



**MEMPELAJARI KONDISI KERJA ENZIM SELULASE  
DARI RAYAP TANAH PADA SUBSTRAT SELULOSA**

**IRIANY  
H311 94 055**



UNIVERSITAS HASANUDDIN	
No.	20-12-2000
J.	Fak. Mipa
E.	1 dep
P.	
Pro.	20122044
Di. No.	13.568

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2000**

**MEMPELAJARI KONDISI KERJA ENZIM SELULASE  
DARI RAYAP TANAH PADA SUBSTRAT SELULOSA**

Skripsi ini untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk melengkapi gelar sarjana

Oleh :  
Iriany  
H 311 94 055

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2000**

**MEMPELAJARI KONDISI KERJA ENZIM SELULASE  
DARI RAYAP TANAH PADA SUBSTRAT SELULOSA**

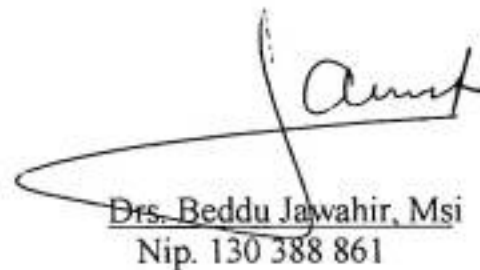
Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama



Dr. H. Abd Rauf Patong  
Nip. 130 520 667

Pembimbing Pertama



Drs. Beddu Jawahir, Msi  
Nip. 130 388 861

"Tidaklah layak bagi orang yang berakal dan berilmu beristirahat (dalam mencari ilmu). Tinggalkan negerimu, dan berkelanalah, kelak engkau akan menemukan pengganti orang yang engkau tinggalkan. Sesungguhnya ketinggian derajat kehidupan hanya bisa dicapai dengan kesusah-payahan"

(Imam Syaf'i)

*Kupersembahkan untuk  
kedua orang tuaku dan saudara-saudaraku*

PANITIA UJIAN SARJANA JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN

TIM PENGUJI

- |                                  |                    |
|----------------------------------|--------------------|
| 1. Drs. H. Abd. Wahid Wahab, Msi | Ketua              |
| 2. Dra. Indah Raya, Msi          | Sekretaris/Anggota |
| 3. Dr. Ir. Prastawa Budi         | Anggota            |
| 4. Dr. H. Abd Rauf Patong        | Anggota            |
| 5. Drs. Beddu Jawahir, Msi       | Anggota            |

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah kehadiran Ilahi Rabbi, yang telah memberikan kesempatan, kekuatan rahmat dan hidayahnya kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu syarat sidang sarjana, strata satu pada program studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Dalam menyelesaikan studi dan tugas akhir ini, penulis menerima bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini perkenankan penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih setulus-tulusnya kepada :

1. Yang terhormat bapak Dr. H. Abd. Rauf Patong dan bapak Drs. Beddu Jawahir, Msi, selaku pembimbing utama dan pembimbing pertama yang telah membimbing dan memberikan pengarahan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Para Tim penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyempurnaan isi dalam penulisan skripsi.
3. Segenap dosen dan staf jurusan Kimia Fakultas MIPA UNHAS yang telah memberikan bekal pengetahuan yang bermanfaat selama menuntut ilmu di Universitas.
4. Kedua Orang tuaku tercinta, Ayahanda H. Abu Bakar dan Ibunda Hj. Nursiah, yang telah memberikan dorongan dan do'a yang tulus kepada penulis dalam

menempuh studi hingga akhir. Kakak-kakakku tercinta, Kak Wawan dan Kak Dwi, adik-adikku tersayang, anti dan irfan.

5. Sahabatku tercinta terkhusus kepada *Novita Salim* yang telah banyak membantu dalam penulisan skripsi ini. Erna, Lolo, Amma, Ian, Alma, Cia, Wana, Din-din, Abdi, yuni dan maya, Rakhma, Jo', Debi, Eta, Yustina, Kama' , Arbi, Uces, Usman, Uke serta rekan-rekan mahasiswa kimia lainnya
6. Adik-adikku yang baik di KAMMI, Leli, Januar, Nurul, tuti, lula, Fifi, Fitri, Ani, Fatimah, Oji, jo', Hamka, Suhar, Basri, Madi, Saimah, Thalib, dll.
7. Kakak-kakak seperjuangan Mba' ati, kak Qadriah, Kak Nini, Kak Yusti .

Atas segala kebaikan ini, penulis hanya bisa mengucapkan terima kasih dan do'a semoga Allah SWT memberikan balasan dan limpahan anugerah yang berlipat ganda dari Allah.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini, masih banyak kekurangannya, oleh karena itu , saran dan petunjuk untuk penyempurnaan penulisan selanjutnya akan sangat membantu. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Makassar, Agustus 2000

penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang kondisi kerja optimum enzim selulase dari selulosa kristal. Enzim selulosa diperoleh dari rayap tanah melalui ekstraksi dengan NaCl 1% dan fraksinasi dengan ammonium sulfat. Pada fraksinasi 70% dihasilkan enzim dengan aktivitas terbesar.

Kadar glukosa yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometri UV-VIS menggunakan metode Nelson-Somogy dan kadar protein enzim diukur dengan spektrofotometri UV-VIS menggunakan metode Lowry.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa kondisi kerja optimum enzim selulase dari rayap tanah pada selulosa adalah pada pH 4,8 ; suhu 45°C dan konsentrasi substrat 1,8 mg/ml dan waktu inkubasi optimum adalah 20 menit.



## ABSTRACT

An observation on the optimum work conditions of cellulose enzyme on cellulose has been conducted. The cellulose enzyme is extracted from land termites with NaCl 1% and fractionated with ammonium sulfate crystal.

The resulting glucose is then measured with UV-VIS spectrophotometry by using Nelson-Somogy method and the resulting protein is measured with UV-VIS Spectrophotometry by using Lowry method. Result of the fractionated 70% is activity of maximal.

The result showed that optimal condition of enzyme cellulase from land termites on cellulose was on pH 4.8 ; temperature 45°C, substrate concentration 1,8 mg/ml and optimal incubation period was 20 minute.

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN .....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Penelitian .....	1
B. Maksud dan tujuan penelitian .....	2
B.1. Maksud Penelitian .....	2
B.2. Tujuan Penelitian .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Uraian Enzim Secara Umum .....	5
B. Enzim selulase .....	13
C. Rayap .....	14
D. Selulosa .....	16
BAB III. ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....	18
A. Alat yang digunakan .....	18

B. Bahan yang digunakan .....	19
C. Metode Penelitian .....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	25
A. Aktivitas Spesifik Enzim .....	25
a. Pengaruh pH .....	25
b. Pengaruh suhu .....	27
c. Pengaruh konsentrasi substrat .....	28
B. Waktu Inkubasi .....	29
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN .....	32
A. Simpulan .....	32
B. Saran .....	32
DAFTAR PUSTAKA .....	33

## DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Hal
2.1	Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim	9
2.2	Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim	10
2.3	Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi	11
2.4	Pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim	12
2.5	Rumus bangun selulosa	16
2.6	Kurva pengaruh ph terhadap aktivitas spesifik enzim	26
2.7	Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik enzim	27
2.8	Kurva pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas Spesifik enzim	28
2.9	Kurva pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas Spesifik enzim	30

## DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Hal
1.	Tabel Data kurva standar glukosa	35
2.	Hasil analisis regresi larutan standar glukosa	35
3.	Tabel Data kurva standar protein	36
4.	Hasil analisis regresi larutan standar protein	37
5.	Tabel Data pengaruh pH terhadap aktivitas spesifik Enzim selulase	38
6.	Tabel Data pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik Enzim selulase	38
7.	Tabel data pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas Spesifik enzim selulase	39
8.	Tabel data pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas Spesifik enzim selulase	39
9.	Skema Metode penelitian	40
	9.1 Isolasi dan pemurnian enzim selulase	40
	9.2 Penentuan aktivitas enzim selulase	41
	9.3 Penentuan kadar protein enzim	42
10.	Penentuan aktivitas spesifik dari sampel	42

## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\lambda$	Panjang gelombang
$\mu\text{mol}$	Mikromol
mg	milligram
pH	Pangkat eksponen Hidrogen
$V_{\text{maks}}$	Kecepatan maksimum
[S]	Konsentrasi Substrat
ml	Milliliter
$^{\circ}\text{C}$	Derajat Celsius
nm	nanometer

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Penelitian

Kehidupan manusia sehari-hari tidak dapat dipisahkan dari limbah, baik yang berasal dari industri-industri besar maupun limbah rumah tangga. Pemanfaatan kembali limbah atau yang dikenal dengan pemberdayaan daur ulang limbah merupakan suatu proyek yang bermanfaat bagi kehidupan manusia lebih lanjut. Proses daur ulang tidak terlepas dari bagaimana kita dapat melakukan proses penguraian bahan asal menjadi molekul yang lebih kecil lagi, untuk kemudian diproses untuk menjadi bahan jadi lain yang bermanfaat. Proses pemecahan atau penguraian ini, untuk limbah-limbah anorganik digunakan penambahan zat-zat kimia, sedangkan limbah-limbah organik sering melibatkan penggunaan enzim pemecah ikatan dari senyawa organik yang ada.

