

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA
PADA SUBSTRAT SERBUK KAYU BAYAM (*Intsia bijuga*)
DENGAN MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE
DARI PANKREAS SAPI**



MARDIA

H 311 00 075



Tgl. Terima	04-01-06.
Asal Dari	Fac. MIPA.
Banyaknya	115atom/eky
Harga	H
No. Inventaris	464/04-1-06.
No. Klas	

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

2005

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA
PADA SUBSTRAT SERBUK KAYU BAYAM (*Intsia bijuga*)
DENGAN MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE
DARI PANKREAS SAPI**



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

Oleh :

MARDIA

H 311 00 075



MAKASSAR

2005

SKRIPSI

**KONVERSI SELULOSA MENJADI GLUKOSA
PADA SUBSTRAT SERBUK KAYU BAYAM (*Intsia bijuga*)
DENGAN MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE
DARI PANKREAS SAPI**

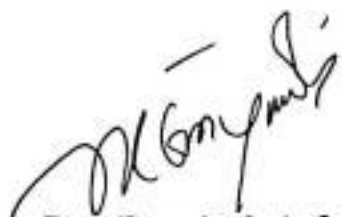
Disusun dan diajukan oleh :

MARDIA

H 311 00 075

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

"Perumpamaan (nafkah yang dikeluarkan) orang-orang yang menafkahkan hartanya di jalan Allah adalah serupa dengan sebutir benih yang menumbuhkan tujuh bulir, pada tiap-tiap bulir : seratus biji. Allah melipatgandakan (ganjaran) bagi siapa yang dikehendaki-Nya. Dan Allah maha luas (kurnia-Nya) lagi maha mengetahui"
(Q.S Al-Baqarah, 261)

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

PRAKATA

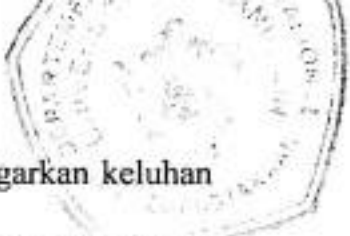


Assalamu 'Alaikum Wr. Wb.

Dalam fajar kearifan-Mu ya Allah hamba datang bersujud seraya mengucapkan rasa syukur atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Mu serta salam dan shalawat bagi Rasulullah *Sallallahu 'Alaihi Wasallam*, keluarga, sahabat-sahabatnya dan para pengikutnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan judul "*Konversi Selulosa Menjadi Glukosa Pada Substrat Serbuk Kayu Bayam Dengan Menggunakan Enzim Selulase Dari Pankreas Sapi*", sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada Ayahanda H. Nompo dan Ibunda Hj. Kamariah, selaku orang tua tercinta yang telah memberiku semangat dan dorongan serta kasih sayang yang tak ternilai harganya dalam mengarungi samudera hidup yang penuh dengan ranjau-ranjau kehidupan yang melelahkan.

Penulis menghaturkan pula banyak 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 dengan sabar membimbing, memberi saran dan bantuan selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih banyak kepada Bapak Prof. Dr. H. M. Noor Jalaluddin, MSi selaku penasehat akademik dan juga



kepada Ibu Dra. Hj. Hasnah Natsir, MSi yang senantiasa mendengarkan keluhan akademik dan memberikan semangat dalam menjalani hiruk pikuk perkuliahan. Dan penulis juga taklupa menghaturkan banyak terimakasih kepada seluruh staf dosen pengajar jurusan Kimia FMIPA UNHAS yang senantiasa tulus dalam memberi bekal ilmu serta kepada seluruh staf administrasi Jurusan kimia FMIPA UNHAS yang telah membantu kelancaran pengurusan berkas-berkas yang kami butuhkan. Ucapan terimakasih taklupa juga penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Biokimia jurusan kimia FMIPA UNHAS, Bapak Prof. Dr. H. Abd. Rauf Patong, dan juga kepada analisisnya, Ibu Mahdalia yang dengan sabar telah membantu dalam menjalankan penelitian ini.

Penulis menghaturkan pula terimakasih yang sebanyak-banyaknya kepada teman-teman "KEJORA" (Edji, Inna, Okta, Tenri, Melan, Ani, Pammi dan Santi) yang telah memberiku tempat dihati sebagai sahabat yang dengan sabar mendengarkan segala ocehan dan kekonyolanku, dan juga kepada teman-teman yang tergabung dalam tim penelitian ini (Ammi, Lina, Mufty, Sofyan, Yunus dan Rahman) terimakasih atas kebersamaan dan pengertiannya selama ini, serta kepada segenap teman-teman angkatan '00 dan seluruh adik-adik angkatanku yang telah mewarnai hari-hariku selama dikampus, juga kepada sdr(i)ku Iyta Haruna dan keluarganya serta Fidyah yang telah memberiku tempat dan pelayanan yang baik selama pengerjaan skripsiku ini, terimakasih atas semuanya.

Dan kepada Mariama, Mansyur dan Marlina selaku adik-adik tercinta yang telah memberiku semangat dan dorongan dalam menjalankan kehidupan ini, terimakasih atas canda dan tawanya yang takkan pernah aku lupakan sepanjang

hayatku, serta seluruh keluarga dan rekan-rekan yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala dukungannya selama ini.

Penulis menyadari keterbatasan dan kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini, karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang kelak akan membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan inspirasi dan manfaat bagi kita semua. Amin.

Wassalamu 'Alaikum Wr. Wb.

Makassar, Nopember 2005

Penulis

ABSTRAK

Limbah gergajian kayu bayam merupakan limbah padat organik yang mengandung selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu Bayam dengan menggunakan enzim selulase dari pankreas sapi pada kondisi optimum. Enzim selulase diperoleh dengan cara isolasi dalam tiga tahap, yakni : ekstraksi, fraksinasi dan dialisis. Penentuan aktivitas enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dilakukan berdasarkan jumlah glukosa yang dihasilkan dari penguraian selulosa pada substrat serbuk kayu bayam menjadi glukosa yang dilakukan dengan metode Nelson-Somogy, sedangkan penentuan kadar protein enzim dilakukan dengan metode Lowry, yang diukur dengan spektrofotoneter UV-VIS. Kondisi kerja optimum enzim selulase dari pankreas sapi terhadap substrat serbuk kayu bayam berlangsung pada konsentrasi substrat 3,0 %, pH 5,6; suhu 30 °C dengan waktu inkubasi selama 60 menit. Kadar glukosa yang diperoleh pada kondisi optimum tersebut adalah sebesar 13,660 $\mu\text{mol/mL}$ dengan aktivitas enzim 0,2199 unit/mL. Jumlah glukosa yang diperoleh dari konversi selulosa pada kondisi optimum tersebut adalah sebesar 8,196 %.

Kata kunci : Limbah padat, isolasi enzim, konversi selulosa, hidrolisis

ABSTRACT

Sawmill waste of Bayam wood is organic solid waste containing cellulose. The purpose of this research is to convert the substrate of Bayam wood sawdust to glucose by using cellulose enzyme isolated from cow pancreas at the optimal condition. Isolation of the cellulose enzyme was carried out in three stages namely, extraction, fractionation and dialysis. Determination of the enzyme activity in hydrolyzing cellulose to glucose was conducted based on the amount of glucose produced from degradation of Bayam wood and carried out by using the Nelson-Somogy method and determination of the protein level of enzyme was conducted by the Lowry method measured by a UV-VIS spectrophotometer. The optimum condition of cellulose enzyme of cow pancreas to the substrate of Bayam wood sawdust proceeded at a substrate concentration of 3,0 %; pH of 5,6; temperature of 30 °C with the incubation time of 60 minute. The glucose level obtained in the optimal condition was 13,660 $\mu\text{mol/mL}$ with the enzyme activity of 0,2199 unit/mL. Amount of glucose obtained from conversion cellulose in the optimal condition was 8,196 %.

