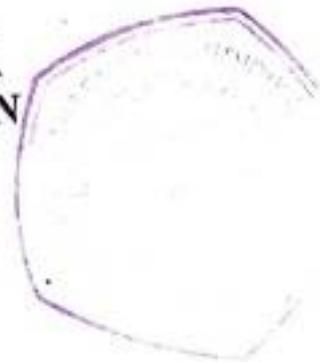


**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA
SUBSTRAT DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE DARI PANKREAS SAPI**



MARLINA
H 311 00 077



No.	
Tgl.	26-6-06
Waktu	1 (satu) ek
	H
	691/26-6-06

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2005

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA
SUBSTRAT DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE DARI PANKREAS SAPI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

MARLINA

H 311 00 077



**MAKASSAR
2005**

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA
SUBSTRAT DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE DARI PANKREAS SAPI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

MARLINA

H 311 00 077



**MAKASSAR
2005**

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA
SUBSTRAT DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE DARI PANKREAS SAPI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

MARLINA

H 311 00 077



**MAKASSAR
2005**

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA
SUBSTRAT DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE DARI PANKREAS SAPI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

MARLINA

H 311 00 077



**MAKASSAR
2005**

SKRIPSI

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA PADA SUBSTRAT
DEDAK PADI DENGAN MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE
DARI PANKREAS SAPI**

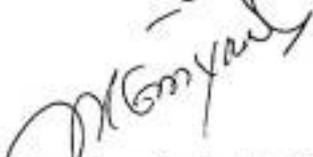
Disusun dan diajukan oleh :

MARLINA

H31100077

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dra. Rugaiyah Arfah, MSi
NIP. 131 658 832

Pembimbing Pertama



Drs. Abd. Karim, MSi
NIP. 131 792 020

*"Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu yang menciptakan.
Dia telah menciptakan manusia dari segumpal daging. Bacalah!
Dan Tuhanmulah yang Maha Pemurah.
Yang telah mengajar (manusia) dengan perantaraan kalam.
Dia telah mengajarkan kepada manusia
apa yang tidak diketahuinya"
(Q.S. Al 'Alaq : 1 - 5)*

*Kupersembahkan Karya Kecil Ini
Untuk Orang-Orang Yang Kusayangi*

PRAKATA



Assalamu 'Alaikum Wr. Wb.

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya serta shalawat dan salam tercurah atas junjungan Rasulullah Muhammad SAW, keluarga, para sahabat, dan pengikut-pengikutnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan judul *"Konversi Selulosa Menjadi Glukosa Pada Substrat Dedak Padi dengan Menggunakan Enzim Selulase dari Pankreas Sapi"*, sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelas Sarjana Sains Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Ayahanda Mannan yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan moril maupun materil, dan Ibuanda Hawaniah (Almarhumah) yang semasa hidupnya senantiasa memberikan kasih sayang dan semangat kepada penulis.

Tak lupa pula ucapan terimakasih yang tak terhingga kepada Ibu Dra. Rugaiyah Arfah, MSi selaku pembimbing utama dan juga kepada Bapak Drs. Abd. Karim, MSi selaku pembimbing pertama yang telah memberikan banyak nasehat, bimbingan dan arahan selama penelitian berlangsung hingga terselesaikannya skripsi ini. Penulis juga tak lupa menghaturkan terimakasih yang tak terhingga kepada Bapak Prof. Dr. M. Noor Jalaluddin, MSi selaku Penasehat Akademik yang senantiasa memberikan perhatian dan nasehatnya terhadap kendala akademik yang dihadapi penulis selama perkuliahan, juga terhadap seluruh staf dosen pengajar jurusan Kimia FMIPA UNHAS yang senantiasa tulus

mencurahkan ilmu yang tak ternilai harganya. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Biokimia jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Bapak Prof. Dr. H. Abd. Rauf Patong, juga kepada analisisnya, Ibu Mahdalia yang banyak membantu dalam menjalankan penelitian ini. Selanjutnya, ucapan terimakasih penuh cinta karena Allah kepada teman-teman "seperjuangan" dalam wadah Hizbut Tahrir yang senantiasa memberikan semangat dan mengingatkanku dikala aku khilaf. Juga kepada teman-teman yang tergabung dalam tim penelitian ini (Mardia, Ammi, Mufty, Sofyan, Yunus dan Rahman), segenap teman-teman angkatan 2000 dan seluruh adik-adik angkatanku, terimakasih untuk semuanya. Untuk sahabat sekaligus adik seperjuanganku Khaerati dan keluarganya yang telah banyak membantuku dalam menyelesaikan skripsi ini, terimakasihku tulus kuucapkan, Insya Allah kebersamaan kita dipenuhi cinta dari Allah. Kepada kakak, adik, dan seluruh keluarga yang tak bisa kusebutkan satu per satu, terima kasih atas segala dukungannya selama ini.

Penulis menyadari keterbatasan dan kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini, olehnya itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritikan yang sifatnya membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amin.

Wassalamu 'Alaikum Wr. Wb.

Makassar, Desember 2005

Penulis

ABSTRAK

Dedak padi merupakan limbah hasil penggilingan padi yang banyak mengandung selulosa. Selulosa dapat dikonversi menjadi glukosa dengan menggunakan enzim selulase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum (pH, suhu dan konsentrasi substrat) dan juga aktivitas enzim selulase dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi. Enzim selulase diperoleh dengan cara isolasi dari pankreas sapi dalam tiga tahap : ekstraksi, fraksinasi dan dialisis. Penentuan aktivitas enzim selulase dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa dilakukan berdasarkan metode Nelson-Somogy, yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Enzim selulase mampu mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi dan bekerja secara optimum pada pH 4,8, suhu 40 °C dan konsentrasi substrat 3,0 %. Kadar glukosa yang diperoleh pada kondisi optimum adalah sebesar 7,501 $\mu\text{mol/mL}$ dengan aktivitas enzim 0,057 unit/mL. Jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa adalah 4,5 %.

Kata Kunci : *Dedak Padi, Enzim Selulase, Konversi, Pankreas Sapi.*

ABSTRACT

The bran of rice is waste of mill rice containing much cellulose. Cellulose can convert to glucose by using cellulase enzyme. The purpose of this research is to know optimum condition (pH, temperature and substrate concentration) at the cellulase enzyme and to know activity of cellulase enzyme in convert cellulose to glucose in the bran of rice substrate. Cellulase enzyme isolated from cow pancreas and carried out in the three stages namely : extraction, fractionation and dialysis. Determination of enzyme activity in convert cellulose to glucose was conducted based on the amount of glucose produced from degradation bran of rice and carried out by using Nelson-Somogy method measured by UV-Vis Spectrophotometre. The optimum condition of cellulase enzyme of cow to the substrate bran of rice sawdust proceeded at a pH 4,8, temperature 40 °C and substrate concentration 3,0 %. The glucose level obtained in the optimal condition was 7,501 $\mu\text{mol/mL}$ with the enzyme activity of 0,057 unit/mL. Amount of glucose obtained from conversion cellulose in the optimal condition before dialysis was 4,5 %.