Selulosa merupakan senyawa penyusun untuk bahan-bahan organik. Dapat dikatakan bahwa hampir disetiap bahan-bahan organik mengandung senyawa selulosa. Senyawa ini seperti serabut, liat, tidak larut dalam air, dan ditemukan di dalam dinding sel pelindung tumbuhan, terutama pada tangkai, batang, dahan, dan semua bagian berkayu dari jaringan tumbuhan. Kayu terutama terbuat dari selulosa dan senyawa polimer lain; katun merupakan selulosa yang hampir semua murni.

Senyawa ini adalah polimer glukosa linier yang mempunyai ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,4 dan  $\beta$ -1,4 . Ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,4 dapat dipecahkan oleh enzim amilase yang

terdapat dalam pencernaan manusia, tetapi enzim ini tidak dapat memecahkan ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4, dimana ikatan ini hanya dapat dipecahkan oleh enzim selulase yang banyak dimiliki oleh hewan-hewan ruminansia seperti pada rayap (Winarno, F. G, 1986).

Rayap mudah mencernakan selulosa, karena saluran ususnya memiliki suatu organisme parasit, *Trichonympha*, yang mengeluarkan selulase, suatu enzim penghidrolisa selulosa yang menyebabkan rayap mampu mencernakan kayu, jamur, dan bakteri pembusuk pada kayu (Lehninger, 1990).

Enzim merupakan biokatalisator yang daya kerjanya bersifat spesifik terhadap sel-sel hidup. Reaksi-reaksi enzimatik dapat berlangsung baik dalam skala mikro sampai pada skala makro yang sering digunakan sebagai bahan baku industri tertentu (teknologi enzim). (Page, David S, 1989).

Untuk memperoleh aktivitas maksimal dari suatu enzim diperlukan kondisi kerja optimum. Kondisi kerja optimum ini sangat spesifik terhadap enzim yang berbeda. Kondisi yang diperlukan antara lain pH, suhu, konsentrasi substrat dan lain-lain. Untuk enzim selulase yang bekerja terhadap substrat selulosa juga memerlukan kondisi optimum untuk memperoleh hasil yang optimal.

## **B. Maksud dan Tujuan Penelitian.**

### **1. Maksud Penelitian**

Mengetahui kondisi kerja enzim selulase dari rayap tembok terhadap substrat selulosa murni.



## 2. Tujuan Penelitian

- a. Menentukan pH, suhu, dan konsentrasi substrat untuk kerja optimum enzim selulase pada selulosa murni.
- b. Melihat pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase pada selulosa murni.

## C. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang kondisi kerja optimal enzim selulase dari rayap pada substrat selulosa murni.
2. Memberikan informasi untuk pengembangan teknologi olah limbah dengan menggunakan enzim selulase.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Uraian Enzim secara Umum**

Beberapa bentuk katalisis terjadi di dalam sistem biologi pertama kali ditemukan pada awal tahun 1800, dari penelitian mengenai pencernaan daging oleh sekresi lambung dan perubahan pati menjadi gula oleh air liur dan berbagai ekstrak tumbuhan. Selanjutnya sejumlah contoh katalisis biologi yang sekarang diketahui bersifat enzimatik, ditemukan pada tahun 1850, Louis Pasteur menyimpulkan bahwa fermentasi gula menjadi alkohol oleh ragi yang dikatalisis "fermen". Beliau mengemukakan bahwa fermentasi ini, yang kemudian dinamakan enzim ("di dalam ragi") tidak dapat dipisahkan dari struktur sel ragi hidup, suatu pendapat yang bertahan selama bertahun-tahun.

Oleh karena itu, merupakan suatu penemuan penting di dalam sejarah Biokimia, ketika pada tahun 1897 Eduard Buchner berhasil mengekstrak ke dalam larutan, suatu bentuk aktif dari sel ragi, yaitu serangkaian enzim yang mengkatalisis fermentasi gula menjadi alkohol. Penemuan ini membuktikan, bahwa enzim yang penting ini, yang mengkatalisis lintas metabolik utama penghasil energi, dapat tetap berfungsi jika dipindahkan dari struktur sel hidup. Penemuan ini juga mendorong ahli biokimia untuk mencoba mengisolasi berbagai jenis enzim dan untuk mengamati sifat-sifat katalitiknya.

Pada awal abad ke dua puluh, Emil Fischer melakukan penelitian sistematis pertama mengenai spesifitas enzim. Penelitian ini mempelajari kinetika aktivitas enzim dan menyusun teori kerja enzim. Tetapi, barulah pada tahun 1926, enzim dapat diisolasi dalam bentuk kristal untuk pertama kalinya. Enzim ini adalah urease, yang diperoleh dari ekstrak kacang oleh James Sumner di Universitas Cornell. Sumner menemukan bahwa kristal urease terdiri keseluruhannya dari protein.

Oleh karena itu, beliau mengemukakan bahwa semua enzim adalah protein, tetapi kesimpulannya dengan berapi-api ditentang oleh biokimiawan Jerman Richard Willstätter, seorang tokoh otoriter, yang menekankan bahwa enzim adalah senyawa berberat molekul rendah dan bahwa protein yang ditemukan pada kristal urease hanya lah suatu pencemar. Barulah pada tahun 1930, setelah John Northrop dan koleganya mengkristalkan pepsin dan tripsin, dan menemukan keduanya adalah juga protein, sifat protein enzim diterima secara luas. Hal ini diikuti dengan periode penelitian secara intensif akan enzim-enzim yang mengkatalisis reaksi metabolisme sel. Semua enzim murni yang telah diamati saat ini adalah protein; dan aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein.

Kata *enzyme* atau enzim berasal dari istilah Yunani yang arti harfiahnya “ di dalam sel” . Enzim adalah katalis organik yang memegang peranan penting pada sebagian besar reaksi biologis. Enzim adalah biokatalisis yang sangat spesifik. Sifat biokatalisis yang sangat penting ini dapat meningkatkan kecepatan reaksi pada substrat yang sangat spesifik dan dapat dikontrol secara kinetik.

Umumnya enzim dinamakan sesuai dengan macam reaksi yang dikatalisisnya. Pada penamaan ini, sudah menjadi biasa untuk menambahkan imbuhan "ase" pada sebagian besar substrat yang terlibat dalam mekanisme reaksi, misalnya urease menghidrolisis urea. Selain itu ada juga nama trivial seperti pepsin, tripsin, dsb.

Pada tahun 1956, The international Union biochemistry membagi enzim dalam enam kelompok utama berdasarkan tipe reaksi yang dikatalisis oleh enzim yang bersangkutan. Diantara kelompok enzim tersebut adalah :

- a. Oksidoreduktase, yaitu enzim yang bertindak sebagai katalis dalam reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan.
- b. Transferase, yaitu enzim yang ikut serta dalam reaksi pemindahan suatu radikal atau gugus.
- c. Hidrolase, yaitu enzim yang mengkatalisa reaksi hidrolisis suatu substrat atau pemecahan substrat dengan pertolongan molekul air.
- d. Liase, yaitu enzim yang aktif dalam pemecahan ikatan C-C dan ikatan C-O tanpa menggunakan molekul air.
- e. Isomerase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi perubahan konfigurasi molekul dengan cara pengaturan kembali atom-atom dalam molekul substrat, sehingga dihasilkan molekul baru yang merupakan isomer dari substrat yang bersangkutan.
- f. Ligase, yaitu enzim yang mengkatalisis penggabungan 2 molekul disertai dengan hidrolisis ikatan berenergi tinggi.

