MODIFIKASI SERAT KERTAS BEKAS MENGGUNAKAN ENDOGLUKANASE EgIII

Rina Masriani a *, Zeily Nurachman b

^a Balai Besar Pulp dan Kertas, Jl. Raya Dayeuhkolot 132, Bandung
^b Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Bandung
* rina.masriani@gmail.com

Diterima: 01 Oktober 2012, Revisi akhir: 20 Desember 2012

MODIFICATION OF WASTE PAPER FIBER BY USING ENDOGLUCANASE EgIII

ABSTRACT

To reduce the water holding capacity by removing amorphous structure of cellulose in waste paper fibers, the use of endoglucanase EgIII was investigated. The steps of research included production of endoglucanase EgIII, modification of waste paper fibers using endoglucanase, and lab-scale making of sheet of paper. Compared to the freeness number of pulp without modification, the freeness number of waste paper fiber suspension treated using endoglucanase EgIII increased by 37 mL CSF (Canadian Standard Freeness). The burst index of paper sheet produced by endoglucanase EgIII treatment showed no significant change. Tensile index of paper sheet produced by endoglucanase EgIII increased by 5 Nm/g.

Keywords: endoglucanase EgIII, freeness, burst index, tensile index

ABSTRAK

Untuk mengurangi kemampuan serat kertas menyerap air, endoglukanase EgIII diaplikasikan untuk memodifikasi serat kertas bekas. Modifikasi serat kertas bekas dilakukan untuk mengatasi masalah laju penghilangan air yang rendah pada serat kertas bekas. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah produksi endoglukanase EgIII; modifikasi serat kertas bekas dengan cara menginkubasi campuran endoglukanase EgIII dan bubur kertas bekas hasil penggilingan; dan pembuatan lembaran kertas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai *freeness* bubur serat kertas bekas termodifikasi oleh endoglukanase EgIII meningkat 37 mL CSF (*Canadian Standard Freeness*) dibandingkan dengan nilai *freeness* bubur kertas tanpa modifikasi. Indeks retak lembaran kertas termodifikasi oleh endoglukanase EgIII tidak berubah secara signifikan. Selain itu, indeks tarik lembaran kertas termodifikasi oleh endoglukanase EgIII meningkat 5 Nm/g.

Kata kunci: endoglukanase EgIII, freeness, indeks retak, indeks tarik

PENDAHULUAN

Kertas bekas adalah salah satu jenis serat sekunder. Kertas bekas yang paling mudah dan paling banyak dikumpulkan adalah kardus. Dalam industri kertas, kardus dikenal dengan istilah kotak karton gelombang atau KKG (SNI 14-0581-2011). Kertas pembentuk KKG termasuk dalam jenis kertas kemas atau kertas industri.

Isu pelestarian lingkungan mendorong peningkatan penggunaan kertas bekas sebagai bahan baku pembuatan kertas. Kebutuhan kertas bekas untuk industri kertas nasional pada 2010 sekitar 6,7 juta ton per tahun, sekitar 4,3 juta ton dipasok dari pengumpulan kertas bekas lokal, sisanya sekitar 2,4 juta ton berasal dari kertas bekas impor (Ditjen IAK, 2011).

Masalah yang muncul pada penggunaan kertas bekas sebagai bahan baku kertas adalah kekuatan kertas dan laju penghilangan air yang rendah. Laju penghilangan air yang rendah menyebabkan energi yang digunakan pada tahap pengeringan kertas menjadi tinggi. Produktivitas pembuatan kertas dengan bahan baku dari serat kertas bekas menjadi lebih rendah

jika dibandingkan dari serat *virgin* (Pala dkk., 2001). Untuk mengatasi masalah ini, modifikasi serat kertas bekas dengan menggunakan endoglukanase EgIII dilakukan.