Keyword : solid cesspool, enzyme isolation, cellulose conversion, hydrolysis

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Maksud Penelitian	3
1.3.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Uraian Umum tentang Kayu	5
2.2 Kayu Bayam	6
2.3 Selulosa	7
2.4 Glukosa	8
2.5 Enzim Selulase	10
2.6 Enzim Selulase dalam Pankreas Sapi	12

BAB III METODE PENELITIAN	13
3.1 Bahan Penelitian.....	13
3.2 Alat Penelitian.....	13
3.3 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel	13
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.5 Metode Kerja.....	14
3.5.1 Penyiapan Sampel	14
3.5.2 Penentuan Kadar Glukosa Awal.....	14
3.5.3 Isolasi Enzim	15
3.5.4 Penentuan Kadar protein Enzim.....	15
3.5.5 Penentuan Kondisi Kerja Optimum	16
3.5.6 Penentuan Aktivitas Enzim	19
3.5.7 Pengolahan Data.....	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Penentuan Kadar Glukosa Awal.....	22
4.2 Penentuan Kadar Protein Enzim.....	23
4.3 Penentuan Kondisi Kerja Optimum	24
4.3.1 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum.....	24
4.3.2 Penentuan pH Optimum	26
4.3.3 Penentuan Suhu Optimum.....	27
4.3.4 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	29
4.3 Penentuan Jumlah glukosa	31

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Lignoselulosa Pada Kayu Lunak Dan Kayu Keras.....	6
2. Data Kadar Glukosa Awal.....	22
3. Data Kadar Protein Enzim.....	24
4. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim.....	25
5. Data Hasil Pengukuran Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim.....	26
6. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim .	28
7. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Selulosa (Fengel dan Wegener, 1995).....	8
2. Rumus Struktur D-Glukosa.....	10
3. Kurva Kadar Glukosa Awal	23
4. Kurva Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim ...	25
5. Kurva Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim.....	27
6. Kurva Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas enzim	28
7. Kurva Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Penyiapan Substrat Dan Penentuan Kadar Glukosa Awal	35
2. Bagan Kerja Isolasi Enzim Selulase Dari Pankreas Sapi	36
3. Bagan Kerja Penentuan Kadar Protein Enzim	37
4. Bagan Kerja Penentuan Aktivitas Enzim	38
5. Pembuatan Pereaksi Yang Digunakan (Sudarmadji, 1984)	39
6. Kurva Standar Glukosa	40
7. Kurva Standar Protein	41
8. Contoh Perhitungan Kadar Glukosa, Kadar Protein, Aktivitas Enzim Dan Aktivitas Spesifik Enzim	42
5. Penentuan jumlah glukosa yang diperoleh dari konversi selulosa....	44
9. Data Pembuatan Larutan Buffer Sitrat (Sudarmadji, 1984)	45

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan penduduk dan peningkatan kegiatan masyarakat baik di lingkungan rumah tangga, pertanian dan industri menimbulkan banyaknya limbah dan masalah dalam menjaga kualitas lingkungan hidup (Sardjoko, 1991).

Kayu merupakan bahan alam yang dapat diolah untuk menghasilkan berbagai produk yang bermanfaat dalam kehidupan. Berbagai produk kayu telah digunakan sejak awal kehidupan, mulai dari perlengkapan rumah tangga, perlengkapan industri bahkan sampai sebuah bangunan megah menggunakan perangkat kayu. Produk kayu yang dihasilkan tersebut melalui berbagai tahap pengolahan, salah satunya adalah pemotongan dengan menggergaji, dimana dari perlakuan tersebut akan dihasilkan suatu limbah gergaji yang dalam jumlah besar akan menjadi pencemar lingkungan dan terutama jika tidak ada usaha untuk memanfaatkan limbah tersebut.

Kayu terdiri dari kayu keras dan kayu lunak, dimana kayu keras mengandung lebih banyak selulosa daripada kayu lunak. Menurut Iranmahboob (2002) kayu keras mengandung selulosa 45 %, hemiselulosa 30 % dan lignin 20 %, sedangkan kayu lunak mengandung selulosa 42 %, hemiselulosa 27 % dan lignin 28,3 %, salah satu jenis kayu keras adalah kayu Bayam.

Selulosa merupakan polimer alam yang berbentuk rantai panjang oleh gabungan molekul-molekul glukosa (homopolisakarida), linear dan terdiri atas

10.000 atau lebih unit D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosida (Lehninger, 1995).

Selulosa tidak dapat dicerna oleh manusia, karena manusia tidak memiliki enzim-enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosida. Sedangkan hewan pemakan rumput dapat mencerna selulosa karena pada pankreas atau usus hewan tersebut terdapat bakteri rumen yang dapat mengeluarkan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa yang selanjutnya digunakan dalam metabolisme (Side, 1997).

Proses pengubahan selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam atau secara enzimatik. Hidrolisis selulosa dengan asam-asam mineral seperti H_2SO_4 dan HCl banyak dilakukan, namun ada beberapa masalah antara lain adalah rendamen glukosa yang dihasilkan mengandung asam, sehingga perlu dilakukan tahap pemisahan. Sedangkan perlakuan enzim pada pengolahan limbah bersifat efisien karena enzim bekerja secara spesifik dan selektif dan memungkinkan tidak terdapatnya produk samping (Suhartono, 1989). Penggunaan enzim dibidang industri masih dirasakan mahal oleh karena itu perlu dikembangkan cara-cara untuk mengisolasi dari berbagai sumber, misalnya hewan, tumbuhan dan mikroorganisme (Kuswanto, 1988).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai isolasi enzim selulase dari hewan yang digunakan untuk mengkonversi (menghidrolisis) selulosa menjadi glukosa dengan sumber substrat yang berbeda yakni isolasi enzim selulase dari usus sapi dengan substrat serbuk kayu agatis oleh Isra (2004), pada penelitian ini, aktivitas optimum diperoleh pada kondisi konsentrasi substrat 10 %, suhu $45\text{ }^\circ\text{C}$ dan pH 5,5. Penelitian mengenai penentuan aktivitas enzim

selulase dari pankreas sapi pada substrat Karboksil Metil Sellulosa (CMC) oleh Usman (2003) diperoleh aktivitas optimum pada kondisi konsentrasi substrat 3 mg/mL, suhu 50 °C dan pH 4,8.

Uraian diatas menunjukkan bahwa enzim selulase dapat mengkonversi selulosa menjadi glukosa dengan menggunakan substrat kayu pada kondisi optimum. Oleh karena itu maka perlu dilakukan penelitian tentang konversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu bayam dengan terlebih dahulu menentukan kondisi optimum enzim selulase dari pankreas sapi yang didasarkan pada konsentrasi substrat, perubahan pH, suhu dan waktu inkubasi.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang menjadi acuan untuk melakukan penelitian ini adalah :

1. Bagaimana cara memperoleh enzim selulase dari pankreas sapi
2. Apakah enzim selulase dari pankreas sapi dapat mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu Bayam.

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengisolasi enzim selulase dari pankreas sapi dan menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu Bayam dengan menggunakan enzim selulase tersebut.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengisolasi enzim selulase dari pankreas sapi.
2. Menentukan kondisi optimum (konsentrasi substrat, pH, suhu dan waktu inkubasi) enzim selulase dari pankreas sapi untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu Bayam.
3. Menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan pada kondisi optimum tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang kondisi optimum (konsentrasi substrat, pH, suhu dan waktu inkubasi) enzim selulase dari pankreas sapi untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa pada substrat serbuk kayu Bayam.
2. Menjadi informasi penting untuk pengembangan penelitian ini lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Umum tentang Kayu

Kayu merupakan salah satu bahan bangunan maupun berbagai keperluan lainnya. Sel kayu terutama terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Dalam kayu selulosa membentuk kerangka yang dikelilingi oleh senyawa-senyawa yang lainnya yang berfungsi sebagai matriks yaitu hemiselulosa dan bahan-bahan yang melapisinya yakni lignin (Sjostrom, 1995).