Keywords : The Bran of Rice, Cellulose Enzyme, Convert, Cow Pancreas

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Maksud Penelitian	3
1.3.2 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Dedak Padi	4
2.2 Selulosa	4
2.3 Tinjauan Umum Tentang Enzim	5
2.4 Enzim selulase	6
2.5 Sapi Sebagai Penghasil Enzim Selulase	7
2.6 Glukosa	8
	ix

BAB III METODE PENELITIAN	10
3.1 Bahan Penelitian	10
3.2 Alat Penelitian	10
3.3 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel	10
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.5 Metode Kerja	11
3.5.1 Penyiapan Sampel	11
3.5.2 Penentuan Kadar glukosa awal	11
3.5.3 Isolasi Enzim Selulase dari Pankreas Sapi	12
3.5.4 Fraksinasi dengan Ammonium Sulfat	12
3.5.5 Pengujian Aktivitas Enzim Selulase	12
3.5.6 Perhitungan Aktivitas Enzim Selulase	13
3.5.7 Penentuan Kurva Kalibrasi Glukosa Standar	13
3.5.8 Penentuan Kadar Protein Enzim	14
3.5.9 Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase	15
3.5.10 Pengolahan Data	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Penentuan Kadar Glukosa Sampel	18
4.2 Penentuan Kadar Protein Enzim	19
4.3 Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase	20
4.3.1 Penentuan pH Optimum Enzim Selulase	21
4.3.2 Penentuan Suhu Optimum Enzim Selulase	22
4.3.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Enzim Selulase	24

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Selulosa	5
2. Struktur Glukosa	8
3. Kurva Kadar Glukosa Sampel	19
4. Kurva Pengaruh pH Terhadap Aktifitas Enzim	22
5. Kurva Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim	23
6. Kurva Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim ..	25

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Sampel	18
2. Data Hasil Pengukuran Pengaruh pH Terhadap Aktifitas Enzim	21
3. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Suhu Terhadap Aktifitas Enzim .	23
4. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktifitas Enzim	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Penyiapan Substrat dan Penentuan Kadar Glukosa Awal	30
2. Bagan Kerja Isolasi Enzim Selulase dari Pankreas Sapi	31
3. Bagan Kerja Penentuan Kadar Protein enzim	32
4. Bagan Kerja Penentuan Aktivitas Enzim Selulase	33
5. Pembuatan Pereaksi yang Digunakan (Sudarmadji, 1984)	34
6. Kurva Standar Glukosa	35
7. Kurva Standar Protein	36
8. Contoh Perhitungan Kadar Glukosa, Kadar Protein, Aktivitas Enzim, dan Jumlah Glukosa yang Dihasilkan Dari Konversi Selulosa	37
9. Data pembuatan Larutan Buffer Sitrat	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berbagai macam sumber bahan baku yang dapat diperbaharui terdapat melimpah di sekeliling kita, misalnya hasil hutan dan hasil pertanian. Hasil hutan dan hasil pertanian selain menghasilkan bahan utama juga memberikan hasil samping (limbah) yang selama ini kurang dimanfaatkan, misalnya sekam padi, dedak padi, jerami padi dan sebagainya.

Dedak padi merupakan limbah hasil penggilingan padi yang selama ini hanya dijadikan sebagai bahan makanan ternak. Dedak padi mengandung selulosa yang cukup tinggi, yakni sekitar 40 %, yang memungkinkan untuk dimanfaatkan dalam produksi glukosa (Khomsan, 2001). Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase. Dimana enzim selulase ini merupakan enzim yang potensial digunakan dalam proses sakarifikasi bahan-bahan berselulosa menjadi gula sederhana. Kemungkinan memproduksi glukosa dari selulosa secara komersial menggunakan enzim selulase mikrobial telah dipelajari secara intensif (Rahman, 1992).

Terdapat berbagai jenis organisme yang mampu menghasilkan selulase. Rayap, pada saluran ususnya memiliki suatu organisme parasit yang mengeluarkan enzim selulase. Jamur dan bakteri pembusuk pada kayu juga memproduksi selulase. Vertebrata yang mampu menggunakan selulosa sebagai makanan adalah sapi dan hewan ruminan lainnya, tentu saja karena pada perutnya terdapat bagian yang dipadati oleh mikroorganisme yang menghasilkan selulase (Lehninger, 1990). Beberapa penelitian isolasi enzim selulase pun pernah

dilakukan, antara lain adalah pengujian aktivitas enzim selulase dari usus sapi pada substrat Karboksi Metil Selulosa (CMC) dan mikrokrystal selulosa dilakukan oleh Usman (2003) dengan aktivitas optimum diperoleh pada pH 4,4 pada substrat mikrokrystal selulosa dan pH 4,8 pada substrat Karboksi Metil Selulosa dengan suhu 50 °C dan konsentrasi substrat 3,0 mg/mL. Hal ini memperlihatkan bahwa enzim selulase dapat mengkonversi selulosa menjadi glukosa.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menganalisis kondisi optimum enzim selulase dalam menghidrolisis (mengkonversi) selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Sejumlah besar selulosa dihasilkan per tahun oleh dunia tumbuhan, tidak hanya dari tanaman hutan, tetapi juga tanaman yang dipanen manusia. Sebagian besar selulosa yang dihasilkan tersebut merupakan biomassa limbah pertanian. Sehingga, konversi selulosa menjadi materi yang bermanfaat (seperti glukosa) penting untuk dikembangkan. Ini tentu saja membutuhkan bantuan enzim selulase. Hanya saja, masalah utama yang dihadapi adalah cara untuk memperoleh enzim selulase yang memiliki aktifitas yang tinggi dan substrat yang sesuai sehingga dapat dihasilkan glukosa dengan konsentrasi dan efisiensi yang tinggi. Berdasarkan hal tersebut masalah yang dapat diidentifikasi apakah enzim selulase dari pankreas sapi dapat mengubah selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi dan bagaimana aktifitas enzim tersebut dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substratnya pada kondisi optimum.