Endoglukanase adalah jenis selulase yang memutuskan ikatan glikosidik internal pada rantai selulosa (KEGG, 2010). Modifikasi serat dengan endoglukanase dilakukan dengan cara menginkubasi serat pada proses penyiapan stok bubur kertas (Pommier dkk., 1989). Proses inkubasi dilakukan setelah proses penggilingan untuk menghindari terjadinya gesekan yang dapat menstimulasi degradasi serat. Endoglukanase ini lebih mudah menghidrolisis bagian amorf pada permukaan serat selulosa daripada bagian kristalin serat selulosa. Kondisi permukaan serat selulosa ini berhubungan dengan kemampuan serat menahan air. Bagian amorf serat selulosa lebih kuat menahan air daripada bagian kristalin serat selulosa (Smook, 2002). Keadaan ini dapat diamati dari pengukuran angka freeness. Semakin tinggi angka freeness sebanding dengan semakin lemahnya penahanan air oleh suspensi serat sehingga air makin mudah dihilangkan dari suspensi serat.

Menurut Dienes (2006), endoglukanase III dari T. reesei Cel 12A sangat efektif dalam memperbaiki penghilangan air dari serat sekunder. Protein ini dihasilkan melalui modifikasi genetik T. reesei QM9414 dengan glukosa sebagai perepresi ekspresi selulase endogenous. Pada aplikasi praktis, endoglukanase I TrCel7B tidak menyebabkan penurunan kekuatan kertas pada perlakuan pulp sekunder. Aplikasi eksoglukanase pada produksi kertas daur ulang yang dilakukan dengan cara perlakuan terkendali meningkatkan kekuatan pulp dan kertas (Oyekola, 2007). Enzim rekombinan lebih baik dari enzim bakteri asalnya, karena enzim yang dihasilkan lebih murni dan memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengikat selulosa dan mendegradasi selulosa (Bischoff dkk., 2007). Endoglukanase EgIII memiliki pH optimum pada keadaan netral sehingga sesuai untuk diaplikasikan pada industri kertas karena proses pembuatan kertas pada pH netral atau alkali lebih efisien dibandingkan pada pH asam (Hipolit, 1992). Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan laju penghilangan air dari bubur serat kertas bekas dengan cara menghidrolisis bubur serat kertas bekas secara terkendali menggunakan endoglukanase EgIII dan mempelajari pengaruhnya terhadap kekuatan kertas. Penelitian dilakukan dalam tiga tahap: tahap produksi enzim, tahap modifikasi serat kertas bekas, dan tahap pembuatan kertas. Ketiga tahap ini dilakukan dalam skala laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Bahan Percobaan

Sampel kertas adalah kertas daur ulang jenis kemasan mie instan yang diperoleh secara acak dari daerah Baleendah dan Dayeuhkolot, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Endoglukanase EgIII diekspresi oleh *Bacillus megaterium* yang membawa plasmid PMM₁₅₂₅-*egII* secara ekstrasel. *Bacillus megaterium* ini diperoleh dari Laboratorium Biokimia, Institut Teknologi Bandung. Endoglukanase yang ada di pasaran. Bahan-bahan kimia p.a yang terdiri dari tripton, ekstrak ragi, NaCl, tetrasiklin, pepton, xilosa, *bovine serum albumin*, karboksi metilselulosa, asam dinitrosalisilat, dan selobiosa.

Produksi Endoglukanase EgIII

Untuk perbanyakan sel, B. megaterium ditumbuhkan di dalam medium LB (Luria-Bertani) cair yang mengandung tripton 1%, ekstrak ragi 0,5%, NaCl 1%, dan tetrasiklin 10 μg/mL. Untuk produksi endoglukanase EgIII, B. megaterium ditumbuhkan dalam medium LB-P (medium LB dimana tripton 1% diganti dengan pepton 1%) cair. Biakan B. megaterium awal dalam medium LB-P dengan kerapatan optik pada 600 n= adalah 0,2 diinkubasi pada 37°C kecepatan 200 rpm hingga kerapatan optik 600 nm mencapai 1,5. Untuk menginduksi ekspresi endoglukanase EgIII, xilosa ditambahkan ke dalam medium LB-P hingga konsentrasi akhirnya sebesar 0,03 M dan inkubasi diteruskan selama 5 jam. Endoglukanase EgIII dipanen dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 7000 g pada 4°C selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh (Endoglukanase EgIII) disimpan pada 4°C sebelum digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Penentuan Kadar Protein

Kadar protein enzim ditentukan dengan metode Bradford menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai standar (Bradford, 1976). Masing-masing pengukuran absorbansi dilakukan tiga kali (triplo).

