CMCase (U/mL)} = \frac{\text{mg glukosa}}{\text{BM glukosa}} \times \frac{1}{1 \text{ mL enzim}} \times \frac{1}{30 \text{ menit}} \times \frac{1000 \mu\text{mol}}{1 \text{ mmol}} \times \text{fp}$$

Keterangan : 1 U =  $\mu\text{mol}$  gula produk (glukosa)/menit

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Isolasi Bakteri Simbion Larva Kupu-kupu *Cossidae*

Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan 3 perlakuan yaitu dengan mensuspensikan usus larva dalam media tumbuh mikroba, pengambilan bagian usus larva dan organ pencernaan lainnya. Adapun hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut:

**Tabel 1.** Uji Adanya Bakteri Selulolitik pada Larva Kupu-kupu *Cossidae*

Sumber Bakteri	Hasil
Suspensi usus	Tumbuh
Usus	Tumbuh
Organ pencernaan	Tumbuh

Mikroorganisme telah dibuktikan mampu menghasilkan enzim. Berdasarkan data yang diperoleh terlihat bahwa bakteri dapat tumbuh pada saluran pencernaan sampel larva kupu-kupu baik itu usus maupun organ pencernaan. Selain itu bakteri juga dapat ditumbuhkan dari hasil uji pendahuluan dengan sampel bakteri ujinya yaitu dari suspensi usus larva. Bakteri tersebut merupakan bakteri selulolitik sebab substrat dari media yaitu CMC (carboksimetil selulosa) yaitu selulosa. Bakteri yang mampu mengubah selulosa menjadi glukosa disebut bakteri selulolitik.

Bakteri selulolitik ditumbuhkan pada dua media yang memiliki komposisi berbeda. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri yang pertumbuhannya lebih baik. Perbedaan media I dan media II terdapat pada sumber mineral, ion anorganik dan kofaktor yang digunakan yaitu media I menggunakan  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{MgSO}_4$ , sedangkan media II terdiri dari  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KCl}$  dan  $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Hasil yang diperoleh yaitu pertumbuhan baik terdapat pada media I, adanya perbedaan pertumbuhan bakteri pada media yang berbeda disebabkan kebutuhan unsur ion anorganik kadang diperlukan

atau kehadirannya bisa menjadi kontaminan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Bakteri kemudian diremajakan pada media I untuk meregenerasi sel bakteri menuju fase pertumbuhan bakteri. Dimana bakteri memiliki fase pertumbuhannya sesuai dengan kesediaan nutrisi pada media. Bakteri selulolitik menggunakan nutrisi yang terkandung pada media untuk menghasilkan energi. Sumber energi bakteri selulolitik yaitu dari sumber karbon, dalam penelitian ini sumber karbon berasal dari turunan selulosa.

Degradasi sempurna selulosa akan melepaskan karbondioksida pada kondisi aerobik dan pada kondisi anaerobik akan melepaskan karbondioksida, metana dan air, hal ini terlihat pada bagian atas cawan petri yang terdapat uap air setelah dilakukan inkubasi (Agung Marssada Biorata, 2012).

Mikroorganisme mampu mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerja sama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-glycosidic pada selulosa. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa.

Pada penelitian ini substrat yang digunakan yaitu carboximetil selulosa yang kemudian didegradasi oleh kompleks enzim selulase menjadi glukosa. Uji kualitatif adanya reaksi selulolitik digunakan uji *congo red* (Desy Komalasari, 2012).

Uji *congo red* dilakukan dengan memilih isolat dengan pertumbuhan yang baik kemudian ditetaskan dengan larutan *congo red* 1% kemudian dicuci menggunakan larutan NaCl 0,1M. Aktifitas selulolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media pertumbuhan bakteri. Hasil yang diperoleh yaitu terdapat zona bening pada isolat uji. Hal ini menandakan adanya aktifitas selulolitik.

Besarnya zona bening yang dihasilkan disebabkan kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan enzim selulase. Bagi bakteri yang mempunyai kemampuan mencerna selulosa dengan kuat maka akan terbentuk zona bening yang lebih besar. Visualisasi adanya zona bening disebabkan terjadinya hidrolisis CMC yang terdapat dalam medium pertumbuhan bakteri (Mushoffa, 2012). Hal ini disebabkan antara *congo red* dan selulosa memiliki ikatan kovalen, sehingga medium pertumbuhan yang tidak mengandung selulosa tidak akan diwarnai oleh *congo red*.