Karena enzim merupakan katalis, maka studi dari cara-cara enzim menyebabkan perubahan substrat menjadi hasil berpusat pada akibat berbagai faktor

atas laju reaksi enzim. Seperti dengan setiap reaktan maka penting untuk membuat batasan perangkat perjanjian mengenai aktivitas atau konsentrasi enzim. Satuan konsentrasi molar tidak selalu serasi bagi enzim, karena bobot molekular protein yang bersangkutan mungkin tidak dikenal.

1 satuan aktivitas = banyaknya enzim yang menyebabkan perubahan  $1,0 \times 10^{-6}$  mol substrat permenit pada  $25^{\circ}\text{C}$  pada keadaan optimal.

Aktivitas spesifik = jumlah satuan/mg protein.

Bilangan peredaran = jumlah molekul substrat yang dikerjakan per satuan waktu dan per pusat aktif.

### ***Keaktifan enzim***

Keaktifan enzim dapat ditentukan secara kualitatif melalui reaksi kimia, yaitu dengan menambahkan substrat yang dapat dikatalis oleh enzim yang bersangkutan, sedangkan untuk menentukan keaktifan enzim secara kuantitatif dapat dilakukan dengan mengukur laju reaksi antara substrat dan enzim tersebut. Oleh karenanya cacah enzim yang lebih lanjut dinyatakan dalam satuan unit antar unit enzim.

Untuk menyatakan keaktifan enzim, maka Enzym Commision of The International Union of Biochemistry mengusulkan beberapa satuan yaitu :

- a. Satu unit keaktifan enzim adalah cacah enzim yang menyebabkan perubahan 1 mikromol substrat per menit dalam kondisi optimum sistem tersebut.
- b. Aktifitas pusat aktif adalah cacah molekul substrat yang dapat terikat pada pusat aktif enzim.

c. "Turn Over Number" adalah cacah mol substrat yang diubah menjadi produk per satuan waktu oleh suatu molekul enzim.

Jika kita memurnikan suatu enzim, maka peningkatan aktivitas jenis dari tahap ke tahap menunjukkan bahwa kita berhasil dalam hal pengambilan kotoran. Biasanya kita mulai dengan campuran protein yang diturunkan dari suatu sumber alamiah. Karena jumlah total protein besar, aktivitas spesifik dari tiap enzim tertentu dalam campuran demikian akan relatif rendah. Karena pemurnian menyangkut pemisahan protein yang bersangkutan dari protein-protein yang lainnya yang ada dalam campuran, maka langkah-langkah pemurnian yang berturut-turut meningkatkan persentase enzim dalam hubungannya dengan campuran total.

Banyak faktor mempengaruhi laju reaksi suatu enzim. Diantaranya yang paling penting adalah konsentrasi-konsentrasi substrat dan enzim. Beberapa faktor utama yang lain adalah suhu, pH, kekuatan ionik, dan adanya inhibitor. Sesungguhnya, segala sesuatu yang mempengaruhi struktur tersier protein enzim akan mempengaruhi laju reaksi enzim.

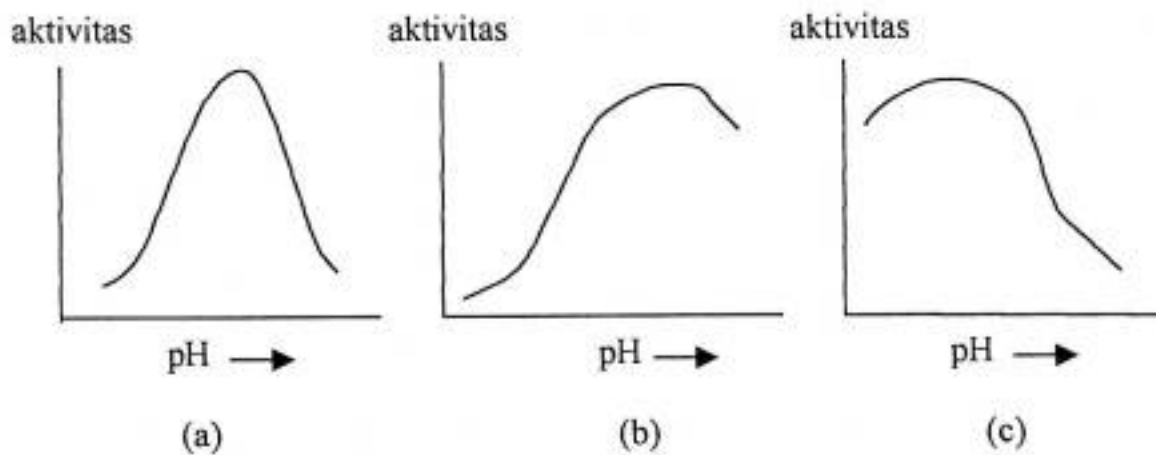
#### ***Faktor-faktor yang mempengaruhi keaktifan enzim***

Lingkungan sangat berpengaruh terhadap keaktifan suatu enzim. Faktor-faktor yang mempengaruhi adalah sebagai berikut :

##### **a. Pengaruh pH**

PH sangat mempengaruhi laju reaksi enzim. Tiap enzim mempunyai aktifitas maksimum pada satu harga pH. Pada saat ini pH tersebut disebut pH optimum. Di bawah atau diatas pH ini aktifitas enzim tersebut menurun, Beberapa

enzim dapat bekerja cukup baik juga pada suatu harga jangkauan pH. Pengaruh pH terhadap aktifitas enzim dapat dilihat dalam gambar 2.1 dibawah ini :



Gambar 2.1. Pengaruh pH terhadap aktifitas enzim

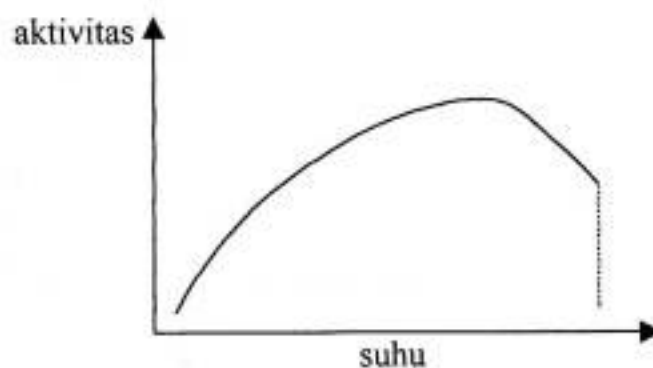
Akibat dari pH terhadap suatu reaksi enzim menjadi rumit oleh beberapa, yang dapat saling bersaing. Maka kita kemungkinan akan dapat melihat tabiat-tabiat yang sesuai dengan gambar-gambar 2.1 (a), (b), dan (c), tergantung pada sifat enzimnya. Kita sering mengamati tabiat yang ditunjukkan dalam gambar 2.1., yaitu apabila pH mencapai suatu optimum. Laju reaksi berkurang pada di kedua sisi pH optimum untuk setiap kombinasi dari tiga alasan yang mungkin :

1. Protein enzim dapat menjadi mengalami denaturasi akibat pH eksterm tinggi atau rendah.
2. Protein enzim dapat memerlukan gugusan-gugusan asam amino yang terionisasikan pada rantai samping yang mungkin aktif hanya pada satu keadaan ionisasi.
3. Substrat dapat memperoleh atau kehilangan proton dan reaktif dalam hanya satu bentuk muatan.

Jika banyak enzim ternyata paling aktif pada sekitar pH 7, maka beberapa enzim adalah maksimum aktif pada pH tinggi atau pada pH rendah (gambar 2.1(b),(c)), tergantung pada keadaan bekerjanya enzim. Suatu contoh adalah enzim pepsin, yaitu enzim proteolitik dari cairan perut yang mempunyai pH optimum sekitar 2.