Penentuan Aktivitas Endoglukanase EgIII

Aktivitas endoglukanase EgIII dalam menghidrolisis karboksi metilselulosa (CMC) ditentukan dari jumlah gula pereduksi yang dilepas campuran reaksi enzim yang mengandung endoglukanase EgIII 0,02 mgmLl dan CMC 2,5 mgmLl diinkubasi selama 30 menit pada 50°C, reaksi dihentikan dengan penambahan 50 µl pereaksi DNS dan dididihkan selama 10 menit. Kadar gula pereduksi yang dilepas ditentukan dengan pereaksi asam dinitrosalisilat (DNS) menggunakan selobiosa sebagai standar (Miller, 1957). Masing-masing pengukuran absorbansi dilakukan tiga kali (triplo). Sat unit aktivitas endoglukanase EgIII didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu melepaskan 1 μmol gula pereduksi per menit pada kondisi reaksi. Aktivitas spesifik enzim didefinisikan sebagai unit aktivitas per mg protein.

Penyiapan Bubur Serat Kertas Bekas

Penyiapan bubur serat kertas bekas dimulai dengan mencabik-cabik KKG bekas kemasan mie instan. Potongan KKG bekas dicampurkan dengan air sehingga diperoleh konsistensi 1,5% berdasarkan berat kering, sesuai untuk kondisi penggilingan menggunakan alat penggiling Niagara beater tanpa beban (ISO 5264/1). Campuran KKG bekas dan air digiling sampai didapatkan freeness awal kira-kira 200 mL CSF. Bubur serat kertas bekas ditekan dengan alat penekan bertekanan sehingga didapatkan pulp kertas bekas. Pulp kertas bekas ditentukan kadar airnya. Kemudian pulp kertas bekas dicampurkan dengan air sehingga diperoleh konsistensi bubur serat kertas bekas sebesar 3%. Campuran ini diuraikan dengan alat pengurai sebanyak 10000 putaran sehingga didapatkan bubur serat kertas bekas 3% yang telah terurai dan homogen.

Hidrolisis Bubur Serat Kertas Bekas Secara Terkendali.

Modifikasi serat kertas bekas dilakukan dengan cara menginkubasi campuran endoglukanase EgIII dan bubur serat kertas bekas hasil penggilingan. Aktivitas total (baik endoglukanase EgIII maupun endoglukanase komersial) yang digunakan untuk memodifikasi serat adalah 0; 0,1; 1,0; 1,5; 2,0; dan 4 U/g pulp oven kering. Hidrolisis bubur serat kertas bekas

dengan endoglukanase EgIII dan endoglukanase yang ada di pasaran dilakukan secara terkendali dengan aktivitas total enzim tertentu, konsistensi substrat 3% berdasarkan berat kering, *freeness* awal 230 mL, suhu 50°C, kecepatan putaran 150 rpm, dan waktu inkubasi 30 menit. Proses hidrolisis dihentikan dengan cara mendidihkan campuran selama 5 menit. Perlakuan kontrol dilakukan dengan cara yang sama, tetapi inkubasi dilakukan dengan menggunakan enzim yang telah didenaturasi. Bubur serat kertas bekas tanpa perlakuan enzim ditetapkan sebagai blanko.

Pengukuran Angka Freeness

Untuk mengamati perubahan laju penghilangan air dari bubur serat kertas bekas tanpa modifikasi dan hasil modifikasi dengan menggunakan enzim pada berbagai aktivitas enzim, bubur-bubur serat kertas bekas tersebut diukur angka freeness (kemampuan drainase air), dengan mengacu pada metode SNI ISO 5267-2:2008 Pulp - Cara uji kemampuan drainase - Bagian 2: metode Canadian Standard Freeness (CSF). Masing-masing pengukuran freeness dilakukan tiga kali (triplo). Freeness didefinisikan sebagai pengujian untuk mengukur laju penghilangan air dari suspensi pulp encer. Prinsip pengujian freeness adalah berdasarkan kecepatan turunnya air yang keluar dari tabung alat uji freeness. Air yang kurang tertahan oleh pulp, akan turun dengan cepat, dan keluar dari lubang samping lebih banyak jika dibandingkan air yang turun dengan lambat.