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengisolasi enzim selulase dari pankreas sapi dan mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi dengan menggunakan enzim selulase.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan:

1. Mengisolasi enzim selulase dari pankreas sapi.
2. Menentukan kondisi optimum (pH, suhu dan konsentrasi substrat) pada enzim selulase dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi.
3. Menentukan aktivitas enzim selulase dari pankreas sapi dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada kondisi optimum.
4. Menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang kondisi optimum reaksi enzim selulase dari pankreas sapi dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi.
2. Menjadi informasi penting untuk pengembangan penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

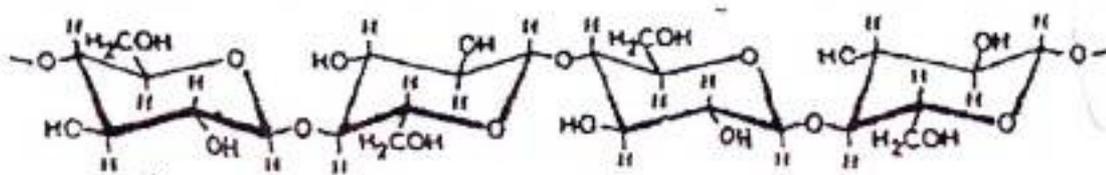
2.1 Dedak Padi

Dedak padi adalah limbah dari penggilingan padi yang umumnya hanya digunakan sebagai pakan ternak. Pada dedak padi yang telah distabilisasi ditemukan sekitar 33,0 %-40,0 % serat makanan, dimana serat makanan ini sebagian besar terdiri atas selulosa. Produk-produk beras dan turunannya diketahui mempunyai sifat tidak mendatangkan alergi, mudah dicerna, bebas gluten, dan kaya karbohidrat kompleks. Keunggulan-keunggulan tersebut menjadikan dedak sebagai salah satu produk ikutan beras sangat berguna sebagai pangan alternatif manusia (Khomsan, 2001; Poedjiadi, 1994).

2.2 Selulosa

Selulosa adalah senyawa seperti serabut, liat, tidak larut di dalam air. Senyawa ini berfungsi sebagai pembangun struktur sel berbagai jenis tanaman yang biasanya ditemukan di dalam dinding sel pelindung tumbuhan, terutama pada tangkai, batang, dahan dan semua bagian berkayu dari jaringan tumbuhan. Karena itu, selulosa merupakan senyawa makromolekul yang paling banyak tersedia di alam. Berbagai jenis limbah pertanian dan limbah industri yang menggunakan hasil pertanian sebagai bahan baku merupakan sumber selulosa yang relatif murah harganya (Rahman, 1992).

Selulosa sebagai homo polisakarida linear tidak bercabang, terdiri dari 10.000 atau lebih unit D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan $\beta 1 \rightarrow 4$ glukosida (Lehninger, 1990) memiliki rumus seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur selulosa.

Salah satu sifat yang dimiliki oleh selulosa ialah kemampuannya menyerap air dan mengembang. Selulosa menyebabkan ekskresi garam-garam empedu diperbesar, apabila gumpalan makanan mengandung banyak serat. Selulosa juga mempunyai kemampuan mengikat asam fosfat (Poedjiadi, 1994).

2.3 Uraian Umum Tentang Enzim

Enzim adalah sekelompok protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk berbagai reaksi kimia dalam sistem biologik, diantaranya menguraikan molekul nutrien, menyimpan dan mengubah energi kimiawi, dan membuat makromolekul sel dari prekursor sederhana. Sintesis enzim terjadi di dalam sel dan sebagian besar enzim dapat diekstraksi dari sel tanpa merusak fungsinya (Lakitan, 1993).

Semua enzim murni yang diamati sampai saat ini adalah protein dan aktivitas katalitiknya tergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim, mempunyai berat molekul yang berkisar dari 12.000 sampai lebih dari satu juta. Enzim telah menjadi alat praktis yang penting, bukan hanya dalam dunia kesehatan, tetapi juga dalam kimiawi, dalam pengolahan pangan dan pertanian. Satuan untuk mengukur aktivitas enzim disebut sebagai *unit*. Telah disepakati untuk mendefinisikan *1 unit international (UI) enzim sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk mengubah 1 μ mol substrat atau menghasilkan 1 μ mol produk*

dalam waktu 1 menit, dalam suhu dan pH lingkungan yang tertentu (Sadikin, 2002).

2.4 Enzim Selulase

Selulase merupakan enzim yang potensial untuk digunakan dalam proses sakarifikasi bahan-bahan berselulosa menjadi gula-gula sederhana. Kemungkinan memproduksi glukosa dari selulosa secara komersial menggunakan enzim selulase mikrobial telah dipelajari secara intensif (Rahman, 1992).

Enzim selulase adalah enzim yang termasuk dalam kelompok enzim hidrolase (EC.3.2.1.4) yang mengkatalisis reaksi pemutusan ikatan β -1,4-glikosida dari senyawa selulosa, selodekstrin, selobiosa dan turunan selulosa lainnya. Selulase merupakan nama trivial bagi enzim selulase, sedangkan nama sistematiknya adalah β -1,4-glukan-4-glukanohidrolase. Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri atas enzim-enzim yang bekerja secara bertahap atau bebrsama-sama menguraikan selulosa menjadi glukosa (Wirahadikusumah dan Madayanti, 1990).

Terdapat banyak jenis bakteri dan jamur di dalam tanah yang mampu menghasilkan selulase, juga pada beberapa hewan ruminan. Mula-mula mikroba tersebut mengeluarkan enzim selulase untuk memecah selulosa menjadi molekul selobiosa, yang selanjutnya dipecah menjadi glukosa oleh enzim beta-glukosidase (Sujayanto, 2000).

Menurut Fengel dan Wegener, 1995, enzim-enzim yang menyusun selulase berdasarkan spesifitas substrat dapat dibagi menjadi:

1. *Endo- β -1,4-glukonase*, yaitu enzim yang menghidrolisis ikatan glikosidik secara acak. Enzim ini tidak menyerang selobiosa tapi menghidrolisis

selodekstrin (selulosa yang telah dilunakkan dengan asam fosfat dan selulosa yang telah disubstitusi, seperti CMC, karboksi metil selulosa).

2. β -1,4-glukan selobiohidrolase, yaitu enzim yang menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan selobiosa. Enzim ini dapat menyerang selodekstrin, tetapi tidak dapat menyerang selulosa yang telah tersubstitusi serta tidak dapat menghidrolisis selobiosa.
3. β -1,4-glukan glukohidrolase, yaitu enzim yang menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan glukosa. Enzim ini menyerang selulosa yang telah dilunakkan oleh asam fosfat, misalnya selo-oligosakarida dan CMC.
4. β -1,4-glukosidase, yaitu enzim yang menghidrolisis selobiosa dan rantai pendek selo-oligosakarida dan menghasilkan glukosa. Enzim ini tidak menyerang selulosa atau selo-dekstrin.

Komponen-komponen enzim dalam sistem selulase dapat diukur dengan cara menentukan (1) aktivitas karboksimetilselulase (CMC-ase), (2) "Filter Paper Activity" (FPA), dan (3) "Cotton degrading Activity" (CA) (Rahman, 1992).