#### b. Pengaruh suhu

Reaksi-reaksi kimia, baik yang dikatalisis maupun yang tidak dikatalisis, sangat dipengaruhi oleh suhu sistem dimana reaksi akan berlangsung. Semakin tinggi suhu, semakin tinggi aktifitas enzim, tetapi karena enzim adalah protein, maka semakin tinggi suhu, semakin meningkat proses enzim menjadi non aktif. Kedua hal ini mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik secara keseluruhan dapat dilihat dalam gambar 2.2 :



Gambar 2.2 . Pengaruh suhu terhadap aktifitas enzim

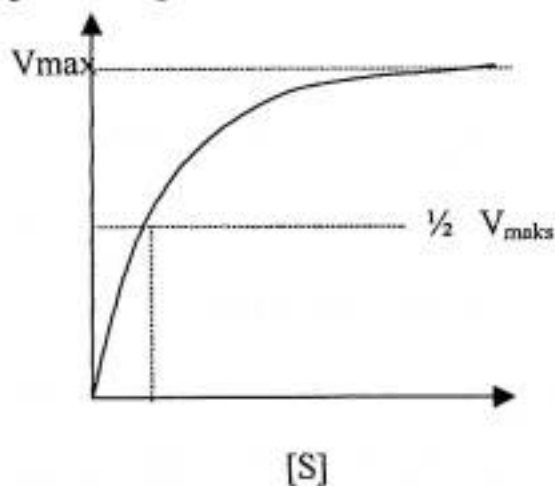
Pada grafik di atas terlihat bahwa pada batas-batas tertentu, semakin tinggi suhu semakin meningkat aktifitas enzim, tetapi laju ini berkurang setelah melewati suhu optimum. Suhu optimum adalah suhu dimana enzim mempunyai



aktifitas enzim maksimum. Akhirnya enzim kehilangan semua aktifitas jika protein menjadi rusak akibat panas.

c. Pengaruh konsentrasi substrat

Pengaruh berbagai konsentrasi substrat terhadap laju reaksi jika konsentrasi enzim dijaga konstan ditunjukkan dalam gambar 2.3. Laju reaksi yang dikatalis dengan enzim mula-mula meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Akan tetapi, setelah konsentrasi substrat dinaikkan lebih lanjut akan tercapai laju limit atau laju maksimum. Penambahan konsentrasi substrat lebih lanjut tidak berpengaruh terhadap laju reaksi. Fenomena ini disebut kinetika penjumlahan. Jadi pada kondisi laju maksimum dapat dikatakan bahwa keadaan telah "jenuh dengan substrat".

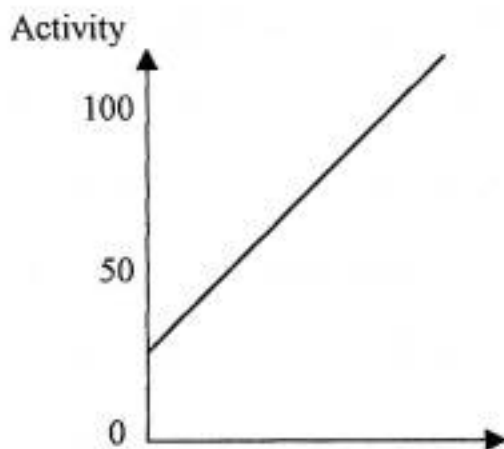


Gambar 2.3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju reaksi.

Suatu unit atau aktifitas maksimum, yaitu  $V_{maks}$ , pada batas ini, enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat berfungsi lebih cepat.

d. Pengaruh konsentrasi enzim

Pengaruh konsentrasi enzim terhadap laju reaksi yang dikatalis oleh suatu enzim, pada umumnya terlihat seperti yang ditunjukkan dalam gambar 2.4. Pada konsentrasi enzim rendah, laju reaksi juga amat rendah, laju reaksi juga amat rendah. Tetapi laju reaksi meningkat secara linier dengan bertambahnya konsentrasi enzim selama konsentrasi enzim sedikit lebih jenuh daripada substrat.



Gambar 2.4. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktifitas enzim

e. Aktivator

Enzim akan bekerja dengan baik jika tersedia senyawa atau unsur lain yang dapat merangsang kerja enzim, yang disebut aktivator. Aktivator dapat mengaktifkan enzim dengan beberapa cara :

1. Meningkatkan terbentuknya kompleks enzim substrat dalam orientasi yang tepat.
2. Sebagai donor atau akseptor elektron selama katalisis.
3. Membentuk kompleks yang dapat meningkatkan laju reaksi awal.

## f. Inhibitor

Inhibitor adalah suatu zat yang dalam jumlah kecil dapat bekerja aktif menghambat jalannya suatu reaksi yang mengakibatkan berkurangnya laju reaksi atau berhenti sama sekali. Berdasarkan cara kerjanya, ada 3 jenis utama inhibitor, yaitu :

- a. Inhibitor kompetitif adalah inhibitor yang bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan pusat aktif yang sama pada molekul enzim.
- b. Inhibitor non-kompetitif adalah inhibitor yang mempengaruhi aktifitas enzim pada tempat pengikatan lain dari pusat aktifnya.
- c. Inhibitor un-kompetitif adalah jenis inhibitor, dimana pada mulanya zat inhibitor tidak serupa bentuknya pada pusat aktif enzim, tetapi setelah terjadi pengikatan substrat oleh enzim, tempat yang semula untuk mengikat inhibitor berubah sedemikian rupa sehingga inhibitor dapat berikatan dengan kompleks enzim-substrat.

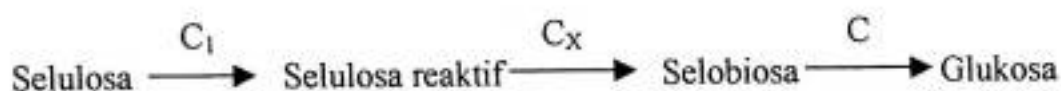
## B. Enzim selulase

Salah satu golongan enzim yang berperan dalam reaksi hidrolisis adalah enzim hidrolase yang menyerang sifat gugus fungsional seperti : ester, ikatan glikosidik, ikatan peptida, ikatan C-N, dan anhidrida asam. Enzim yang termasuk dalam golongan ini adalah enzim selulase, lipase, pektinase, amilase dan sebagainya.

Istilah selulase semula khusus digunakan untuk enzim yang dapat memecah selulosa kapan saja. Kemudian nama enzim selulase digunakan untuk semua enzim

yang dapat memutuskan ikatan glikosida  $\beta$ -1,4 dalam selulosa, selodekstrin, dan selubiosa serta turunan selulosa lainnya. Selulase merupakan nama sistematiknya adalah  $\beta$ -1,4-glukan-4-glukano hidrolase.

Enzim selulase kompleks terdiri dari tiga komponen yaitu  $C_1$ ,  $C_x$ , dan  $\beta$ -glukosidase.  $C_1$  bekerja pada daerah selulosa kristalin dan merubah substrat menjadi selulosa amorf, selanjutnya oleh enzim  $C_x$  dihidrolisa menjadi monosakarida (glukosa) dan disakarida (selubiosa).  $\beta$ -glukosidase berfungsi untuk menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.



Keterangan :  $C_1$  =  $\beta$ -glukan selobiosasilhidrolase

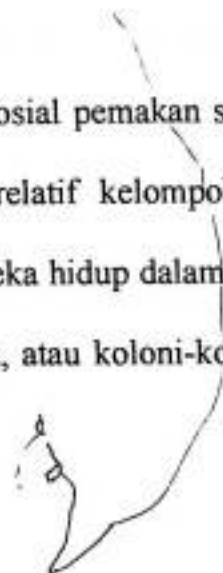
$C_x$  = Endo- $\beta$ -1,4-glukanase

C =  $\beta$ -glukosidase

Suhu dan pH optimim enzim selulase berbeda-beda tergantung pada jenis mikroba penghasil enzim tersebut. Tetapi pada umumnya enzim selulase memiliki suhu optimum  $50^{\circ}\text{C}$ - $60^{\circ}\text{C}$  dan pH optimum 4,5 - 6,5.

### C. Rayap ( Anai-anai )

Rayap atau anai-anai adalah serangga-serangga sosial pemakan selulosa yang berukuran sedang merupakan ordo isoptera, secara relatif kelompok kecil dari serangga yang terdiri kira-kira 1900 jenis di dunia. Mereka hidup dalam masyarakat-masyarakat dengan organisasi yang tinggi dan terpadu, atau koloni-koloni, dengan



individu-individu yang secara morfologi dibedakan menjadi bentuk-bentuk yang berlainan atau kasta-kasta yaitu reproduktif, pekerja dan serdadu yang melakukan fungsi-fungsi biologi yang berbeda.

Terdapat perbedaan-perbedaan yang penting antara rayap dan semut. Rayap-rayap bertubuh lunak dan berwarna putih, sedangkan semut bertubuh keras dan biasanya hitam.

Sayap-sayap depan dan belakang ukurannya hampir sama dan diletakkan datar di atas abdomen pada waktu beristirahat, sedangkan pada semut, sayap-sayap belakang lebih kecil dari pada sayap-sayap depan dan sayap-sayap pada waktu istirahat biasanya diletakkan di atas tubuh.