Pembuatan Lembaran Kertas

Tahap pembuatan lembaran kertas meliputi pembuatan lembaran basah, pengepresan, dan pengeringan lembaran. Pembuatan lembaran ini dilakukan dengan mengacu pada SNI 14-0489-1989. Untuk setiap variabel hanya dibuat 2 (dua) lembaran, karena keterbatasan jumlah enzim yang tersedia

Penentuan Gramatur, Indeks Tarik dan Indeks Retak

Lembaran kertas yang dihasilkan ditentukan gramaturnya berdasarkan SNI ISO 536:1995. Penentuan nilai indeks retak mengacu pada metode SNI ISO 2758:2001. Nilai indeks retak dihitung dari nilai ketahanan retak kertas, dalam

kiloPaskal, dibagi dengan gramatur. Penentuan nilai indeks tarik mengacu pada metode SNI ISO 1924-2: 2010. Nilai indeks tarik dihitung dari nilai ketahanan tarik (dinyatakan dalam kiloNewton per meter) dibagi dengan gramatur. Masing-masing pengukuran dilakukan hanya 6 (enam) kali, karena keterbatasan jumlah lembaran yang tersedia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Endoglukanase EgIII

Tahap ini bertujuan menguji aktivitas spesifik endoglukanase EgIII hasil produksi. Perbandingan aktivitas enzim dan aktivitas spesifik antara endoglukanase EgIII dan endoglukanase yang ada di pasaran dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa supernatan endoglukanase EgIII yang belum mengalami pemekatan memiliki aktivitas enzim 4,35 kali lebih tinggi dibandingkan endoglukanase yang ada di pasaran, sedangkan aktivitas spesifiknya 1403 kali lebih tinggi. Dengan demikian,

supernatan endoglukanase EgIII ini dapat langsung digunakan untuk modifikasi serat kertas bekas tanpa melalui proses pemekatan terlebih dulu.

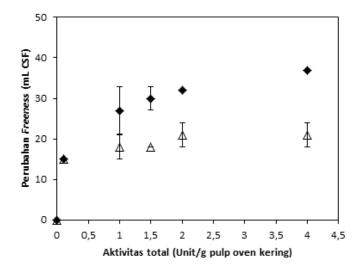
Pengaruh Endoglukanase terhadap Perubahan Nilai *Freeness* Bubur Serat Kertas Bekas

Target *freeness* untuk bubur kertas pada pembuatan kertas industri adalah antara 200 dan 300 mL CSF. *Freeness* awal bubur serat kertas bekas yang digunakan adalah 229 mL CSF. Perubahan nilai *freeness* dari bubur serat kertas bekas dimodifikasi oleh endoglukanase dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, peningkatan aktivitas total endoglukanase EgIII pada campuran meningkatkan nilai *freeness* dari bubur serat kertas bekas. Hal ini menunjukkan telah terjadi modifikasi serat. Mekanisme peningkatan *freeness* pada bubur serat yang dimodifikasi oleh rekombinan endoglukanase EgIII adalah sebagai

Tabel 1 Perbandingan Aktivitas Enzim dan Ativitas Spesifik antara Endoglukanase EgIII dan Endoglukanase yang ada di Pasaran

Sampel	Aktivitas enzim (Unit/mL)	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (Unit/mg protein)
Endoglukanse EgIII	0,87	0,04	21,75
Endoglukanase yang ada di pasaran	0,20	12,9	0,02



Gambar 1. Perubahan *Freeness* dari Bubur Serat Kertas Bekas dimodifikasi oleh Endoglukanase. (": Endoglukanase EgIII, D: Endoglukanase di Pasaran)

berikut: endoglukanase EgIII mengkatalisis pemutusan ikatan β-glikosidik di bagian selulosa amorf pada permukaan serat. Bagian selulosa amorf lebih mudah dihidrolisis daripada bagian selulosa kristalin karena selulosa amorf lebih mudah ditembus oleh pelarut. Kemudian, karena persamaan struktur serat, serat-serat dengan bagian selulosa kristalin pada permukaannya ini, bergabung bersama membentuk flok sehingga penahanan air oleh serat berkurang. Karena itu, angka *freeness* meningkat.