2.5 Sapi Sebagai Sumber Enzim Selulase

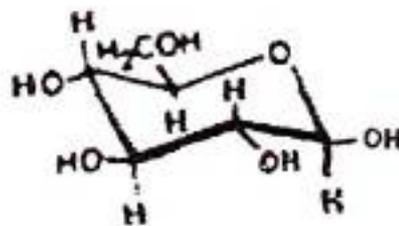
Lambung ruminansia terdiri atas 4 bagian, yaitu *rumen*, *retikulum*, *omasum*, dan *abomasum* dengan ukuran yang bervariasi sesuai dengan umur dan makanan alamiahnya. Kapasitas rumen 80%, retikulum 5%, omasum 7-8%, dan abomasum 7-8%. Pembagian ini terlihat dari bentuk gentingan pada saat otot sfinkter berkontraksi. Makanan dari kerongkongan akan masuk rumen yang berfungsi sebagai gudang sementara bagi makanan yang tertelan. Di rumen

terjadi pencernaan protein, polisakarida, dan fermentasi selulosa oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri dan jenis protozoa tertentu (Anonim, 2000).

Sejumlah protozoa terdapat dalam rumen sapi seperti *Polyplastron multiresiculatum* dan *Ophyroscolex tricornatus*. Protozoa-protozoa tersebut memecah selulosa menjadi selobiosa dan akhirnya menjadi glukosa (Arora, 1989).

2.6 Glukosa

Glukosa merupakan turunan heksan (6 rantai karbon) dengan ikatan OH pada setiap karbon, kecuali rantai akhir, dimana terdapat sebuah karbonil aldehyd karena rantai ini fleksibel, ia dapat membentuk siklik pada 2 karbon yang terakhir bereaksi membentuk cincin, sehingga terdapat dua bentuk glukosa, yakni cincin dan rantai (Chaplin, 2004). Berikut ini adalah gambar struktur dari glukosa.



Gambar 2. Struktur Glukosa Dalam Bentuk Cincin

Glukosa adalah sumber energi yang memiliki atom karbon yang mudah dioksidasi membentuk karbondioksida melepaskan energi dalam proses tersebut. Glukosa tidak sama dengan bahan bakar hidrokarbon yang lain, yang tidak larut dalam air, sejumlah gugus OH dalam glukosa dapat berikatan dengan hidrogen pada molekul air, yang membuatnya larut dalam air. Inilah yang menyebabkan glukosa mudah dipindahkan dalam sistem biologi, misalnya dalam pembuluh darah hewan atau getah tanaman. Pada orang dewasa membutuhkan 5-6 gram

glukosa dalam darahnya, yang akan mensuplai energi tubuh yang dibutuhkan hanya dalam 15 menit, kemudian harus mengambil dari senyawa yang tersimpan dalam hati (Anonim, 2000).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : pankreas sapi, dedak padi, albumin fraktion V, natrium hidroksida, folin ceucalteu, natrium karbonat anhidrat, natrium bikarbonat, natrium kalium tartat, natrium sulfat anhidrat, natrium hidrogen arsenat, natrium sitrat dihidrat, natrium klorida, asam sulfat pekat, kristal ammonium sulfat, ammonium molybdat, asam sitrat monohidrat, asam sitrat, asam asetat, natrium sitrat, natrium asetat, glukosa monohidrat dan aquades.

3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, blender (National), lemari pendingin (Emerald), inkubator (Memmert), pH meter (Shimadzu), ultra sentrifugasi (Heraeus), kain penyaring, plastik selofan (sigma 250-7u), oven (Memmert), penangas air (Memmert), freezer drayer, autoklaf, kapas, aluminium foil, Spektrofotometer UV-Vis dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

3.3 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel

Pengambilan sample dedak padi diambil secara acak disebuah pabrik beras di Kabupaten Je'nepono pada bulan Juli 2004, sedangkan sampel pankreas sapi diambil secara acak di Pasar Pa'baeng-baeng Makassar pada bulan Agustus 2004.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2004 sampai dengan Juni 2005 dan dilakukan dilaboratorium Biokimia jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Laboratorium Bioteknologi PKP UNHAS dan dianalisis di Laboratorium mikrobiologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS.

3.5 Metode Kerja

3.5.1 Penyiapan Substrat

Limbah dedak padi dijemur hingga kering, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan grinder, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Selanjutnya bubuk yang dihasilkan ditimbang sebanyak 0,5 g; 1,0 g; 1,5 g; 2,0 g; 2,5 g; 3,0 g; 3,5 g dan 4,0 g, kemudian masing-masing ditambahkan dengan air sebanyak 100 mL. Kemudian diautoklaf selama ± 20 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 120 psi, selanjutnya disimpan di dalam lemari pendingin untuk perlakuan selanjutnya.

3.5.2 Penentuan Kadar Glukosa awal (Metode Nelson-Somoghy)

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 9 buah, satu buah tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 8 buah tabung reaksi lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL substrat dedak padi dengan konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 dan 4,0 % yang telah diencerkan. Lalu masing-masing ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100°C selama ± 20 menit. Selanjutnya didinginkan dengan air es hingga suhu larutan sama dengan suhu kamar. Setelah dingin, ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat dan 7 mL aquades, kemudian dikocok

hingga bercampur rata. Selanjutnya dibiarkan pada suhu kamar selama ± 20 menit, lalu diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 740$ nm.

3.5.3 Isolasi Enzim Selulase dari Pankreas Sapi

Sebanyak 250 g pankreas sapi dihomogenasi dengan 500 mL NaCl 1 % (pH = 7) dalam blender selama ± 10 menit, lalu disaring dengan kain saring. Residu dibuang dan filtratnya disentrifugase dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit pada suhu 4 °C supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak enzim selulase.

3.5.4 Fraksionasi Dengan Ammonium Sulfat

Ekstrak enzim selulase (enzim selulase kasar) difraksionasi dengan ammonium sulfat pada kejenuhan 40-60 %, dilakukan dengan cara penambahan amonium sulfat sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga larut sempurna, lalu didiamkan selama ± 24 jam pada lemari pendingin, selanjutnya disentrifuigase selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4 °C. Endapan yang diperoleh diuji aktivitasnya dengan metode Nelson-Somogy.