### **Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Symbion Larva Kupu-kupu *Cossidae***

Pengaruh lama inkubasi optimum dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media cair dengan pengujian konsentrasi glukosa yang dilepaskan dalam variasi waktu 0, 12, 24, 36, 48 dan 72 jam, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran aktivitas enzim dengan metode Nelson-Samogyi. Hasil yang diperoleh dari pengaruh lama inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase yang isolasi dalam isolat bakteri symbion larva kupu-kupu dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada penelitian ini dilakukan penentuan aktivitas enzim dengan menggunakan metode Nelson-Samogyi. Aktivitas enzim dinyatakan sebagai banyaknya mikromol enzim yang melepaskan glukosa tiap menitnya.

Sebanyak 1 mL supernatan enzim dikontakkan dengan substrat CMC 1% dan ditambahkan dengan 1 mL buffer sitrat pH 5.8 untuk mempertahankan pH larutan, dimana buffer berfungsi untuk mempertahankan pH enzim. Selanjutnya Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 60 menit sebagai proses hidrolisis substrat oleh enzim. Hidrolisis CMC terjadi selama 60-70 menit waktu inkubasi . Untuk menghentikan hidrolisis, sampel kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit lalu didinginkan pada suhu kamar. Hidrolisis CMC menghasilkan produk berupa glukosa yang diukur jumlahnya dengan metode Nelson samogyi.

**Tabel 2.** Konsentrasi Hasil Hidrolisis Selulosa menjadi Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase

Lama Inkubasi Sampel (jam)	Konsentrasi glukosa	Aktivitas enzim
0	13,97	1,29 x 10 <sup>-3</sup>
12	4,67	0,43 x 10 <sup>-3</sup>
24	19,47	1,82 x 10 <sup>-3</sup>
36	23,83	2,21 x 10 <sup>-3</sup>
48	22,90	2,12 x 10 <sup>-3</sup>
60	25,70	2,38 x 10 <sup>-3</sup>
72	11,17	1,03 x 10 <sup>-3</sup>

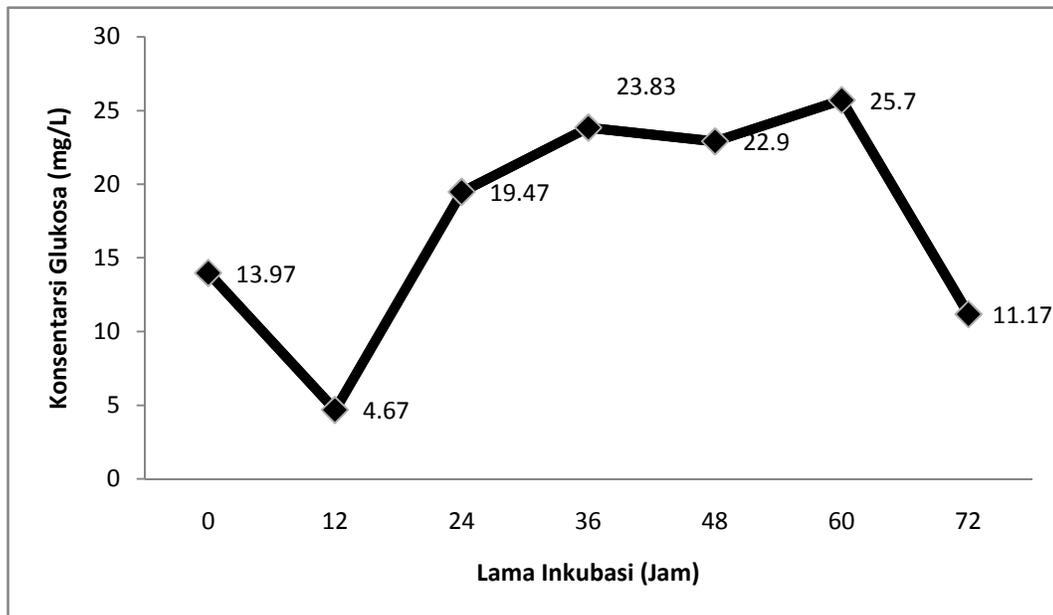
Sebanyak 1 mL reagen Nelson ditambahkan ke dalam larutan yang akan dianalisis, reaksi ini diawali dengan terjadinya reduksi komponen pereaksi Nelson oleh glukosa sebagai hasil hidrolisis substrat CMC. Ion tembaga(II) dari pereaksi Nelson akan tereduksi oleh glukosa menjadi tembaga(I). Selanjutnya dilakukan pemanasan campuran sampel dengan pereaksi Nelson selama 20 menit dimaksudkan untuk mempercepat reaksi dan mempertegas warna yang menunjukkan adanya gula pereduksi, adanya gula pereduksi teridentifikasi dengan adanya endapan merah bata yang berasal dari tembaga(I) oksida (Cu<sub>2</sub>O) .