Adanya lignin pada kayu sehingga aksesibilitas selulosa rendah terutama dalam hidrolisis enzimatik, untuk mengatasi aksesibilitas tersebut maka berbagai perlakuan kimia dan fisika telah diteliti agar bahan berselulosa lebih peka terhadap hidrolisis. Menurut Goldstein (1980) dalam Fengel dan Wegener (1995) bahwa bila bahan berselulosa digunakan sebagai substrat fermentasi, maka untuk mengatasi aksesibilitas selulosa yang rendah dalam hidrolisis enzimatik maka perlu perlakuan prahidrolisis, meliputi pembengkan dengan larutan alkali atau ammonia atau perlakuan dengan uap atau gas dioksida berair dan juga perlu praperlakuan fisika seperti penggilingan.

Kimia kayu dan komponen-komponennya tidak dapat dipisahkan dari strukturnya. Kayu tidak hanya merupakan senyawa kimia, jaringan anatomi atau bahan, tetapi merupakan gabungan dari ketiganya. Kesemuanya itu merupakan hasil hubungan yang erat dari komponen-komponen kimia yang membentuk unsur-unsur ultrastruktur, yang kemudian bergabung membentuk suatu sistem

yang berderajat tinggi yang membentuk dinding sel yang akhirnya membentuk jaringan kayu (Haygreen dan Browyer, 1995).

Tabel 1. Komposisi Lignoselulosa Pada Kayu Lunak Dan Kayu Keras (Iranmahboob dkk, 2002)

Komponen	Kayu Keras (%)	Kayu Lunak (%)
Selulosa	45	42
Hemiselulosa	30	27
Lignin	20	28,3
Abu	1	0,2

2.2 Kayu Bayam

Taksonomi kayu Bayam menurut Martawijaya (1989) dalam Lottong (1999) didekskripsikan sebagai berikut :

- Divisio : Spermatophyta
- Sub Divisio : Angiospermae
- Klas : Dicotyledoneae
- Ordo : Rosales
- Famili : Legiminaceae
- Genus : Intsia
- Spesies : *Intsia bijuga* O. Ktze

Daerah penyebaran kayu Bayam adalah meliputi seluruh Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Jawa (Jawa Barat dan Jawa Tengah), Maluku, NTT dan Irian Jaya.

Kayu Bayam mempunyai beberapa nama yang berbeda untuk setiap daerah, yaitu untuk daerah Jawa biasanya dinamakan Merbau, Merbo dan Taritih; di daerah Sumatera dinamakan Merbau, Merbau asam, Merbau darat dan Merbau pantai; di daerah Kalimantan dinamakan Alai, Anglai, Ipil, Jumelai, Maharau dan Merbau; di daerah Sulawesi dinamakan kayu Bayam, Gefi, Ipi, Langgiri dan Ogifi; di daerah Maluku dinamakan Aisele, Dowora, Falai, Ipil, Ipi dan Kayu Besi; di daerah NTT dinamakan Doma, Fimpi, Ipi dan Ipir; dan di daerah Irian Jaya dinamakan Bau, Kayu besi, Pas dan Pekka (Martawijaya (1989) dalam Lottong, 1999).

Tinggi pohonnya dapat mencapai 40 m dengan panjang batang bebas cabang 4 - 30 m dengan diameter cabang mencapai 100 cm. Kayu Bayam umumnya tidak sulit digergaji, dapat diserut dengan mesin sampai halus dan dapat dipelitur dengan hasil yang memuaskan, namun biasanya pecah jika dipaku dan dapat menimbulkan noda hitam jika berhubungan dengan besi atau air (Martawijaya (1989) dalam Lottong, 1999).

2.3 Selulosa

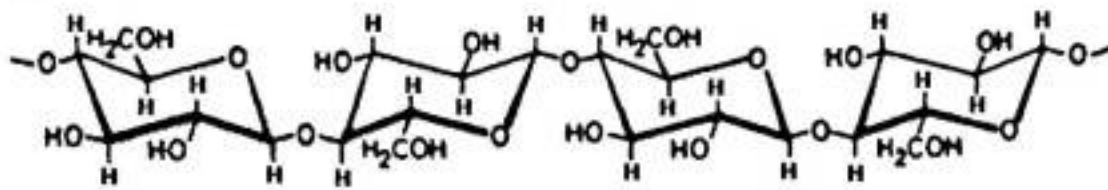
Selulosa adalah homopolisakarida linear yang membentuk rantai panjang, terdiri atas 10.000 atau lebih unit D-Glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosida, yang berupa serat dengan sejumlah mikrofibril yang berukuran 120 - 300 Å , dimana tiap mikrofibril terdiri atas beberapa serat dasar berukuran 30 x 30 Å yang saling terikat dengan ikatan Hidrogen untuk memperkuat mikrofibril, sehingga memberikan kekuatan luar biasa pada kayu, oleh karena itu menjadi komponen utama dinding sel tumbuhan dan bahan dasar pembuatan tekstil dan kertas (Senese, 2004; Hartadi (1980) dalam Wonalia, 2004).

Ikatan β -(1,4) pada selulosa tidak dapat dicerna oleh hampir semua organisme tingkat tinggi, karena tidak memiliki suatu enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β (1,4) tersebut, tapi pada rayap, jamur dan bakteri pembusuk pada kayu dan beberapa hewan ruminan dapat menghidrolisis selulosa karena dalam usus atau pankreasnya terdapat suatu mikroorganisme yang menghasilkan enzim selulase, sehingga dapat mencerna selulosa (Lehninger, 1995).

Selulosa merupakan bahan kimia yang sangat kompleks dan selalu terdapat dalam hubungan yang erat dengan lignin dalam kayu. Kemampuan senyawa kompleks lignoselulosa yang bertahan terhadap daya penguraian hayati (biodegradative force) dari alam terbukti dengan panjangnya umur pepohonan yang komposisinya terutama terdiri dari lignoselulosa. Lignoselulosa yang telah kehilangan ligninnya merupakan sumber energi yang sangat kompleks berharga untuk pemamah biak yang mampu menggunakan selulosa sebagai bahan makanan (Smith, 1995).

Serat selulosa berupa serabut, liat, tidak larut dalam air, asam dan alkali encer pada suhu kamar. Hidrolisis dengan asam klorida encer (40 %) dalam air hanya menghasilkan dekstroglukosa, selulosa yang terhidrolisis sebahagian hanya menghasilkan selobiosa yang dapat terhidrolisis lebih lanjut menjadi D-glukosa dengan suatu katalis atau dengan emulsi enzim. Selulosa larut dalam H_2SO_4 72 - 74 %, H_3PO_4 85 %, kupriamonium hidroksida, difenil dietil etilen diamin (Cadoxen) dan kupri etilen diamin (Jasman, 2002).

Struktur kimia selulosa ditunjukkan pada Gambar 1



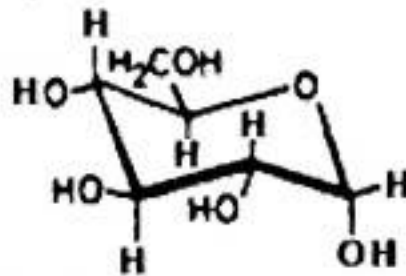
Gambar 1. Struktur Selulosa (Fengel dan Wegener, 1995).

2.4 Glukosa

Glukosa adalah suatu aldohexosa dan sering disebut dekstrosa karena mempunyai sifat dapat memutar cahaya terpolarisasi kearah kanan. Di alam glukosa terdapat dalam buah-buahan dan madu lebah (Poedjiadi, 1994).

Glukosa merupakan bagian terbesar karbohidrat yang penting. Dalam tanaman glukosa disintesis dari karbon dioksida (CO₂) dan air (H₂O) oleh fotosintesis dan disimpan sebagai zat tepung atau digunakan sebagai prekursor pembentukan selulosa pada kerangka tanaman. Glukosa digunakan sebagai bahan bakar metabolik mayor pada mamalia (kecuali ruminan) dan bahan bakar universal pada janin. Sebagian besar glukosa yang terdapat dalam bahan makanan diserap oleh aliran darah, dan gula lainnya diubah menjadi glukosa dalam hati. Glukosa dianggap sebagai prekursor utama untuk sintesis semua karbohidrat dalam tubuh, seperti glikogen untuk penyimpanan ribosa dan deoksiribosa dalam asam nukleat dan penggabungan dengan protein dalam glikoprotein dan proteoglikan (Murray, dkk, 2000).