Beberapa rayap hidup di dalam habitat-habitat di bawah tanah yang lembab dan lain-lainnya hidup di habitat-habitat yang kering di atas tanah. Bentuk-bentuk di bawah tanah secara normal hidup di kayu yang terutama di bawah atau kontak dengan tanah, mereka dapat masuk kayu jauh dari tanah, tetapi harus mengusahakan jalan lintas atau lorong-lorong penghubung ke dalam tanah, dari tempat itu mereka memperoleh kelembaban.

Selulosa dalam makanan rayap dicerna oleh berbagai macam flagelata tak terbilang jumlahnya yang hidup dalam saluran pencernaan rayap. Seekor rayap yang flagellata-flagellatanya ini diambil akan meneruskan makan, tetapi rayap kemudian akan mati kelaparan karena makanan tidak dapat dicerna. Hubungan ini adalah salah satu contoh yang sangat bagus dari simbiosis mutualisme. Beberapa rayap mengandung bakteri daripada flagellata. Rayap-rayap melakukan suatu bentuk yang

tak ada duanya dalam pertukaran cairan dubur (trofalaksis), dan dengan cara inilah mikroorganisme atau usus ditularkan dari satu individu ke individu lainnya,

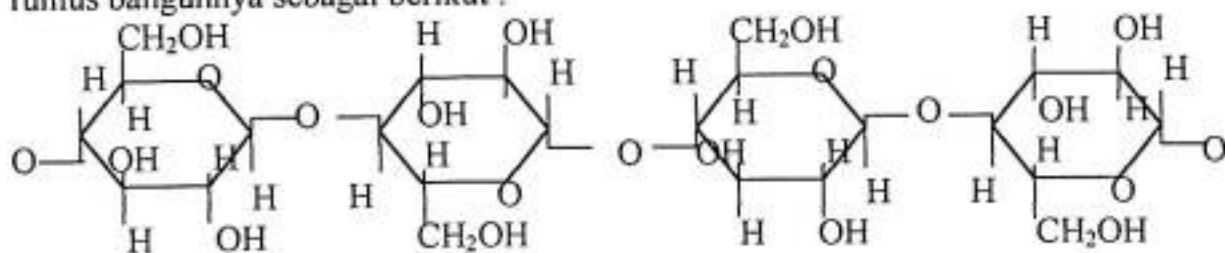
( Ensiklopedi Nasional Indonesia, 1990).

Klasifikasi rayap sebagai berikut :

- Kingdom : Animalia
- Phylum : Arthropoda
- Class : Insecta
- SubClass : Pterygota
- Ordo : Isopetra
- Familia : Termitidae
- Genus : Macrotermes
- Species : Macrotermes Carbonarius ( Hagen )  
Macrotermes Gilvus ( Hagen )

#### D. Selulosa

Selulosa merupakan polimer glukosa linear dengan ikatan glikosidik -1,4 dan rumus bangunnya sebagai berikut :



Gambar 2.5. Rumus bangun selulosa

memiliki mikroorganisme yang dapat memecah selulosa dalam alat pencernaannya, sehingga dapat memanfaatkan substansi tersebut sebagai sumber karbohidrat.

Setiap serat selulosa tersusun oleh kira-kira 3000 molekul glukosa dan berat molekulnya diperkirakan mencapai 500.000. Secara alamiah molekul selulosa tersusun dalam bentuk “fibril” yang terdiri dari beberapa molekul selulosa paralel yang dihubungkan oleh ikatan hidrogen, fibril-fibril tersebut membentuk struktur kristal pada kayu. Struktur kristal tersebut dibungkus oleh lignin yang berperan sebagai pelindung selulosa terhadap serangan enzim pemecah selulosa.

Ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer-monomer glukosa. Proses perubahan selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam atau secara enzimatik (basa).

## **BAB III**

### **ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

#### **A. Alat yang digunakan**

1. Seperangkat alat-alat gelas
2. Timbangan analitik
3. Penangas air
3. Inkubator
4. Lemari es
5. Blender
6. Seperangkat alat Ultrasentrifugasi
7. Spektrofotometer UV-VIS
8. Botol semprot



## **B. Bahan yang digunakan**

1. Rayap
2. Selulosa p.a
3. Reagen Nelson A : Natrium Karbonat Anhidrat, Natrium Bikarbonat, Natrium sulfat anhidrat
4. Albumin Fraction
5. Reagen Nelson B : Cupri Sulfat pentahidrat (  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ) , Asam Sulfat Pekat
6. Reagen Lowry A : Larutan asam phosphotungistic-phoshomlybdic.
7. Reagen Lowry B : Natrium Kalium Tartrat
8. Reagen Arsenomolibdat : Ammonium Molybdat, Natrium Hidrogen Arsenat
9. Asam Asetat
10. Natrium Asetat
11. Natrium Klorida
12. Akuades
13. Ammonium sulfat

### C. Metode Penelitian

#### 1. Penyiapan Substrat

- Substrat Selulosa

Selulosa p.a sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades dan siap dipakai sebagai substrat.

#### 2. Penyiapan Enzim Selulase

200 gram rayap dihomogenasi dengan 500 ml NaCl 1% dalam blender selama 3 menit. Homogenat yang diperoleh disaring dengan kain steril. Endapannya dibuang dan kemudian filtratnya disentrifuse selama 30 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Filtrat ( $S_1$ ) yang diperoleh ditambahkan Amonium sulfat 30%, lalu diaduk selama 30 menit dan disentrifuse selama 15 menit. Endapan ( $E_1$ ) yang dihasilkan disimpan dan filtratnya ( $S_2$ ) ditambahkan Amonium sulfat 50%. Perlakuan selanjutnya sama pada saat penambahan Amonium sulfat 70% hingga pada penambahan amonium sulfat 90 % ( sehingga diperoleh  $E_2$ ,  $E_3$ ,  $E_4$  dan  $S_3$  dan  $S_4$ ). Terhadap endapan yang menghasilkan aktifitas terbesar selanjutnya digunakan untuk penentuan kondisi optimum enzim selulase.

#### 3. Penentuan Aktivitas Enzim

Penentuan aktivitas enzim berdasarkan jumlah glukosa yang dihasilkan selama 0,5 jam inkubasi dengan kondisi pH, suhu, konsentrasi substrat optimum serta waktu inkubasi yang berbeda-beda dari sistem yang diperoleh. Sebagai substrat digunakan larutan selulosa sebanyak 0.1 mg/ml dalam buffer asetat.

Jumlah glukosa yang dihasilkan ditentukan secara spektrofotometri berdasarkan metode Nelson-Somogyi.

Untuk menentukan kadar glukosa yang dihasilkan terdiri dari 2 tahap, yaitu *pertama*, penentuan kadar glukosa standar untuk membuat kurva kalibrasi dan *kedua*, penentuan kadar glukosa larutan sampel.

a. Penyiapan kurva kalibrasi

Ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 3 ml larutan glukosa standar dengan konsentrasi : 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,12; 0,14; 0,16; 0,18; dan 0,20  $\mu\text{mol/ml}$  (100 mgr glukosa anhidrat dilarutkan dengan akuades 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 diaduk. Kemudian ditambahkan 5 ml akuades dan segera dikocok hingga bercampur rata. Absorbans diukur pada  $\lambda$  745 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara kadar glukosa dan absorban. Untuk blanko, larutan glukosa standar diganti 3 ml akuades dan dikerjakan sama seperti diatas.

b. Penentuan Kadar Glukosa larutan Sampel

1 ml larutan selulosa 0.1 mg/ml dalam 1 ml buffer Asetat dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml ekstrak enzim dan

diinkubasi selama 0,5 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi , tabung dimasukkan dalam penangas air 100°C selama 20 menit, lalu didinginkan sampai suhunya sama dengan suhu kamar. Setelah dingin ditambahkan 1 ml reagen Arsenomolibdat sambil dikocok dan terakhir ditambahkan 5 ml akuades sambil diaduk. Diamkan selama 30 menit agar reaksi berjalan sempurna. Absorban diukur dalam spektrofotometer pada  $\lambda$  745 nm dan kadar glukosa sampel ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi hubungan antara absorban dengan kadar glukosa larutan standar.