3.5.5 Pengujian Aktifitas Enzim Selulase

Endapan yang dihasilkan pada tahap fraksionasi dilarutkan dalam aquades dengan konsentrasi 1 mg/mL. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL buffer sitrat pH 5,6 dan 1 mL substrat dedak padi konsentrasi 0,5 % lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu 30 °C. Setelah diinkubasi selama 1 jam, dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 20 menit. Selanjutnya didinginkan dalam air es hingga mencapai suhu kamar, kemudian diencerkan dengan pengenceran tertentu dan diambil

sebanyak 1 mL. Selanjutnya ditambahkan dengan reagen Nelson sebanyak 1 mL. Kemudian dipanaskan lagi selama 20 menit. Setelah dingin, ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat sambil dikocok dan terakhir ditambahkan 7 mL aquades sambil dikocok hingga bercampur rata lalu diamkan selama 20 menit. Kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan $\lambda = 740 \text{ nm}$.

Sebagai kontrol dikerjakan seperti di atas tetapi larutan enzim terlebih dahulu dipanaskan dalam air mendidih $100 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 30 menit lalu ditambahkan 1 mL substrat 0,5 %.

3.5.6 Perhitungan Aktivitas Enzim

Kadar glukosa hasil hidrolisis enzim dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi larutan standar glukosa pada berbagai konsentrasi 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 dan 0,10 $\mu\text{mol/mL}$. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan mensubstitusikan absorbansi larutan yang diperoleh pada pengujian aktivitas enzim ke dalam persamaan regresi kurva kalibrasi larutan standar glukosa. Aktivitas enzim yang diperoleh dinyatakan dalam unit/mL, dimana 1 unit adalah aktivitas enzim yang menghasilkan 1 μmol glukosa pada suhu $40 \text{ }^\circ\text{C}$ per menit pada kondisi percobaan.

3.5.7 Penentuan Kurva Kalibrasi Glukosa Standar

Ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 1 mL larutan glukosa standar dengan konsentrasi 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 dan 0,10 $\mu\text{mol/mL}$ (1,98 g glukosa monohidrat dilarutkan dengan aquades hingga tepat 100 mL, kemudian diencerkan hingga konsentrasi yang diinginkan). Selanjutnya ditambahkan 1 mL reagen Nelson, kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 20 menit, lalu

didinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat sambil dikocok, kemudian ditambahkan 7 mL aquades dan dikocok kembali hingga bercampur rata. Absorban diukur pada panjang gelombang 740 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara kadar glukosa dan absorban. Untuk blanko, larutan glukosa standar diganti dengan 1 mL aquades dengan perlakuan yang sama seperti di atas.

3.5.8 Penentuan Kadar Protein Enzim

Langkah-langkah yang dilakukan dalam penentuan kadar protein enzim adalah :

1. Penyiapan Larutan Standar Protein

Albumin fraktion V ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades, lalu diencerkan hingga diperoleh larutan protein dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 mg/mL.

2. Penyiapan Kurva Kalibrasi

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 6 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 5 buah tabung reaksi yang lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL larutan protein standar dengan konsentrasi yang telah disiapkan. Selanjutnya larutan-larutan tersebut dikerjakan berdasarkan metode Lowry.

3. Penentuan Kadar Protein Enzim

Penentuan kadar protein dilakukan berdasarkan metode Lowry, yakni sebagai berikut: sebanyak 1 mL larutan enzim (ekstrak enzim atau serbuk enzim) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 8 mL reagen Lowry B, kemudian dikocok hingga bercampur rata, kemudian dibiarkan pada suhu kamar

selama ± 10 menit, selanjutnya ditambahkan 1 mL Lowry A dan 1 mL aquades. Campuran dikocok hingga rata, lalu didiamkan pada suhu kamar selama ± 30 menit, selanjutnya absorban larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm, kemudian kadar proteinnya ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi hubungan antara kadar protein dengan absorbansinya.

3.5.9 Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase

Penentuan kondisi kerja optimum meliputi penentuan, pH, suhu, dan konsentrasi substrat optimum, yang dilakukan sebelum dan sesudah pemurnian dengan metode dialisis. Berikut adalah langkah-langkah pengerjaannya :

1. Penentuan pH optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 8 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 7 buah tabung reaksi yang lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL substrat dedak padi dengan konsentrasi 0,5 %, lalu masing-masing ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase dan 1 mL buffer sitrat dengan variasi pH 4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2; 5,4 dan 5,6 kemudian dikocok hingga bercampur rata. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu 30 °C, setelah itu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama ± 20 menit. Kadar glukosa ditentukan dengan metode Nelson-Somogy, yakni larutan campuran diencerkan, kemudian disaring lalu 1 mL larutan tersebut diambil, dan ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Kemudian dipanaskan kembali dalam penangas air pada suhu 100 °C selama ± 20 menit sambil diaduk. Setelah itu, didinginkan dalam air es hingga suhu larutan sama dengan suhu kamar. Setelah dingin, masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat dan 7 mL aquades, lalu campuran tersebut dikocok hingga rata,

dan didiamkan pada suhu kamar selama \pm 20 menit. Selanjutnya, pengukuran absorban dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm.

2. Penentuan Suhu Optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 5 buah, satu buah tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 4 buah tabung reaksi lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL substrat dedak padi dengan konsentrasi 0,5 % dan 1 mL buffer sitrat pH 4,8 lalu ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam dengan variasi suhu 30, 40, 50, dan 60 °C. Kemudian masing-masing tabung reaksi dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 100 °C selama \pm 20 menit. Selanjutnya ditentukan kadar glukosanya dengan metode Nelson-Somogy, dan dilakukan sama seperti pada percobaan sebelumnya.

3. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 8 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 7 buah tabung reaksi yang lainnya diisi dengan 1 ml substrat dedak padi dengan variasi konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 dan 4,0 %, kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase dan 1 mL buffer sitrat pH 4,8 lalu dikocok hingga bercampur rata. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar, setelah itu, dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 100 °C selama \pm 20 menit, kemudian ditentukan kadar glukosanya dengan metode Nelson-Somogy, dan dilakukan sama seperti percobaan sebelumnya.

3.5.10 Pengolahan Data

Kadar glukosa dan kadar protein yang diperoleh, selanjutnya digunakan untuk menentukan aktifitas enzim dan aktivitas spesifik enzim dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{[(\text{Glukosa setelah hidrolisis}) - (\text{Glukosa awal})]}{\text{Waktu Inkubasi}}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{\text{Aktivitas Enzim}}{\text{Konsentrasi Protein Enzim}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diperoleh meliputi beberapa tahapan, yaitu penentuan kadar glukosa sampel, penentuan kadar protein enzim, penentuan kondisi kerja optimum enzim selulase dan penentuan aktivitas enzim selulase.