Rumus struktur glukosa ditunjukkan sebagai jaringan sederhana dalam perspektif yang diusulkan oleh Heworth. Rumus struktur glukosa ditunjukkan pada Gambar 2 (Poedjiadi, 1994).



Gambar 2. Rumus Struktur D-Glukosa

2.5 Enzim Selulase

Enzim merupakan molekul organik yang kompleks dan terdapat dalam sel-sel hidup, yang bekerja secara spesifik sebagai katalisator untuk menimbulkan perubahan kimiawi pada berbagai substansi (Smith, 1995).

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-glukanohidralase. Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri atas enzim-enzim yang bekerja secara bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi glukosa (Wirahadikusumah dan Madayanti, 1990).

Enzim-enzim yang menyusun enzim selulase berdasarkan spesifitas substrat masing-masing, adalah :

1. *Endo- β -1,4-glukonase*, yaitu enzim yang menghidrolisis ikatan glikosidik secara acak. Enzim ini tidak menyerng 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 (Fengel dan Wegener, 1995).

Preparasi kerja enzim selulase dalam mengubah selulosa menjadi glukosa secara keseluruhan dilakukan oleh tiga tipe enzim dengan tahap-tahap sebagai berikut : tahap pertama enzim endo-glukanase menguraikan ikatan glukosidik internal dalam rantai selulosa, menghasilkan rantai pendek, selanjutnya diubah menjadi selobiosa oleh enzim exo-glukanases, lalu selobiosa akan diubah lagi oleh enzim hidrolase selobiase menjadi glukosa (Rousselle, 2002).

Menurut Lehninger (1995) bahwa untuk menyatakan keaktifan enzim, maka komisi enzim Internasional mengusulkan beberapa satuan, yaitu :

1. Satu unit keaktifan enzim adalah cacah enzim yang menyebabkan perubahan 1 mikro mol substrat per menit pada kondisi optimum enzim tersebut.

2. Aktivitas spesifik adalah cacah molekul substrat yang dapat terikat pada pusat aktif enzim.
3. "Turn Over Number" adalah cacah mol substrat yang diubah menjadi produk per satuan waktu oleh suatu molekul enzim.

2.6 Enzim Selulase dalam Pankreas Sapi

Pola pencernaan pada hewan umumnya sama dengan manusia, yakni terdiri atas mulut, faring, esofagus, lambung dan usus. Lambung merupakan tempat menyimpan makanan sementara yang akan dicerna. Lambung ruminansia terdiri atas rumen, retikulum, omasum dan abomasum. Pencernaan protein, polisakarida dan fermentasi selulosa oleh enzim selulase terjadi pada rumen (Mardi, 2005).

Sejumlah protozoa terdapat dalam rumen sapi seperti *Polyplastron multiresiculatum* dan *Ophyroscolex tricornatus*. Protozoa-protozoa tersebut memecah selulosa menjadi selobiosa dan akhirnya menjadi glukosa (Arora, 1984).

Adaptasi mikroba rumen yang berlangsung cepat dapat menyediakan energi yang relatif lebih besar. Namun kadang-kadang adaptasi tersebut dapat berlangsung lambat, hal ini disebabkan oleh adanya zat anti nutrien seperti *gossypol* yang dapat menghambat pelekatan dan degradasi fungi rumen terhadap selulosa, yaitu terjadinya ikatan *gossypol-protein* dan atau kompleks *gossypol-lipida* pada permukaan fungi rumen (Rinduwati dan Ismartoyo, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : pankreas sapi, serbuk kayu bayam, albumin fraktion V, natrium hidroksida, folin ciocalteu (garam Rochelle), natrium karbonat anhidrat, natrium bikarbonat, natrium kalium tartat, natrium sulfat anhidrat, natrium hidrogen arsenat, natrium sitrat dihidrat, natrium klorida, asam sulfat pekat, kristal amonium sulfat, amonium molybdat, asam sitrat monohidrat, asam sitrat, asam asetat, natrium sitrat, natrium asetat, glukosa monohidrat dan akuades.

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, Spektofotometer UV-VIS dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

3.3 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel

Pengambilan sample serbuk gergajian kayu bayam diambil secara acak pada sebuah pertukangan di kabupaten Maros 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

Waktu pelaksanaan penelitian adalah dimulai dari bulan Agustus hingga Desember 2004 di Laboratorium Biokimia jurusan Kimia FMIPA UNHAS, Laboratorium Bioteknologi PKP UNHAS dan dianalisis di Laboratorium Kimia Anorganik jurusan Kimia FMIPA UNHAS.

3.5 Metode Kerja

3.5.1 Penyiapan Substrat

Limbah serbuk gergaji kayu bayam dicuci dengan akuades hingga bersih kemudian dijemur hingga kering, selanjutnya diglinder hingga halus, kemudian diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Selanjutnya bubuk yang dihasilkan ditimbang, masing-masing adalah 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 dan 4,0 g, kemudian masing-masing ditambahkan 100 mL akuades, selanjutnya diautoklaf selama \pm 20 menit dan kemudian disimpan dalam lemari pendingin untuk perlakuan selanjutnya.

3.5.2 Penentuan Kadar Glukosa awal (Metode Nelson-Somoghy)

Substrat yang telah disiapkan disaring dengan kertas saring biasa, kemudian diencerkan. Selanjutnya 1 mL larutan diambil lalu ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson, kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama \pm 20 menit. Selanjutnya larutan didinginkan, kemudian ditambahkan dengan 1 mL reagen Arsenomolibdat dan 7 mL akuades, lalu dikocok hingga bercampur rata. Selanjutnya larutan tersebut dibiarkan pada suhu kamar selama \pm 20 menit, lalu diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 740 nm.

3.5.3 Isolasi Enzim Selulase dari Pankreas Sapi

Pankreas sapi sebanyak 250 g yang telah dipisahkan dari lemak-lemaknya dibekukan dalam freezer selama ± 24 jam, kemudian 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 5 °C dan diperoleh supernatan yang merupakan ekstrak enzim selulase.

Ekstrak enzim selulase (enzim selulase kasar) difraksionasi dengan amonium 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 disentrifugase selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 5 °C.

Endapan yang diperoleh pada tahap fraksionasi dilarutkan dengan akuades, kemudian didialisis dalam kantong selofan yang telah direbus dalam asam asetat 1 %, natrium bikarbonat 2 % dan EDTA 1,0 mM. Dialisis dilakukan selama ± 36 jam pada suhu dingin dalam aquades, dan setiap 6 jam akuadesnya diganti sedangkan kantong selofannya diganti setiap 12 jam sekali. Hasil dialisis dimasukkan kedalam cawang petri kemudian dibekukan didalam Freezer, lalu dikeringkan dalam Freezer Drayer selama ± 24 jam.

3.5.4 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 akuades, 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 akuades (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 : 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 di tambahkan 1 mL Lowry A dan 1 mL akuades. 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.

3.5.5 Penentuan Kondisi Kerja Optimum

Penentuan kondisi kerja optimum enzim selulase meliputi penentuan konsentrasi substrat, pH, suhu dan waktu inkubasi.

1. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 9 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL akuades (sebagai larutan blanko), sedangkan 8 buah tabung reaksi yang lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL substrat serbuk kayu bayam dengan variasi konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ; 3,0 ; 3,5 dan 4,0 %, lalu ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase konsentrasi 1,0 mg/mL dan 1 mL buffer sitrat pH 4,8; kemudian dikocok hingga bercampur rata, lalu diinkubasi selama \pm 1 jam pada suhu kamar, 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, yakni larutan campuran diencerkan, kemudian disaring lalu 1 mL larutan tersebut diambil, kemudian ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Kemudian dipanaskan kembali dalam penangas air pada suhu 100 °C selama \pm 20 menit sambil diaduk. Selanjutnya didinginkan dalam air es hingga suhu larutan sama dengan suhu kamar. Setelah dingin masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 mL reagen Arsenmolibdat dan 7 mL akuades, lalu campuran tersebut dikocok hingga rata, kemudian didiamkan pada suhu kamar selama \pm 30 menit, lalu absorban larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 740 nm.