#### 4. Penyiapan Kurva kalibrasi Protein

Kedalam tabung reaksi diisi 1 ml larutan protein standar dengan konsentrasi 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1.0 mg/ml (1 gr Albumin fraction V dilarutkan dengan akuades hingga tepat 100 ml, kemudian diencerkan hingga konsentrasi yang diinginkan). Ditambahkan 5 ml reagen Lowry B, lalu dikocok hingga rata dan diamkan pada suhu kamar selama 30 menit agar reaksi berjalan sempurna. Absorban diukur pada  $\lambda$  775 nm.

Untuk blanko, 1ml akuades sebagai pengganti larutan protein dan diperlakukan sama seperti di atas.

#### 5. Penentuan Kadar Protein Sampel

1 ml larutan enzim ditambahkan 5 ml reagen Lowry B, dikocok, lalu di diamkan pada suhu kamar selama 15 menit. Selanjutnya tambahkan 1 ml reagen

Lowry A, lalu dikocok dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbans diukur pada  $\lambda$  775 nm.

## 6. Penentuan Kondisis optimum Kerja Enzim

### a. Perubahan pH

Ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 1 ml substrat selulosa 1 mg/ml dalam 1 ml buffer asetat dengan variasi pH 4.3, 4.5, 4.6, 4.8, 5.0, 5.2 dan 5.4. Selanjutnya tambahkan 1 ml larutan enzim dan diaduk hingga bercampur rata, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit. Selanjutnya dalam larutan ditambahkan 1 ml reagen Nelson, setelah larutan didinginkan terlebih dahulu dalam air es selama 10 menit.

Kemudian masing-masing tabung dipanaskan dalam penangas air 100 °C selama 20 menit, lalu didinginkan dalam air es sampai suhu larutan sama dengan suhu kamar. Setelah ditambahkan 1 ml reagen Arsenomolibdat dan terakhir 5 ml akuades lalu dikocok hingga bercampur rata. Didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Absorban campuran diukur dalam spektrofotometer pada  $\lambda$  745 nm. Untuk kontrol dilakukan sama seperti diatas, tetapi larutan enzim dipanaskan terlebih dahulu dalam air mendidih selama 30 menit.

### b. Perubahan Suhu

Percobaan ini dilakukan sama seperti pada percobaaan perubahan pH dengan menggunakan pH dengan menggunakan pH optimum hasil percobaan

sebelumnya. Kemudian larutan enzim diinkubasi dengan variasi suhu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C selama 0,5 jam.

c. Perubahan konsentrasi substrat

Percobaan ini dilakukan sama seperti pada percobaan perubahan suhu dengan menggunakan suhu optimum hasil percobaan sebelumnya. Konsentrasi substrat yang ditambahkan ke dalam larutan dengan dengan variasi 0,1 mg/ml, 0,6 mg/ml, 1,2 mg/ml, 1,8 mg/ml, 2,4 mg/ml, dan 3 mg/ml.

d. Perubahan waktu inkubasi

Percobaan ini dilakukan sama seperti pada percobaan konsentrasi substrat dengan menggunakan konsentrasi substrat optimum hasil percobaan sebelumnya. Waktu inkubasi divariasikan sebagai berikut 10 menit, 20 menit, 30 menit, 40 menit, 50 menit, dan 60 menit.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

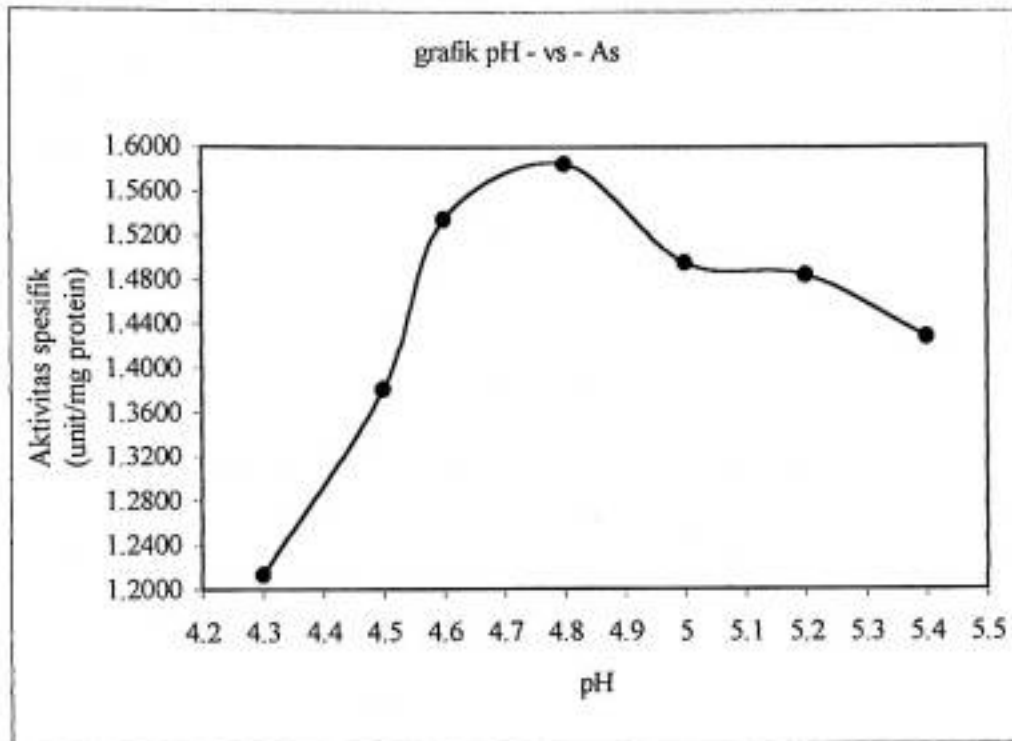
#### A. Aktivitas Spesifik Enzim

Pada fraksinasi dengan amonium sulfat 70% didapatkan aktivitas maksimal dari kerja enzim pada kondisi pH 4,3 dan suhu 37°C. Aktivitas spesifik enzim dapat dihitung dengan menggunakan data yang dihasilkan dari perhitungan kadar glukosa dari rayap ( 1 ml ) yang bekerja selama 30 menit masa inkubasi, pada kondisi 37°C, pH 4,3 dan penambahan substrat selulosa sebanyak 1 ml (lampiran 10). Dengan kadar glukosa dari sampel sebesar 0,0419  $\mu\text{mol/ml}$  (lampiran 2), dan kadar protein sebesar 0,0717 mg/ml (lampiran 4), diperoleh besarnya aktivitas spesifik enzim sebesar 0,4156 unit/mg protein (lampiran 10).

Pengamatan beberapa kondisi optimum kerja enzim :

##### a. Pengaruh pH

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase (1 ml) pada konsentrasi substrat selulosa 0,1 mg/ml dan suhu 37°C ditunjukkan pada lampiran 5, sehingga diperoleh grafik :



Gambar 4.1. Kurva pengaruh pH terhadap aktivitas spesifik enzim.

Berdasarkan gambar 4.1, dengan perubahan pH tersebut terlihat adanya peningkatan yang tajam dari aktivitas enzim pada pH 4,3 sampai 4,8 dan terjadinya penurunan aktivitas pada pH 5 , hal ini menunjukkan bahwa pH optimum untuk enzim selulase yaitu pH 4,8 , sedangkan pada pH yang lebih asam dan yang mendekati pH netral (lebih basa) menunjukkan aktivitas yang lebih rendah. Penurunan aktivitas ini dikarenakan terjadinya denaturasi pada sebagian enzim sebelum bereaksi lebih lanjut dengan substrat.