Endoglukanase yang ada di pasaran memiliki aktivitas spesifik yang lebih rendah dibandingkan endoglukanase EgIII, sementara kadar proteinnya jauh lebih tinggi. Keadaan tersebut menunjukkan tingkat kemurnian yang lebih rendah. Perbedaan kemurnian tersebut menyebabkan pola peningkatan nilai freeness dari bubur serat kertas bekas dimodifikasi oleh endoglukanase yanga ada di pasaran berbeda dengan oleh endoglukanase EgIII. Rendahnya kemurnian menunjukkan adanya jenis enzim yang lain dalam endoglukanase yanga ada di pasaran. Enzim-enzim yang lain ini kemungkinan dapat menghidrolisis serat kertas bekas juga.

Menurut Storl, dkk., (1995), jenis endoglukanase yang berbeda, memiliki pengaruh yang berbeda terhadap perubahan penahanan air oleh serat. Jenis yang paling efektif dalam menurunkan penahanan air oleh serat adalah endoglukanase VI, sedangkan yang paling tidak efektif adalah endoglukanase V. Endoglukanase yang digunakan pada penelitian

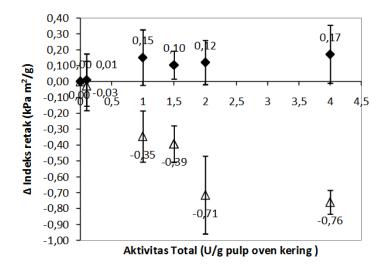
ini adalah endoglukanase II (Nurachman, dkk., 2010), sedangkan jenis endoglukanase pada endoglukanase yang ada di pasaran tidak diketahui.

Peningkatan nilai *freeness* dari bubur serat kertas bekas dimodifikasi oleh endoglukanase EgIII lebih tinggi dibandingkan oleh endoglukanase yang ada di pasaran. Pada aktivitas total 4 U/g pulp oven kering, freeness awal bubur serat kertas bekas 229 mL, nilai *freeness* bubur serat kertas bekas dimodifikasi oleh endoglukanase EgIII meningkat 37 mL CSF dibandingkan dengan nilai *freeness* bubur kertas tanpa modifikasi. Sementara, nilai *freeness* serat kertas bekas dimodifikasi oleh endoglukanase yang ada di pasaran meningkat 21 mL CSF.

Pengaruh Endoglukanase terhadap Perubahan Nilai Indeks Retak dari Kertas yang Dihasilkan

Pada penelitian ini, modifikasi serat kertas bekas dilakukan pada bubur serat kertas bekas untuk pembuatan kertas pembentuk KKG. Parameter mutu KKG adalah kekuatan kertas. Kekuatan kertas ditentukan dari nilai indeks retak dan indeks tarik. Nilai indeks retak berhubungan dengan kekuatan kertas saat kardus diisi beban sedangkan nilai indeks tarik berhubungan dengan keadaan saat kardus ditumpuk. Perubahan nilai indeks retaknya dapat dilihat pada Gambar 2.

Perubahan indeks retak lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan



Gambar 2. Pengaruh Endoglukanase terhadap Perubahan Nilai Indeks Retak dari Kertas yang Dihasilkan. (": Endoglukanase EgIII, D: Endoglukanase di Pasaran)

endoglukanase EgIII berkisar antara 0,00 sampai 0,17 kPa.m²/g. Hasil uji t-student dari perubahan indeks retak tertinggi (0,17 kPa.m²/g) adalah nilai t hasil perhitungan 1,78 lebih kecil dari nilai t kritis 2,23, maka perlakuan dengan endoglukanase EgIII dan perlakuan blanko tidak memiliki perbedaan, pengujian dilakukan dengan df=10 pada tingkat kepercayaan 95%. Jadi pada penggunaan aktivitas total sebesar 4 U/g pulp oven kering, nilai indeks retak dari kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII tidak berubah dibandingkan tanpa modifikasi.

Indeks retak lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII tidak berubah karena endoglukanase EgIII menghidrolisis di bagian selulosa amorf dari permukaan serat. Kemudian karena sifat struktur serat yang sama, serat-serat yang mengandung bagian selulosa kristalin bergabung bersama membentuk flok dan pada saat pembentukan lembaran. Penggabungan ini menyebabkan serat menjadi lebih orientasi seragam dibandingkan kertas yang dihasilkan tanpa perlakuan dengan endoglukanase EgIII.