2. Penentuan pH optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 11 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL akuades (sebagai larutan blanko), sedangkan 10 buah tabung reaksi yang lainnya masing-masing diisi 1 mL substrat serbuk kayu Bayam dengan konsentrasi substrat 3,0 %, kemudian ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase 1,0 mg/mL dan 1 mL buffer sitrat dengan variasi pH adalah 4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2;

5,4; 5,6; 5,8; 6,0 dan 6,2; lalu dikocok hingga bercampur rata, kemudian diinkubasi selama \pm 60 menit pada suhu kamar, selanjutnya masing-masing tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 100 °C selama \pm 20 menit, kemudian ditentukan kadar glukosanya dengan metode Nelson-Somogy.

3. Penentuan suhu optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 10 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL akuades (sebagai larutan blanko), sedangkan 9 buah tabung reaksi lainnya masing-masing diisi 1 mL substrat kayu Bayam dengan konsentrasi substrat 3,0 % dan 1 mL buffer sitrat pH 5,6; lalu ditambahkan 1 mL larutan enzim selulase 1,0 mg/mL, kemudian diinkubasi selama \pm 60 menit dengan variasi suhu 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 dan 65 °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.

4. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 6 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL aquades (sebagai larutan blanko), sedangkan 5 buah tabung reaksi lainnya masing-masing diisi 1 mL substrat serbuk kayu Bayam dengan konsentrasi substrat 3,0 %; 1 mL buffer sitrat pH 5,6; pada suhu 30 °C dan 1 mL enzim dengan konsentrasi 1,0 mg/mL, dengan waktu inkubasi yang bervariasi yakni 30, 45, 60, 75 dan 90 menit. 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.

3.5.6 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase

Langkah-langkah yang dilakukan pada penentuan aktifitas enzim selulase adalah :

1. Penyiapan Larutan Standar Glukosa

Glukosa monohidrat ditimbang sebanyak 1,98 g; kemudian dilarutkan dengan akuades hingga tepat 100 mL, lalu diencerkan dengan konsentrasi 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 dan 0,10 $\mu\text{mol/mL}$.

2. Penyiapan Kurva Kalibrasi

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 6 buah, satu tabung reaksi diisi dengan 1 mL akuades (sebagai larutan blanko) dan 5 buah tabung reaksi yang lainnya masing-masing diisi dengan 1 mL larutan glukosa standar dengan konsentrasi yang telah disiapkan. Selanjutnya dikerjakan berdasarkan Metode Nelson-Somogy.

3. Penentuan Kadar Glukosa

Enzim selulase yang diperoleh dari pankreas sapi kemudian dilarutkan dengan akuades hingga diperoleh larutan enzim dengan konsentrasi 1 mg/mL (1 g enzim serbuk dilarutkan dalam 100 mL akuades). Selanjutnya diambil 1 mL larutan enzim tersebut, lalu ditambahkan dengan 1 mL buffer sitrat pH 4,8 dan 1 mL substrat serbuk kayu bayam konsentrasi 3,0 %, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama ± 1 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam penangas air yang bersuhu 100 °C selama ± 20 menit, kemudian didinginkan. Selanjutnya dikerjakan berdasarkan metode Nelson-Somogy.

3.5.7 Pengolahan Data

Perhitungan kadar glukosa awal dan kadar glukosa hasil hidrolisis oleh serbuk enzim dilakukan dengan cara mensubstitusi absorbansi larutan contoh ke dalam persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar.

Kurva kalibrasi yang digunakan adalah kurva yang dibuat berdasarkan data larutan glukosa standar dengan pelarut air suling. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 740 nm dan kurva kalibrasi larutan glukosa standar ditunjukkan pada Lampiran 6.

Sedangkan perhitungan kadar protein enzim ditentukan dengan cara yang sama dengan perhitungan kadar glukosa. Kurva kalibrasi yang digunakan berdasarkan data dari larutan Standar Albumin Fraction V (AF V). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 740 nm. Kurva kalibrasi protein standar ditunjukkan pada Lampiran 7.

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

1. Perhitungan Aktivitas Enzim

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{([\text{glukosa hidrolisis}] - [\text{glukosa awal}])}{\text{Waktu inkubasi}}$$

2. Perhitungan Aktivitas Enzim Spesifik

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

Jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa pada substrat serbuk kayu bayam tersebut dapat ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Massa glukosa (g/mL)} = \text{Kadar glukosa (mol/mL)} \times \text{Berat Molekul glukosa}$$

$$\text{Jumlah Glukosa (\%)} = \frac{\text{Massa glukosa (g/mL)}}{\text{Massa sampel (g/mL)}} \times 100 \%$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil-hasil penelitian yang akan dipaparkan dan dibahas pada bagian ini meliputi penentuan kadar glukosa awal, isolasi enzim selulase dari pankreas sapi, penentuan kondisi kerja optimum enzim selulase dari pankreas sapi terhadap substrat serbuk kayu Bayam, aktivitas enzim selulase tersebut dan penentuan jumlah glukosa yang dihasilkan dari konversi selulosa pada kondisi optimum tersebut.

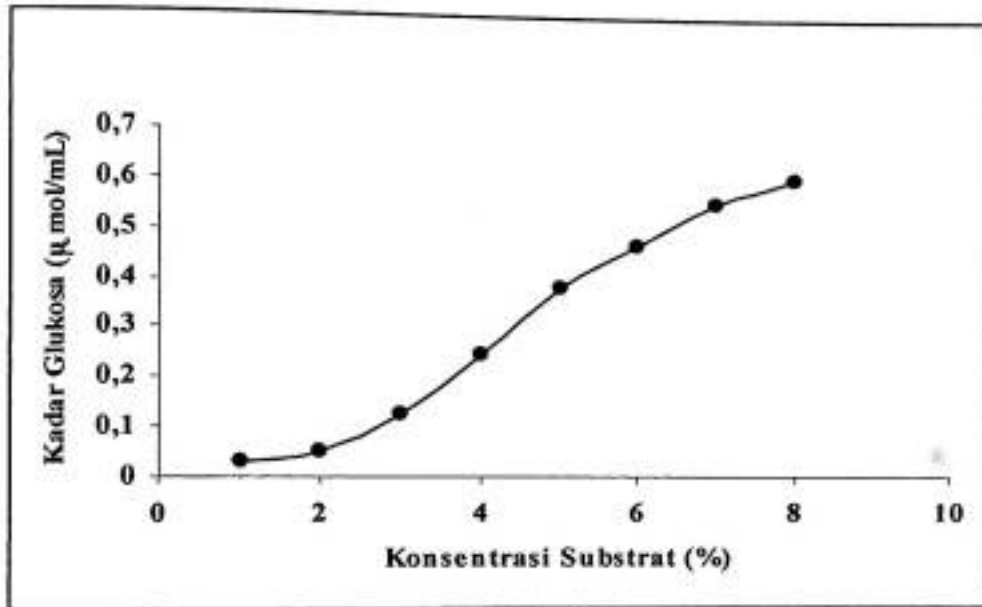
4.1 Penentuan Kadar Glukosa Awal

Data hasil pengukuran kadar glukosa awal substrat serbuk kayu Bayam ditunjukkan pada Tabel 2, perhitungan kadar glukosa dilakukan berdasarkan kurva standar glukosa yang ditunjukkan pada Lampiran 6 dan untuk contoh perhitungan kadar glukosa ditunjukkan pada Lampiran 8.

Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Awal

konsentrasi substrat (%)	absorban	kadar glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)
0,5	0,016	0,028
1,0	0,027	0,048
1,5	0,068	0,125
2,0	0,133	0,246
2,5	0,206	0,382
3,0	0,253	0,469
3,5	0,298	0,553
4,0	0,326	0,605

Data pada Tabel 2 tersebut jika diplotkan dalam bentuk grafik, maka hubungan antara konsentrasi substrat dengan kadar glukosa awal ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Kadar Glukosa Awal

Tabel 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi substrat, maka akan semakin besar pula kadar glukosa yang terkandung dalam substrat tersebut.