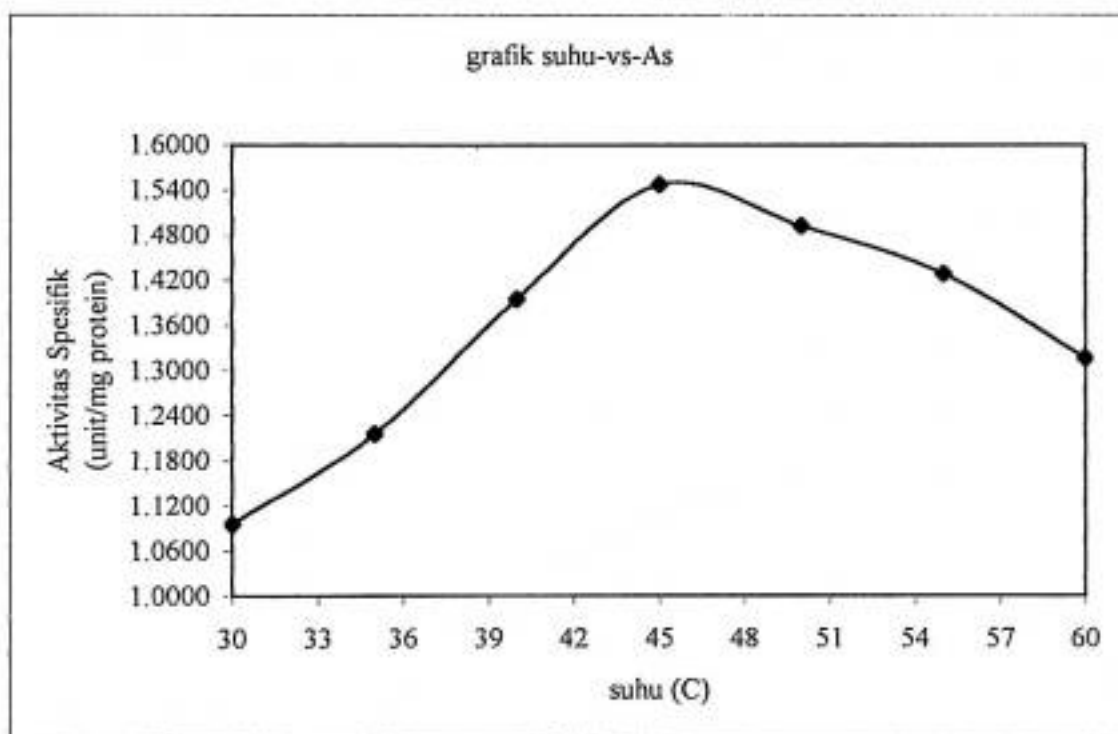
ix. *Modifikasi...*





## b. Pengaruh suhu

Dengan menggunakan pH optimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya, dilakukan lebih lanjut pengamatan suhu optimum dari enzim selulase (1ml) dengan penambahan substrat selulosa 0,1 mg/ml selama 30 menit masa inkubasi (lampiran 6), maka diperoleh data sebagai berikut.



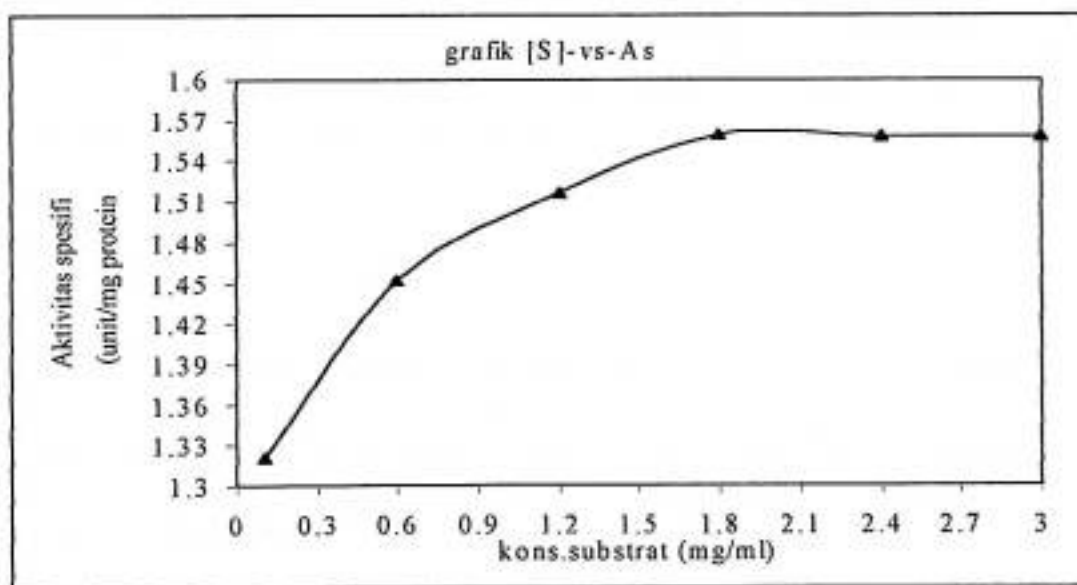
Gambar 4.2 Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik enzim

Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh lama masa inkubasi, maka dari lampiran 4 dan gambar 4.2 yang merupakan hasil pengamatan kerja enzim selama 30 menit masa inkubasi menunjukkan suhu optimumnya yaitu 45°C. Seperti pada reaksi kimiawi umum lainnya, bahwa semakin tinggi suhu terjadinya reaksi maka gerak termal molekul akan semakin meningkat, dengan demikian terjadi juga peningkatan tumbukan antar molekul yang bereaksi. Hanya saja

optimumnya. Apabila suhu yang digunakan lebih tinggi maka protein yang merupakan unsur penyusun dari enzim akan mengalami denaturasi, sehingga daya katalitiknya menghilang. Hal ini dapat dilihat dari hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa pada suhu di atas suhu optimal terjadi penurunan aktivitas enzim.

c. Pengaruh konsentrasi substrat

Perolehan pH dan suhu optimum selanjutnya digunakan sebagai kondisi lebih lanjut untuk mengamati konsentrasi substrat optimum untuk enzim sebanyak 1 ml (lampiran 7). Hasil dari penelitian ini ditunjukkan pada gambar di bawah ini :



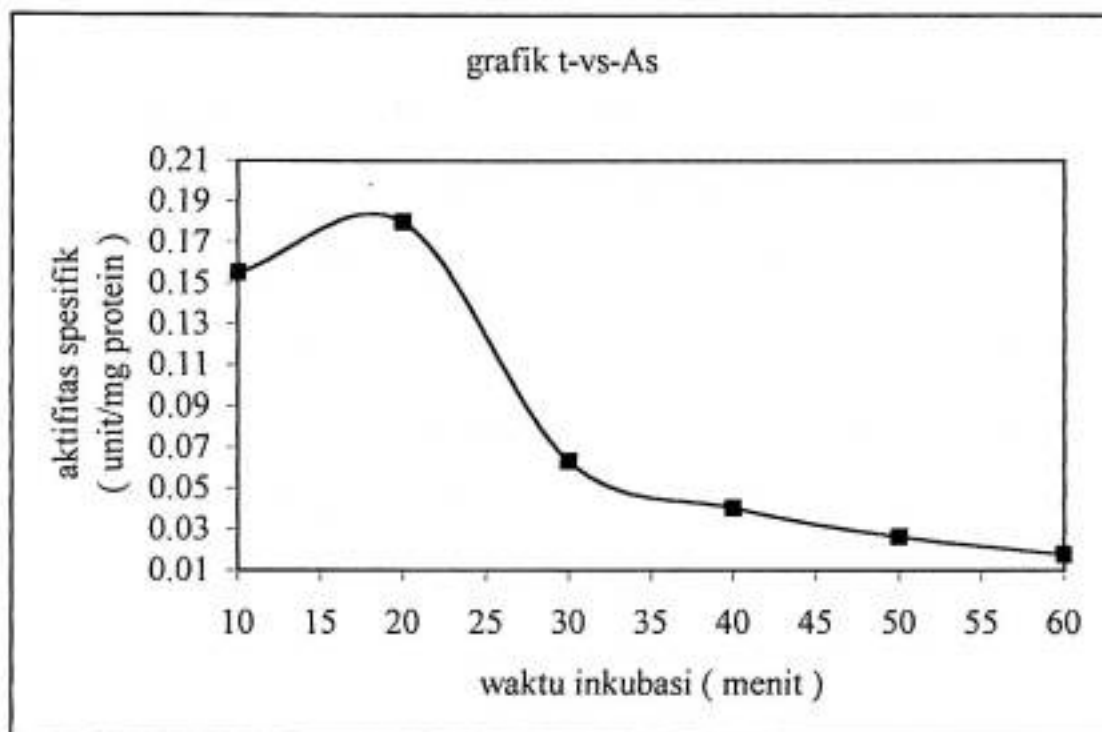
Gambar 4.3. Kurva Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas spesifik enzim

Kebutuhan enzim akan substrat sangat berbanding dengan jumlah atau konsentrasi dari enzim tersebut. Dari 1 ml larutan enzim menunjukkan konsentrasi substrat yang bereaksi optimum adalah 1,8 mg/ml. Konsentrasi substrat dibawah 1,8

Kebutuhan enzim akan substrat sangat berbanding dengan jumlah atau konsentrasi dari enzim tersebut. Dari 1 ml larutan enzim menunjukkan konsentrasi substrat yang bereaksi optimum adalah 1,8 mg/ml. Konsentrasi substrat dibawah 1,8 mg/ml menunjukkan aktivitas yang lebih rendah dikarenakan sedikitnya jumlah substrat yang bereaksi, walaupun dengan jumlah enzim yang berlebihan, dan sebaliknya pada konsentrasi substrat yang lebih dari 1,8 mg/ml ternyata aktivitasnya konstan. Hal ini disebabkan jumlah molekul enzim dan medium menjadi jenuh karena, walaupun jumlah substrat berlebih, tetapi substrat yang bereaksi dengan enzim akan sesuai dengan jumlah enzim yang tersedia untuk bereaksi ( perbandingan molekul ). Atau dapat dikatakan bahwa aktivitas enzim telah mencapai kondisi limit atau kondisi maksimum, yang berimplikasi pada penambahan substrat lebih lanjut tidak akan berpengaruh terhadap aktivitas enzim.