Indeks retak lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase yang ada di pasaran menurun sejalan dengan peningkatan aktivitas total enzim per gram pulp oven kering. Penurunan tertinggi adalah sebesar 0,76 kPa m²/g. Hasil uji t-student terhadap penurunan tertinggi adalah nilai t hasil perhitungan 3,04 lebih besar dari nilai t kritis 2,78, maka perlakuan dengan endoglukanase yang ada di pasaran dan perlakuan blanko memberikan hasil yang berbeda, pengujian dilakukan dengan df=4 pada tingkat kepercayaan 95%.

Penurunan indeks retak dari lembaran kertas yang dimodifikasi dengan endoglukanase yang ada di pasaran menunjukkan telah terjadi degradasi tidak terkendali pada serat. Degradasi serat tidak hanya disebabkan oleh endoglukanase tetapi juga oleh enzim-enzim pendegradasi karbohidrat yang lain. Adanya enzim-enzim pendegradasi karbohidrat yang lain ini ditunjukkan dari nilai kemurnian yang lebih rendah dari endoglukanase yang ada di pasaran dibandingkan endoglukanase EgIII.

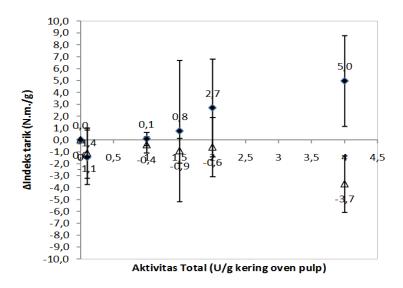
Selain itu, tingkat kemurnian endoglukanase yang ada di pasaran yang rendah menyebabkan jumlah protein pada stok bubur kertas tinggi. Protein dalam jumlah besar pada campuran menimbulkan banyak busa pada lembaran kertas basah yang terbentuk. Busa menimbulkan masalah baru pada pembuatan kertas. Menurut Hipol (1992) adanya busa dapat menyebabkan masalai:antara lain lembaran pada mesin kertas terputus, kecepatan mesin kertas berkurang, spesifikasi kertas tidak tercapai karena pada kertas terbentuk lubang dan noda, serta spesifikasi kertas tidak tercapai karena pada kertas terbentuk goresan. Masalah-masalah tersebut sangat berpengaruh terhadap kekuatan kertas. Indeks retak sangat dipengaruhi oleh ikatan antar serat. Adanya busa menyebabkan jarak antar serat meningkat pada saat pembentukan lembaran kertas basah. Jarak antar serat menurunkan ikatan antar serat.

Semakin tinggi dosis endoglukanase yang ada di pasaran digunakan pada campuran, jumlah busa semakin banyak. Perubahan nilai indeks retak pada kertas yang dihasilkan semakin negatif atau semakin menurun.

Pengaruh Endoglukanase terhadap Perubahan Nilai Indeks Tarik dari Kertas yang Dihasilkan

Perubahan nilai indeks tarik dari kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase dapat dilihat pada Gambar 3.

Sama halnya seperti pada nilai indeks retak, peningkatan aktivitas total enzim yang sama, memberikan pengaruh yang berbeda terhadap nilai indeks tarik lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII dan endoglukanase yang ada di pasaran. Perubahan indeks tarik lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII berkisar antara -1,4 sampai 5,0 N.m/g. Hasil uji t-student dari perubahan indeks tarik tertinggi (5,0 N.m/g) adalah nilai t hasil perhitungan 3,5 lebih besar dari nilai t kritis 2,2, maka perlakuan dengan endoglukanase EgIII pada penggunaan aktivitas total sebesar 4 U/g pulp oven kering meningkatkan indeks tarik sebesar 5,0 N.m/g, pengujian dilakukan dengan df=10 pada tingkat kepercayaan 95%. Uji t-student dari perubahan indeks tarik terendah (indeks tarik turun sebesar 1,4 N.m/g) adalah nilai t hasil perhitungan 1,8 lebih kecil dari nilai t kritis 2,2, maka perlakuan dengan endoglukanase EgIII pada penggunaan aktivitas total sebesar 0,1 U/g pulp oven kering tidak mengubah nilai indeks tarik, pengujian dilakukan dengan df=10 pada tingkat kepercayaan 95%. Kemurnian endoglukanase



Gambar 3. Pengaruh Endoglukanase terhadap Perubahan Nilai Indeks Tarik dari Kertas yang Dihasilkan. (": Endoglukanase EgIII, D: Endoglukanase di Pasaran).