4.2 Kadar Protein Enzim

Enzim selulase yang digunakan dalam penelitian ini merupakan enzim yang diisolasi dari pankreas sapi melalui tiga tahap yakni ekstraksi, fraksinasi dan dialisis. Tahap-tahap isolasi tersebut dilakukan berdasarkan hasil yang telah dilakukan oleh Isra (2004), yaitu ekstraksi dilakukan dengan menggunakan NaCl 1 %, Fraksinasi dilakukan hingga fraksi 40 - 60 % dan didialisis dengan menggunakan kantong selofan pada suhu 2 - 4 °C selama ± 36 jam.

Enzim yang telah diisolasi selanjutnya ditentukan kadar protein enzimnya berdasarkan kurva standar protein yang ditunjukkan pada Lampiran 7 dan untuk perhitungan kadar protein enzim ditunjukkan pada Lampiran 8. data kadar protein enzim ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Hasil Pengukuran Kadar Protein Enzim

Enzim	Absorban	Kadar Protein Enzim (mg/mL)
enzim kasar	0,289*	13,17
enzim serbuk	0,312	0,146

Keterangan : * Pengenceran 100 kali.

Tabel 3 menunjukkan bahwa kadar protein enzim kasar (enzim sebelum fraksionasi) lebih besar daripada kadar protein enzim serbuk (enzim setelah dialisis). Hal ini disebabkan oleh karena sebelum fraksionasi masih terdapat beberapa jenis protein selain protein enzim selulase dalam larutan, yang menyebabkan kadar protein dari enzim tersebut menjadi cukup tinggi, sedangkan setelah fraksionasi dan dialisis kadar protein enzim menurun, hal ini disebabkan oleh karena enzim tersebut telah terpisahkan dengan protein-protein lain dan didapatkan enzim selulase. Enzim serbuk yang dianggap sebagai enzim selulase murni dari pankreas sapi digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

4.3 Penentuan Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase

4.3.1 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Data hasil pengukuran pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada Tabel 4. Aktivitas enzim dapat diperoleh dari jumlah

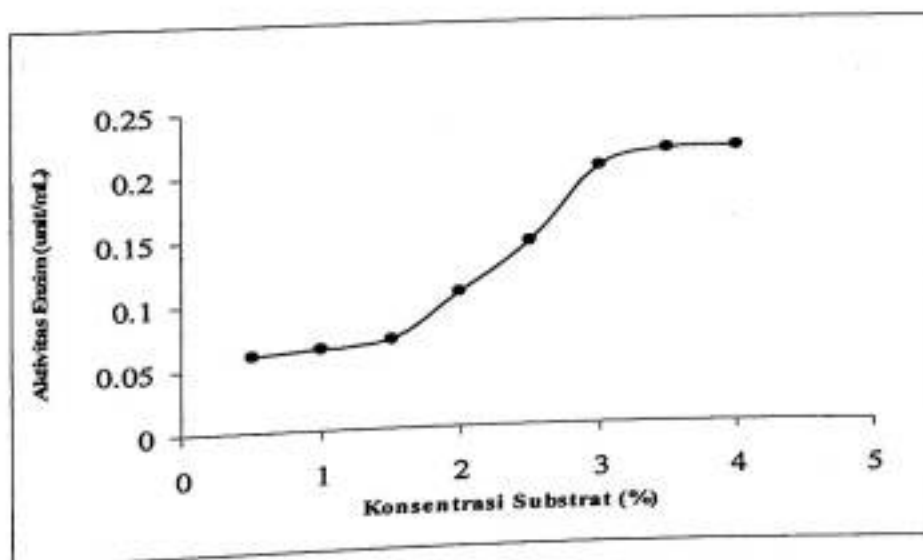
glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim ditunjukkan pada Lampiran 8.

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

Konsentrasi Substrat (%)	Absorban	Kadar Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas Enzim (unit/mL)	Aktivitas Spesifik (unit/mg protein)
0,5	0,198*	3,668	0,0607	0,4155
1,0	0,209*	3,872	0,0637	0,4363
1,5	0,235*	4,356	0,0705	0,483
2,0	0,354*	6,570	0,1054	0,7219
2,5	0,489*	9,083	0,1450	0,9933
3,0	0,069**	12,672	0,2034	1,3930
3,5	0,073**	13,498	0,2158	1,4777
4,0	0,074**	13,602	0,2166	1,4837

Keterangan : * Pengenceran 10 kali
 ** Pengenceran 100 kali

Grafik aktivitas enzim sebagai fungsi konsentrasi substrat ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim

Tabel 4 dan Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas enzim meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Peningkatan yang sangat berarti terjadi sampai pada konsentrasi 3,0 %, selanjutnya tetap meningkat, namun peningkatannya tidak cukup berarti dan boleh dikata bahwa aktivitas enzim tetap. Hal ini disebabkan oleh karena sisi aktif (active site) enzim telah jenuh dengan substrat sehingga tidak mampu lagi mengikat substrat yang lain (Armstrong, 1995). Data pada Tabel 4 tersebut menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada konsentrasi substrat 3,0 % (3 g substrat dalam 100 mL akuades) dengan kadar glukosa sebesar 12,672 $\mu\text{mol/mL}$, aktivitas enzim sebesar 0,2034 unit/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 1,3930 unit/mg protein.

4.3.2 Penentuan pH Optimum

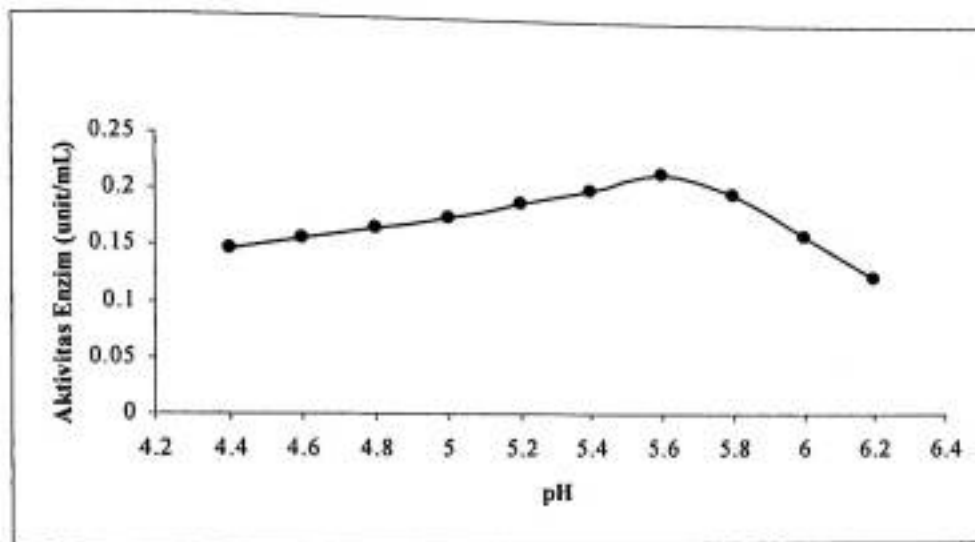
Data hasil pengukuran pengaruh pH terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada Tabel 5, data aktivitas enzim diperoleh dari jumlah glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim ditunjukkan pada Lampiran 8.