Pendinginan campuran antara sampel dan pereaksi Nelson setelah pemanasan dilakukan dengan merendam tabung reaksi dalam air dingin, selanjutnya ditambahkan pereaksi Arsenomolibdat. Pada tahapan kedua, penambahan pereaksi Arsenomolibdat mengakibatkan terjadinya oksidasi ion tembaga(I) menjadi tembaga(II) yang disertai terbentuknya kompleks

molibdenum berwarna biru kehijauan, semakin tinggi kadar gula invert semakin pekat intensitas warna hijau larutan (Hafimi, 2009).

Komplek molibdenum diukur dengan spektrofotometer pada 745 nm, konsentrasi kompleks molibdenum yang terukur sebanding dengan kadar gula invert dalam larutan. Komponen warna dari pereaksi Nelson-Somogyi ikut mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 745 nm, oleh karena itu blanko yang digunakan dalam analisis spektrofotometri harus menggunakan pereaksi tersebut. Hal ini dimaksudkan untuk meminimalkan adanya peningkatan absorbansi yang terukur oleh instrumen yang berasal dari warna senyawa yang tidak diharapkan, yang mengakibatkan penurunan akurasi pengukuran.

Lama inkubasi produksi enzim didapatkan dengan pengujian isolat yang dilakukan selama 72 jam dengan pengambilan sampel tiap 12 jam. Reaksi enzimatik yang terjadi pada pengujian tersebut muncul karena adanya kontak antara enzim dengan substrat yang digunakan. Interaksi terjadi pada bagian sisi aktif enzim dan hanya dapat terjadi apabila sisi aktif mempunyai ruang yang tepat dan sesuai dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat. Pada akhirnya kompleks enzim-substrat akan terurai menjadi hasil reaksi atau produk dan membebaskan enzim kembali. Lama inkubasi saat pengambilan sampel ketika menunjukkan aktivitas optimum merupakan saat dimana enzim bekerja dengan maksimal pada jangka waktu inkubasi tersebut.



**Gambar 1.** Grafik hubungan lama inkubasi dengan konsentrasi glukosa

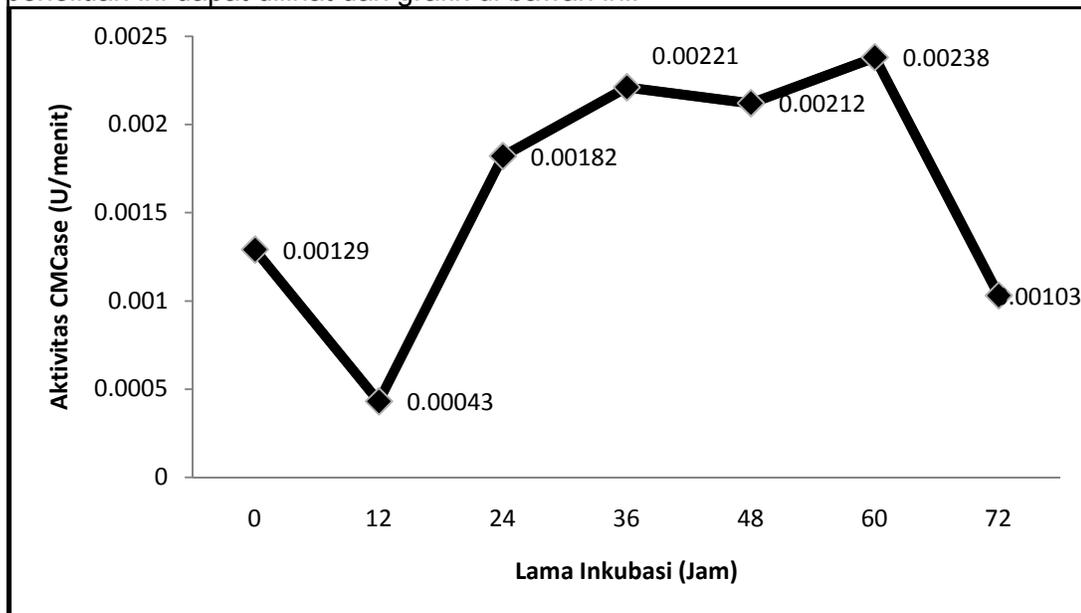
Pada saat puncak aktivitas selulase, bakteri mengeluarkan enzim selulase secara maksimal ke lingkungan luarnya. Berdasarkan data di atas diperoleh bahwa konsentrasi glukosa pada sampel 0 jam lebih tinggi