EgIII yang cukup tinggi sangat menguntungkan untuk aplikasi di tahap penyiapan bubur pulp pasca penggilingan pada proses pembuatan kertas karena menyebabkan proses hidrolisis yang terkendali (Dienes, 2006). Selain itu, karena kemurnian yang tinggi ini, jumlah protein yang ditambahkan pada stok hanya sedikit sehingga tidak menimbulkan busa.

Pada penggunaan endoglukanase yang ada di pasaran dengan aktivitas total enzim sebesar 4 U/g pulp oven kering, nilai indeks tarik lembaran kertas berkurang 3,7 Nm/g. Uji t-student dari perubahan tersebut adalah nilai t hasil perhitungan 2,1 lebih kecil dari nilai t kritis 2,8, pada df=4 dan tingkat kepercayaan 95%, maka perlakuan tersebut tidak mengubah nilai indeks tarik

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan endoglukanase EgIII dengan aktivitas total enzim sebesar 4 U/g pulp oven kering dapat digunakan untuk menurunkan penyerapan air oleh bubur serat kertas daur ulang, ditunjukan oleh peningkatan angka *freeness* sebesar 37 mL CSF dari *freeness* awal 229 mL CSF. Berdasarkan uji t-student, indeks retak lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII tidak berubah. Indeks tarik lembaran kertas yang dihasilkan melalui perlakuan dengan endoglukanase EgIII meningkat 5 Nm/g.

DAFTAR PUSTAKA

Bischoff, K.M., Liu, S., Hughes, Sk., 2007. Cloning and characterization of a recombinant family 5 endoglucanase from *Bacillus licheniformis* strain B-41361. *Process Biochemistry*. Vol. 42, 1150-1154.

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.*, Vol. 72, 248-54. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Dienes, D., 2006. "Effect of cellulase enzymes on secondary fiber properties". *Ph. D. Thesis*, Budapest University of Technology and Economics, Budapest, Hungaria.

Direktorat Jenderal Industri Agro dan Kimia (Ditjen IAK) (2011): *Roadmap Industri Kertas*, Departemen Perindustrian, Jakarta.

Hipolit, K. J. 1992. *Chemical Processing Aids in Papermaking: a practical guide*, TAPPI Press, USod.

Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, Vol. 31, 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030

KEGG. 2010. Name. http://www.genome.jp/dbget-bin. Tanggal akses 17 Agustus 2010.

MoBiTec, 2008. *Bacillus megaterium Protein Expression System*, Molecular Biologische Technologie. Jerm52.

- Nurachman, Z., Kurniasih, S. D., Puspitawati, F., Hadi, S., Radjasa, O. and Natalia.dkk., 2010. Cloning of Endoglucanase Gene from a *Bacillus amyloliquefaciens* PSM 3.1 in *Escherichia coli* Revealed Catalytic Triad Residues Thr-His-Glu, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. Vol. 6, No. 4, 268-274.
- Oyekola, O. O., Ngesi, and Whitelet, C.k., 2007. Isolation, Purification and Characterisation of An Endoglucanase and B-Glucosidase from An Anaerobic Sulphidogenic Bioreactor, *Enzyme and Microbial. Technology.* Vol. 40, 637-644.
- Pala, H., Lemos, M. A., Mota, and Gama, F.k., 2001. Enzymatic upgrade of old paperboard containers. *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 29, 274-279.

- Pommier, J. L. Fuentes, J. G. Goma, k., 1989. Using enzymes to improve the process and the product quality in the recycled paper industry–Prt 1: the basic laboratory work. *Tappi Journal*. Vol. 72, No. 6, 187–191.
- Puspitawati, F. 2009. "Penapisan, Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Laut", *Tesis*, Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Smook, G. A., 2002. *Handbok fFor Pulp and Paper Technologist*, Third Edition, Angus Wilde Publication Inc. Vancouver. Kanon.
- Stork, G., H. Pereira, T. M. Wood, E. M. Düsterhöft, A. Toft, and J. Pk., 1995. Upgrading recycled pulps using enzymatic treatment. *Tappi Journal*. Vol. 78, No. 2, 79-88.