4.1 Penentuan Kadar Glukosa Sampel

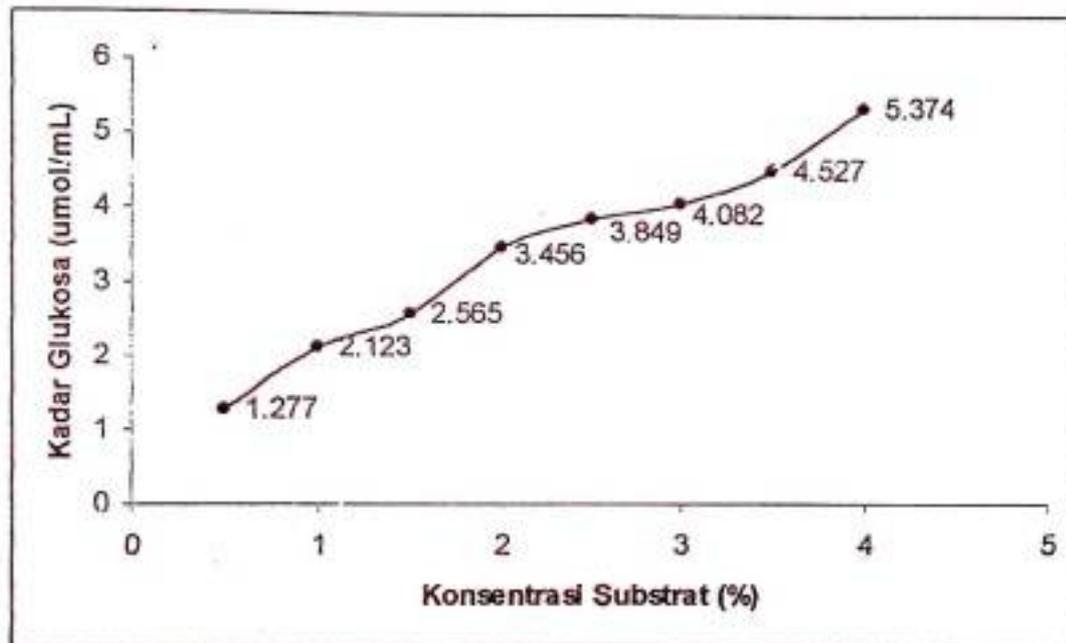
Data hasil pengukuran kadar glukosa sampel ditunjukkan pada Tabel 1, perhitungan dilakukan berdasarkan kurva standar glukosa yang ditunjukkan pada Lampiran 6 dan untuk contoh perhitungan kadar glukosa ditunjukkan pada Lampiran 8.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Sampel

Konsentrasi substrat (%)	Absorban	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)
0,5	0,213	1,277
1,0	0,424	2,123
1,5	0,534	2,565
2,0	0,756	3,456
2,5	0,854	3,849
3,0	0,912	4,082
3,5	1,023	4,527
4,0	1,234	5,374

Keterangan : Pengenceran 50 kali

Data pada Tabel 1 tersebut jika diplotkan dalam bentuk grafik, maka hubungan antara konsentrasi substrat dengan kadar glukosa sampel ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva kadar glukosa sampel

Tabel 1 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi substrat, maka akan semakin besar pula kadar glukosa yang terkandung dalam substrat tersebut.

4.2 Penentuan Kadar Protein Enzim Penentuan Kadar Protein Enzim (1)

Enzim selulase yang digunakan dalam penelitian ini merupakan enzim yang diisolasi dari pankreas sapi melalui tiga tahap, yakni ekstraksi, fraksinasi dan dialisis. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan NaCl 1 %, selanjutnya ekstrak dari enzim kasar yang berupa emulsi tersebut disentrifugasi agar enzim yang diinginkan tersuspensi dan terpisah dari jaringan sel. Tahap berikutnya adalah enzim yang telah tersuspensi dalam larutan selanjutnya difraksinasi

dengan penambahan garam amonium sulfat $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ pada tingkat kejenuhan 40-60%. Hal ini karena berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya, diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Isra, 2004, memperlihatkan bahwa aktivitas paling tinggi diperoleh pada fraksi tersebut yang berarti paling banyak mengandung enzim selulase. Hal ini menunjukkan pula bahwa amonium sulfat dengan kejenuhan 40-60 % sudah cukup untuk menarik sebagian besar molekul air sehingga tidak tersedia lagi untuk melarutkan molekul enzim selulase.

Enzim yang telah diisolasi ditentukan kadar protein enzimnya berdasarkan kurva standar protein yang ditunjukkan pada Lampiran 7 dan untuk perhitungan kadar protein enzim ditunjukkan pada Lampiran 8. Dari hasil pengukuran diperoleh data absorban enzim kasar sebesar 0,289. Dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva standar protein, maka akan didapatkan data kadar protein enzim kasar sebesar 13,170 mg/mL.

Ini menunjukkan bahwa kadar protein enzim kasar cukup tinggi. Hal ini karena sebelum fraksinasi masih terdapat beberapa jenis protein selain protein enzim selulase dalam larutan, yang menyebabkan kadar protein enzim tersebut cukup tinggi, sedangkan setelah fraksinasi dan dialisis kadar protein menurun. Hal ini karena enzim tersebut telah terpisahkan dengan protein-protein lain dan didapatkan enzim selulase.

4.3 Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase.

Penentuan kondisi kerja optimum enzim selulase dilakukan sebelum dan sesudah dialisis. Hal ini dimaksudkan agar dapat dibandingkan aktivitas enzim

sebelum dan sesudah dialisis serta mempelajari efek pemurnian dengan cara dialisis bagi enzim selulase.

4.3.1 Penentuan pH Optimum Enzim Selulase

Data hasil pengukuran pengaruh pH terhadap aktivitas enzim sebelum dialisis ditunjukkan pada Tabel 2; data aktivitas enzim diperoleh dari jumlah glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa dan aktivitas enzim ditunjukkan pada Lampiran 6.

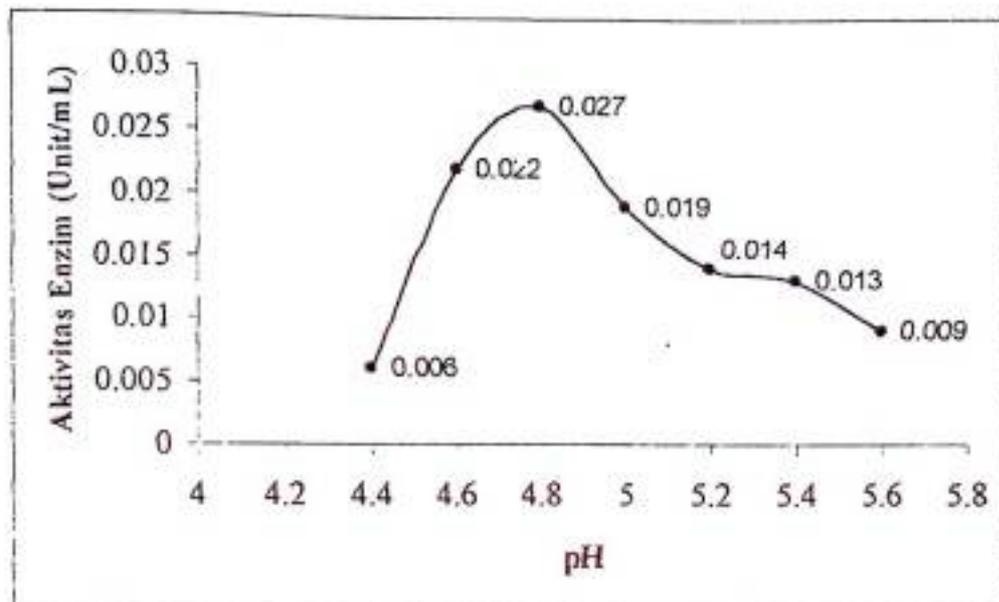
Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim.