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim

pH	Absorban	Kadar Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas Enzim (unit/mL)	Aktivitas Spesifik (unit/mg protein)
4,4	0,498	9,250	0,1464	1,0024
4,6	0,531	9,864	0,1566	1,0725
4,8	0,563	10,460	0,1665	1,1405
5,0	0,593	11,018	0,1758	1,2042
5,2	0,641	11,911	0,1907	1,3062
5,4	0,681	12,655	0,2031	1,3911
5,6	0,729	13,549	0,2180	1,4932
5,8	0,694	12,525	0,2009	1,3763
6,0	0,549	10,199	0,1622	1,1107
6,2	0,429	7,966	0,1250	0,8558

Keterangan : Pengenceran 10 kali

Grafik aktivitas enzim sebagai fungsi pH ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar.5 Kurva Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim

Tabel 5 dan Gambar 5 menunjukkan bahwa aktivitas enzim terus meningkat hingga pH 5,6; selanjutnya akan turun secara drastis. Hal ini disebabkan oleh karena pH berpengaruh secara langsung dalam menentukan muatan residu asam amino dan berpengaruh terhadap struktur tiga dimensi enzim. Nilai pH yang terlalu rendah atau tinggi akan mengakibatkan terjadinya denaturasi protein sehingga enzim menjadi kurang aktif (Armstrong, 1995). Data pada Tabel 5 tersebut menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi diperoleh pada pH 5,6 dengan kadar glukosa sebesar 13,549 $\mu\text{mol/mL}$, aktivitas enzim sebesar 0,2180 unit/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 1,4932 unit/mg protein.

4.3.3 Penentuan Suhu Optimum

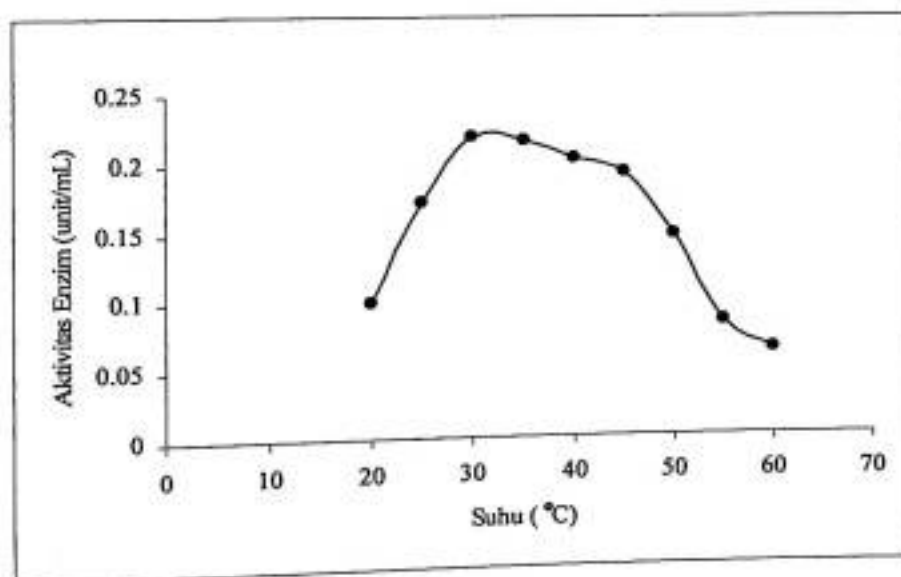
Data hasil pengukuran pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada Tabel 6, aktivitas enzim diperoleh dari jumlah glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa, aktifitas enzim dan aktivitas spesifik enzim ditunjukkan pada Lampiran 8.

Tabel 6. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim

Suhu (°C)	Absorban	Kadar Glukosa (μmol/mL)	Aktivitas Enzim (unit/mL)	Aktivitas Spesifik (unit/mg protein)
20	0,345	6,403	0,0989	0,6774
25	0,577	10,720	0,1709	1,1702
30	0,732	13,604	0,2189	1,4994
35	0,724	13,456	0,2164	1,4818
40	0,682	12,674	0,2034	1,3932
45	0,646	12,004	0,1923	1,3171
50	0,496	9,213	0,1462	1,0016
55	0,291	5,398	0,0823	0,5627
60	0,226	4,189	0,0620	0,4247

Keterangan : Pengenceran 10 kali

Grafik aktivitas enzim sebagai fungsi suhu ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Kurva Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim

Tabel 6 dan Gambar 6 menunjukkan bahwa aktivitas enzim terus meningkat hingga suhu 30 °C, selanjutnya aktivitas tersebut akan turun secara drastis. Hal ini disebabkan oleh karena pada suhu yang lebih rendah gerak termodinamik molekul enzim kurang sehingga menyebabkan kurangnya tumbukan antara molekul enzim dengan substrat, sedangkan pada suhu yang lebih

tinggi gerak termodinamik akan cukup besar, sehingga benturan antar molekul akan lebih sering, namun suatu sifat protein bahwa pada suhu yang relatif tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi, yang berakibat berubahnya struktur tiga dimensi dari bentuk enzim, sehingga substrat akan melekat pada enzim secara acak, dalam artian tidak melekat secara tepat pada sisi aktif (active site) enzim (Sadikin, 2002). Data pada Tabel 6 tersebut menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada suhu 30 °C dengan kadar glukosa sebesar 13,604 $\mu\text{mol/mL}$, aktivitas enzim sebesar 0,2189 unit/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 1,4994 unit/mg protein.

4.3.4 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Data hasil pengukuran pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada Tabel 7, aktivitas enzim diperoleh dari jumlah glukosa yang terbentuk. Contoh perhitungan kadar glukosa, aktifitas enzim dan aktivitas spesifik enzim ditunjukkan pada Lampiran 8.

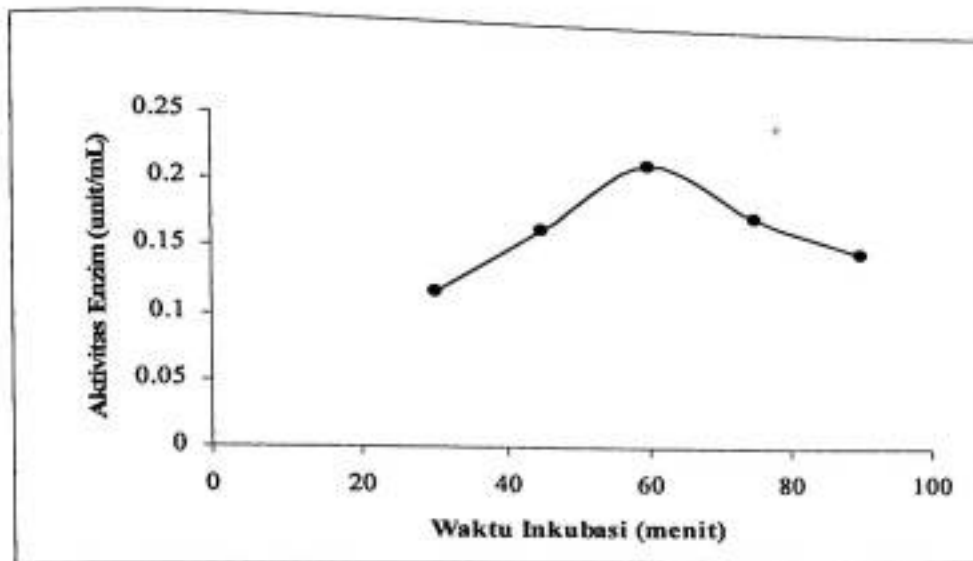
Tabel 7. Data Hasil Pengukuran Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim

Waktu Inkubasi (menit)	Absorban	Kadar Glukosa ($\mu\text{mol/mL}$)	Aktivitas Enzim (unit/mL)	Aktivitas Spesifik (unit/mg protein)
30	0,216	4,003	0,1178	0,8068
45	0,428	7,948	0,1662	1,1384
60	0,735	13,660	0,2199	1,5062
75	0,745	13,846	0,1784	1,2216
90	0,765	14,218	0,1528	1,0463

Keterangan : Pengenceran 10 kali

Grafik aktivitas enzim sebagai fungsi waktu inkubasi ditunjukkan oleh

Gambar 7.



Gambar 7. Kurva Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim

Tabel 7 dan Gambar 7 menunjukkan bahwa aktivitas enzim terus meningkat hingga waktu inkubasi 60 menit, selanjutnya aktivitas tersebut akan turun secara drastis. Hal ini disebabkan oleh karena semakin lama enzim bekerja, maka semakin banyak kompleks enzim substrat yang terbentuk, sehingga pada waktu tertentu ketika enzim telah bekerja secara maksimum, maka enzim tersebut akan mengalami kejenuhan, sehingga untuk sisa waktu yang lebih lama, enzim tidak bekerja lagi (Armstrong, 1995). Data pada Tabel 7 tersebut menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi 60 menit dengan kadar glukosa sebesar 13,660 $\mu\text{mol/mL}$, aktivitas enzim sebesar 0,2199 unit/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 1,5062 unit/mg protein.