dibandingkan sampel 12 jam, hal ini disebabkan produksi glukosa pada sampel 0 jam lebih stabil, sebab bakteri yang digunakan masih dalam keadaan baru, dimana konsentrasi glukosa masih banyak sedangkan pada sampel 12 jam konsentrasi glukosa cenderung sangat rendah, hal ini disebabkan bakteri berada pada fase lag, fase ini ditandai dengan peningkatan aktivitas metabolik, kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik, dimana aktivitas selulolitik cenderung rendah.

Konsentrasi enzim kemudian mengalami kenaikan pada inkubasi 24 jam, 36 jam, penurunan aktivitas pada 48 jam, kenaikan pada inkubasi 60 jam. Fase ini disebut sebagai fase log atau fase pertumbuhan eksponensial dimana sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Selama fase ini massa dan volume sel meningkat. Penurunan konsentrasi glukosa terjadi pada lama inkubasi pada 72 jam, fase ini disebut sebagai fase stasioner. Selama fase ini kondisi biakan, akumulasi produk limbah, kekurangan nutrisi dan faktor lain yang tidak diketahui akan mendesak dan mengganggu biakan dan mengakibatkan penurunan kecepatan. Berdasarkan data tersebut diperoleh konsentrasi glukosa optimum diperoleh pada lama inkubasi 60 jam yaitu 25,70 mg/L.

Aktivitas enzim pada kompleks enzim selulase dalam hal ini endoglukonase memiliki aktivitas tertinggi pada substrat CMC. Endoglukonase merupakan komponen selulase yang selalu ditemukan dalam mikroorganisme selulolitik baik fungi maupun bakteri. Enzim ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap turunan selulosa dengan aksi endo.

CMCase merupakan salah satu enzim dalam kompleks selulase yang menghasilkan selodektrin, selobiosa dan glukosa. Aktivitas CMCase pada penelitian ini dapat dilihat dari grafik di bawah ini.



**Gambar 2.** Grafik hubungan lama inkubasi dan aktivitas CMCase

Aktivitas CMCase berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa yang diperoleh. Dimana aktifitas optimum kerja enzim endoglukonase dalam hidrolisis terjadi pada lama inkubasi 60 jam. Setiap bakteri memiliki lama fase pertumbuhan yang berbeda-beda. Aktivitas enzim selulase meningkat seiring dengan pertumbuhannya. Namun ketika sel mencapai fase stasioner, aktivitas enzim selulase mengalami penurunan. Pada fase stasioner pembelahan sel sama dengan kecepatan kematian sel. (Anja Meryadini, dkk)

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Enzim selulase terdapat diisolasi pada organ pencernaan larva kupu-kupu family *Cossidae*.
2. Waktu inkubasi produksi optimum enzim selulase dari bakteri simbiosis larva kupu-kupu family *Cossidae* adalah 60 jam dengan nilai aktivitas sebesar  $2,38 \times 10^{-3}$  U/mL.

#### Saran

Saran yang dapat peneliti sampaikan yaitu: untuk penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan karakterisasi enzim selulase dari bakteri larva kupu-kupu family *Cossidae* dan sebaiknya melakukan pengukuran OD (*Optical Density*).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Biorata, Agung Marssada., 2012, *Optimasi Produksi Selulase Dari Bacillus sp. BPPT CC RK 2 Menggunakan Metode Respon Permukaan dengan Variasi Rasio C/N dan Waktu Fermentasi*. Skripsi Fakultas Teknik Program Studi Teknologi Bioproses Universitas Indonesia.
- Fitriani, Emy., 2003, *Aktivitas Enzim Karboksimetil Selulase Bacillus pumilus Galur 55 Pada Berbagai Suhu Inkubasi*. Skripsi Program Studi Kimia, Institut Pertanian Bogor.
- Komalasari, Desy. 2012, *Isolasi, Identifikasi dan Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik dari Naskah Kuno Kertas Eropa Asal Keraton Kesepuhan Cirebon*. Skripsi fak. MIPA, Departemen Biologi, Depok.
- Mushoffa., 2012, *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Feses Kambing*. Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Meryadini, Anja *et.al.*, 2012, *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*. Makara, Sains Vol. 13, No. 1 April.