PH	Absorban	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas Enzim (Unit/mL)
4,4	0,304	1,642	0,006
4,6	0,544	2,605	0,022
4,8	0,611	2,874	0,027
5,0	0,501	2,432	0,019
5,2	0,423	2,119	0,014
5,4	0,401	2,031	0,013
5,6	0,359	1,863	0,009

Keterangan : Konsentrasi 0,5 %, pengenceran 50 kali

Grafik hubungan antara pH dengan aktivitas enzim dapat dilihat pada

Gambar 4.



Gambar 4. Kurva pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

Tabel 2 dan Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi berada pada pH 4,8 dengan kadar glukosa 2,874 $\mu\text{mol/mL}$ dan aktivitas enzim 0,027 unit/mL. Keaktifan enzim cenderung meningkat sesuai dengan bertambahnya pH, tetapi setelah mencapai pH optimum yaitu 4,8 maka keaktifan enzim cenderung menurun. Hal ini karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH, yang menyebabkan denaturasi enzim sehingga mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim.

4.3.2 Penentuan Suhu Optimum Enzim Selulase.

Data hasil perhitungan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim sebelum dialisis dapat dilihat pada Tabel 3, aktivitas enzim diperoleh dari jumlah glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa dan aktivitas enzim ditunjukkan pada Lampiran 6.

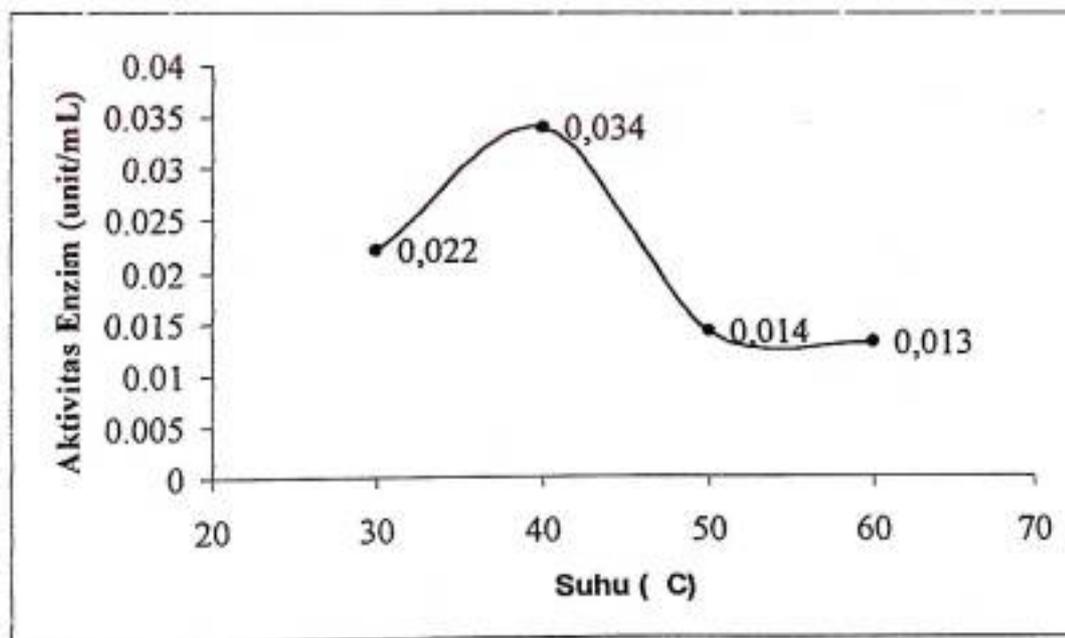
Tabel 3. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim.

Suhu (°C)	Absorban	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas enzim (unit/mL)
30	0,542	2,597	0,022
40	0,72	3,311	0,034
50	0,425	2,127	0,014
60	0,420	2,107	0,013

Keterangan : Konsentrasi substrat 0.5 %, pH optimum 4.8
Pengenceran 50 kali

Grafik hubungan antara suhu dengan aktivitas enzim dapat dilihat pada

Gambar 5.



Gambar 5. Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim.

Tabel 3 dan Gambar 5 menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi berada pada suhu 40 °C dengan kadar glukosa 3,311 $\mu\text{mol/mL}$ dan aktivitas enzim 0,034 unit/mL. Karena itu dapat disimpulkan bahwa suhu optimum enzim selulase dari usus sapi pada substrat dedak padi adalah 40 °C. Aktivitas enzim meningkat hingga mencapai suhu 40 °C, dan setelah itu aktivitasnya menurun

kembali. Hal ini disebabkan, setelah melewati suhu optimum sebagian molekul enzim mengalami denaturasi jika suhunya dinaikkan yang mengakibatkan aktivitas enzim menjadi berkurang.