Data hasil pengukuran yang diperoleh pada kondisi optimum (konsentrasi substrat, pH, suhu dan waktu inkubasi) tersebut jika dibandingkan dengan hasil yang telah didapatkan oleh Isra (2004), yaitu pada kondisi optimum diperoleh aktivitas enzim sebesar 0,0340 unit/mL dengan aktivitas spesifik enzim sebesar 0,0866 unit/mg protein, menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh Isra (2004) tersebut jauh lebih kecil dari hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, hal ini

disebabkan oleh karena Isra (2004) menggunakan kayu agatis sebagai sumber substrat, dimana diketahui bahwa kayu agatis adalah salah satu jenis kayu lunak (kayu lunak mengandung cukup banyak lignin dibandingkan kayu keras). Sedangkan bila hasil yang diperoleh ini dibandingkan dengan hasil yang telah didapatkan oleh Usman (2003), yakni pada kondisi optimum diperoleh aktivitas enzim sebesar 0,8250 unit/mL dengan aktivitas spesifik enzim sebesar 7,1703 unit/mg protein, menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh Usman (2003) tersebut jauh lebih besar dari hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, hal ini disebabkan oleh karena Usman (2003) menggunakan Carboxy Methyl Cellulose (CMC) sebagai sumber substrat, dimana diketahui bahwa CMC tersebut adalah selulosa murni tanpa lignin. Hal tersebut membuktikan bahwa tingginya kandungan lignin dalam suatu bahan akan menghambat kerja enzim, sehingga dapat membatasi penguraian selulosa menjadi glukosa, sehingga selulosa tersebut susah terhidrolisis (Rinduwati dan ismartoyo, 2002).

4.4 Penentuan Jumlah Glukosa Hasil Konversi Selulosa

Kadar glukosa yang diperoleh pada kondisi optimum (konsentrasi substrat 3 %, pH 5,6; suhu 30 °C dan waktu inkubasi selama 60 menit) adalah sebesar 13,660 $\mu\text{mol/mL}$, hal ini membuktikan bahwa suatu selulosa dapat dikonversi menjadi glukosa dengan menggunakan enzim selulase dari pankreas sapi, adapun jumlah glukosa hasil konversi berdasarkan kadar glukosa yang diperoleh tersebut adalah sebesar 8,196 % (untuk perhitungannya dapat dilihat pada lampiran 9).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa enzim selulase dari pankreas sapi bekerja secara optimum terhadap substrat serbuk kayu bayam pada kondisi kerja : konsentrasi substrat 3,0 %; pH 5,6; suhu 30 °C dan waktu inkubasi selama 60 menit, dengan kadar glukosa sebesar 13,660 $\mu\text{mol/mL}$, aktivitas enzim sebesar 0,2199 unit/mL dan aktivitas spesifik enzim sebesar 1,5062 mg/mL protein, yang berarti bahwa jumlah glukosa yang terkonversi dari selulosa adalah sebesar 8,196 %.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan praperlakuan penghilangan lignin sebelum hidrolisis agar hasil yang diinginkan dapat diperoleh secara maksimal.
2. Dari hasil yang diperoleh dapat dijadikan acuan untuk penelitian lebih lanjut hingga menghasilkan etanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Armstrong, B, F., 1995, *Buku Ajar Biokimia*, Edisi ke-3, Terjemahan oleh R. F. Maulany, EGC-Press, Jakarta.
- Arora, S, P., 1984, *Pencernaan Mikroba pada Ruminansia*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Fengel, D dan Wegener, G., 1989, *Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*, Terjemahan oleh Hardjono Sastrohamidjojo, 1995, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Haygreen, G, J dan Bowyer, L, J., 1989, *Hasil Hutan dan Ilmu Kayu : suatu pengetahuan*, Terjemahan oleh Hardjono Sastrohamidjojo, 1995, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Iranmahboob, J, Nadim, F dan Monemi, S., 2002, *Optimizing Acid-Hydrolysis : a Kritical Step for Production of Ethanol from Mixed Wood Chip, Biomassa and Bioenergy*, 22, (401 - 404).
- Isra, 2004, *Studi Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase dari Usus Sapi terhadap Substrat Serbuk Kayu Agatis*, Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar
- Jasman, 2002, *Isolasi Enzim Selulase dari Rayap Kayu terhadap Substrat Kertas dan serbuk Gergaji*, Tesis, Pasca sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Kuswanto, K, R., 1988, *Isolasi Dan Pengujian Aktivitas Enzim*, PAU Pangan Dan Gizi, UGM-Press, Yogyakarta.
- Lehninger, A, L., 1982, *Dasar-Dasar Biokimia*, Jilid 1, Terjemahan oleh Maggy Thenawidjaja, 1995, Erlangga, Jakarta.
- Lottong, Y., 1999, *Pendugaan Persamaan Volume Batang Jenis Merbau*, Skripsi, Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian dan Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang.
- Mardi, 2005, *Pemakanan ternakan*, (<http://www.jphpk.gov.my/malay/kadar/agropemakanan.htm>, diakses 11 april 2005).
- Murray, R, Granner, K, Mayes, A, Rodwell, W dan Bender A., 2000, *Harper's Illustrated Biochemistry*, Mc Graw-Hill, New York.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, UI-Press, Jakarta.

- Rinduwati dan Ismartoyo, 2002, *Karakteristik Degradasi Beberapa Jenis Pakan (In Sacco) Dalam Rumen Ternak kambing*, Buletin Nutrisi Dan Makanan Ternak, Vol 3, (1), (<http://www.unhas.ac.id/piu/karyailmiah/berkas/paper-27.htm>, diakses 11 april 2005).
- Rouselle, 2002, *Effect Of Whole Cellulase On The Supramolecular Structure Of Cotton Cellulase Textile Research Journal*, (http://www.findarticles.com/p/articles/mi_ga4025/is_200406/ai_n9433112/pg2, diakses 11 april 2005).
- Sadikin, M., 2002, *Biokimia Enzim*, EGC-Press, Jakarta.
- Sardjoko, 1991, *Bioteknologi, Latar Belakang Dan Beberapa Penerapannya*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Senese, F., 2004, *What Is Cellulose ?*, Senese @ Antoine Frastburg Edu (<http://AntoineFrastburgEdu/Chem/Senese/101/Consumer/Fag/What-Is-Cellulose.Shtml>, diakses 11 April 2005).
- Side, S., 1997, *Pengaruh Umur Bekicot (Achatina Fulica) Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Pada Hidrolisis Selulosa Jerami & Kertas*, Tesis, Program Pasca Sarjana UNHAS, Ujung Pandang.
- Sjostrom, E., 1993, *Kimia Kayu : Dasar-dasar dan Penggunaan*, Edisi 2, Terjemahan oleh Hardjono Sastrohamidjojo, 1995, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Smith, J. E., 1988, *Bioteknologi*, Terjemahan oleh Andry Hartono, 1995, EGC Press, Jakarta.
- Sudarmadji, S, Bambang, H dan Suhardji, 1984, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Suhartono, M, T., 1989, *Enzim dan Bioteknologi*, PAU Bioteknologi IPB, Bandung.
- Usman, 2003, *isolasi dan penentuan kondisi kerja optimum Enzim Selulase dari Pankreas Sapi terhadap Substrat Karboksi Metil Selulosa (CMC) dan mikrokristal Selulosa*, Tesis, Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Wirahadikusumah, M dan Madayanti, F., 1990, *Tekhnologi Enzim*, Bioteknologi ITB, Bandung.
- Wonalia, S., 2004, *Studi Kondisi Kerja Optimum Enzim Selulase Dari Bekicot (Xehatina Fulica) Terhadap Limbah Serbuk Kayu Bayam (Instia Indigo)*, Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.