4.3.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Enzim Selulase

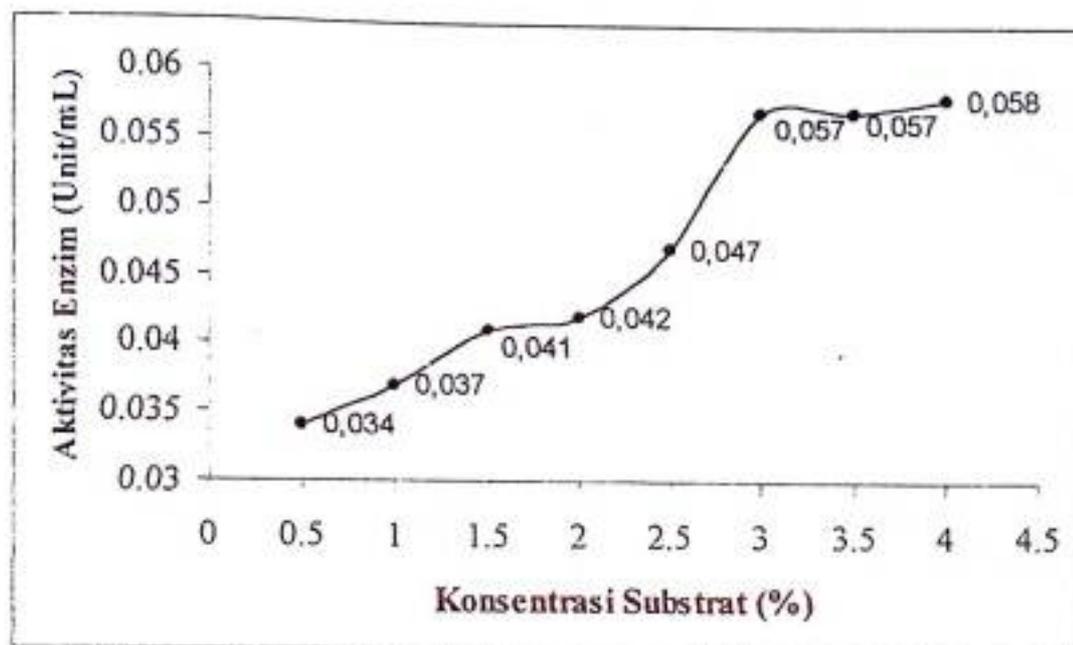
Selanjutnya dilakukan penentuan konsentrasi substrat dimana data hasil pengukuran pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim.

Konsentrasi substrat	Absorban	Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas Enzim (Unit/mL)
0,5	0,720*	3,311	0,034
1,0	0,980*	4,354	0,037
1,5	1,150*	5,037	0,041
2,0	0,637**	5,956	0,042
2,5	0,707**	6,518	0,047
3,0	0,829**	7,497	0,057
3,5	0,885**	7,946	0,057
4,0	0,997**	8,845	0,058

Keterangan: pH 4,8; suhu 40°C;
*pengenceran 50 kali;
**pengenceran 100 kali

Grafik hubungan antara konsentrasi substrat dengan aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kurva hubungan antara konsentrasi substrat dengan aktivitas enzim.

Tabel 4 dan Gambar 6 menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi berada pada konsentrasi substrat 3,0 % dengan pH optimum 4,8 dan suhu 40 °C diperoleh kadar glukosa 7,501 $\mu\text{mol/mL}$ dan aktivitas enzim 0,057 unit/mL. Aktivitas enzim cenderung meningkat hingga mencapai konsentrasi substrat 3,0 %. Setelah konsentrasi substrat berada di atas 3,0 % aktivitas enzim tetap meningkat tetapi peningkatan aktivitasnya tidak begitu berarti. Ini disebabkan oleh sisi aktif (active site) dari enzim telah jenuh dengan substrat sehingga tidak mampu lagi mengikat molekul substrat lainnya. Dengan demikian terjadi penurunan laju reaksi, yang menandakan bahwa enzim telah bekerja dengan kapasitas penuh. Maka diperoleh konsentrasi substrat optimum dedak padi untuk enzim selulase dari pankreas sapi adalah 3,0 % dengan aktivitas enzim 0,057 unit/mL.

Dari kadar glukosa optimum yang diperoleh sebelum dialisis maka dapat diketahui glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa yakni sekitar 4,5 %. Perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 8.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil yaitu bahwa enzim selulase dari pankreas sapi dapat bekerja mengubah selulosa menjadi glukosa pada substrat dedak padi. Enzim selulase ini bekerja secara optimum pada pH 4,8 dan suhu 40 °C dengan konsentrasi substrat optimum 3,0 %, dengan kadar glukosa sebesar 7,501 $\mu\text{mol/mL}$, aktifitas enzim yang diperoleh pada kondisi optimumnya adalah 0,057 unit/mL, dengan jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa adalah 4,5 %.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan praperlakuan penghilangan lignin sebelum hidrolisis
2. Perlu dilakukan penambahan aktivator agar hasil yang diinginkan dapat diperoleh secara maksimal.
3. Perlu dilakukan penentuan waktu inkubasi optimum dan konsentrasi enzim optimum untuk memperoleh kadar glukosa yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, *Glucose*, (http://www.ch.ic.ac.uk/vchemlib/mim/bristol/glucose/glucose_text.htm), diakses 8 April 2005
- Anonim, 2000, *Sistem Pencernaan Makanan Hewan Memamah Biak*, (<http://bebas.vism.org/v12/sponsor/Sponsor-Pendamping/Praweda/Biologi/0066%20B10%202-sd.htm>), diakses 15 April 2005
- Arora, S. P., 1984, *Pencernaan Mikroba pada Ruminansia*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 56.
- Chaplin, M., 2004, *Glucose From Cellulose*, (<http://lsbu.ac.uk/biology/enztech/cellulose.html>), diakses 15 April 2005.
- Fengel, D., dan Wegener, 1995, *Kayu: Kimia, Ultrasruktur, Reaksi-reaksi*, Terjemahan oleh Dr. HardjonoSastrohamidjojo, 1995, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Iranmahboob, J., Nadhim, F dan Monemi, S., 2002, *Optimizing Acid-Hydrolysis : a Critical Step for Production of Ethanol from Mixed Wood Chip, Biomassa and Bioenergy*, 22, 402-404.
- Isra, 2004, *Studi Kondisi Optimum Enzim Selulase dari Usus Sapi Terhadap Substrat Serbuk Kayu Agatis*, Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Khomsan, A., 1998, *Serat, Gizi yang Terlupakan*, (<http://www.kompas.com/kompas-cetak/0105/06/iptek/serazz.htm>), diakses 15 April 2005.
- Lakitan, B., 1993, *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*, Pt. Raja Grafindo Persada, Jakarta, 94.
- Lehninger, A. L., 1982, *Dasar-Dasar Biokimia*, Terjemahan oleh Thenawidjaya, 1990, Institut Pertanian Bogor, Erlangga, Jakarta, 326, 328.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, UI-Press, Jakarta, 421.
- Rahman, A., 1993, *Pengantar Teknologi Fermentasi*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor, 134.
- Sadikin, M., 2002, *Biologi Enzim*, Widya Medika, Jakarta, 133.

- Sudarmadji, S., Bambang, H. Dan Suhardji, 1984, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta, 130.
- Sujayanto, G., 2000, *Mengendalikan Tinja dengan Mikroba*, (<http://www.indomedia.com/intisari/intisari.cdf>) diakses 15 April 2005.
- Wirahadikusumah, M., dan Madayanti, F., 1990, *Teknologi Enzim*, Bioteknologi ITB, Bandung, 136.
- Usman, 2003, *Isolasi dan Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase dari Pankreas Sapi Terhadap Substrat Karboksi Metil Selulosa (CMC) dan Mikrobial Selulosa*, Tesis, Pasca sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.