## **B. Waktu Inkubasi**

Perolehan kondisi optimum tersebut diatas selanjutnya digunakan lebih lanjut untuk pengamatan waktu inkubasi (lampiran 8). Hasil penelitian ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 4.4 Kurva pengaruh waktu inkubasi terhadap waktu inkubasi

Dari gambar diatas tampak bahwa waktu optimum dari reaksi enzimatik ini adalah pada saat 20 menit. Seperti pada reaksi molekuler umumnya bahwa waktu reaksi sangat menentukan pembentukan produk dari reaksi tersebut. Pada awal terjadinya reaksi sebelum mencapai titik ekuivalen maka produk yang dihasilkan tidak sempurna. Demikian pula dalam hal reaksi kompleks enzim substrat ini waktu sangat mempengaruhi pembentukan kompleks enzim substrat. Sebelum mencapai waktu optimum, aktifitas spesifik enzim lebih rendah dari aktifitas spesifik pada waktu inkubasi optimum yang menunjukkan rendahnya kompleks enzim substrat yang terbentuk.

Pada waktu inkubasi melewati waktu optimum aktifitas spesifik menurun drastis pada 10 menit berikutnya dan kemudian cenderung konstan pada menit 40 dan seterusnya. Hal ini menunjukkan bahwa setelah melewati waktu inkubasi enzim hampir habis bereaksi dengan substrat dan sebaliknya, sehingga tidak ada lagi glukosa yang dihasilkan yang mengindikasikan aktifitas dari enzim tersebut. Bahkan setelah mencapai 40 menit dan seterusnya enzim dan substrat telah habis bereaksi sehingga tidak ada lagi glukosa yang dihasilkan dan ini menyebabkan aktifitas spesifik enzim akan terlihat konstan.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

1. Pada fraksinasi dengan ammonium sulfat 70% didapatkan aktivitas maksimal dari kerja enzim pada kondisi pH 4,3 dan suhu 37°C.
2. Dari hasil penelitian ini didapatkan kondisi kerja optimum enzim selulase pada selulosa murni adalah pada : pH 4,8 ; suhu : 45°C dan konsentrasi substrat : 1,8 mg/ml.
3. Pada perlakuan dengan kondisi optimum tersebut, maka perolehan waktu inkubasi optimum adalah 20 menit.

#### **B. Saran**

Untuk mengetahui enzim lain selain enzim selulase yang terdapat pada rayap dapat dilakukan penelitian lebih lanjut apabila substrat selulosa murni diganti dengan substrat yang lain misalnya : kertas, jerami atau sekam.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ensiklopedi Nasional Indonesia, 1990, Jilid 8, Halaman 424-427, PT. Cipta Adi Pustaka, Jakarta.
2. Hardjo, S., N.S. Indrasti & Tajuddin Pantacut, 1989, Biokonversi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian, Pusat Antar Universitas Pangan & Gizi, IPB, Bogor.
3. Judoamidjojo, R. M., E. G. Sa'id, & Liesbetini H., 1989, Biokonversi, Institut Pertanian Bogor.
4. Kennedy, J. F. and G.O. Philips, 1985, Cellulose and Its derivatives, John wiley and Sons, New York.
5. Lehninger, A.L., 1990, Dasar-dasar Biokimia 1, Terjemahan oleh Thenawidjaja, Institut Pertanian Bogor, Penerbit Erlangga, Jakarta.
6. Mendels, M. and E.T. Reese. 1975. Introductin or cellulase in trichoderma vivide by Carbon Source and Metal, J. Bacteriology, halaman 75.
7. Prayitno & Trisnowati, 1992, Sebuah Kajian Tentang Kemampuan Hidrolisa Jerami Padi Oleh Enzim Sellulase. Pusat Penelitian & Penegembangan Bioteknologi, Bogor.
8. Page S. David, 1989, Prinsip-Prinsip Biokimia, edisi kedua, Penerbit Erlangga, Jakarta.
9. Sudarmadji, S., Bambang Haryono, dan Suhardji, 1984, Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian, Penerbit Liberty Yogyakarta bekerja

sama dengan Pusat Antar Universitas Pangan & Gizi, Universitas Gajah Mada

10. Sjamsuriputra, A.A., Ibrahim Sastramihardja, dan Ukan Sukandar S., 1983, Penelitian Kondisi-kondisi Lingkungan Untuk Optimasi Produksi Enzim Selulase dari penicillium Vermicultum Dalam Rangka Pemanfaatan Buangan Pertanian Berselulosa Menjadi Gula Sirup, Institut Teknologi Bandung.
11. Winarno, F.G. 1986, Enzim Pangan, Halaman 48-57, Penerbit PT. Gramedia, Jakarta.
12. Wirahadikusumah, M. dan Fida Madayanti, 1990, Teknologi Enzim, Pusat Antar Universitas Bioteknologi ITB, Bandung.



## DAFTAR LAMPIRAN

*Lampiran 1. Tabel Data kurva standar Glukosa yang diukur pada  $\lambda = 775 \text{ nm}$*

No.	kons. glukosa standar (X) $\mu\text{mol/ml}$	Absorban (Y)	$X^2$	$Y^2$	X.Y
1	0.02	0.3140	0.0004	0.0986	0.0063
2	0.04	0.4369	0.0016	0.1909	0.0175
3	0.06	0.6531	0.0036	0.4265	0.0392
4	0.08	0.9010	0.0064	0.8118	0.0721
5	0.1	1.1901	0.0100	1.4163	0.1190
6	0.12	1.3890	0.0144	1.9293	0.1667
7	0.14	1.6490	0.0196	2.7192	0.2309
8	0.16	1.8930	0.0256	3.5834	0.3029
9	0.18	2.2438	0.0324	5.0346	0.4039
10	0.2	2.5631	0.0400	6.5695	0.5126
$\Sigma$	1.1	13.2330	0.1540	22.7802	1.8710

*Lampiran 2. Hasil analisis regresi larutan glukosa standar :*

$$a = \frac{(\Sigma Y)(\Sigma X^2) - (\Sigma X)(\Sigma XY)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} = \frac{(13.2330)(0.1540) - (1.1)(1.8710)}{10(0.1540) - (1.1)^2}$$

$$= -0.0611$$

$$b = \frac{n(\Sigma XY) - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2} = \frac{10(1.8710) - (1.1)(13.2330)}{10(0.1540) - (1.1)^2}$$

$$= 12.5856$$

persamaan liniernya adalah  $Y = 12,5856.X - 0,0611$

Jika pada sampel besarnya absorban (Y) adalah 0.4658, maka konsentrasi glukosa dalam sampel adalah :

$$Y = 12,5856.X - 0,0611$$

$$0,4658 = (12,5856).X - 0,0611$$

$$X = 0,0419 \mu\text{mol/ml}$$



Lampiran 3. Tabel Data Kurva Standar protein yang diukur pada  $\lambda = 775 \text{ nm}$

No.	Kons. protein Standar (X) $\mu\text{mol/ml}$	Absorban (Y)	$X^2$	$Y^2$	X.Y
1	0.1	0.2630	0.0100	0.0692	0.0263
2	0.2	0.4680	0.0400	0.2190	0.0936
3	0.4	0.6350	0.1600	0.4032	0.2540
4	0.6	1.1280	0.3600	1.2724	0.6768
5	0.8	1.2430	0.6400	1.5450	0.9944
6	1	1.3980	1.0000	1.9544	1.3980
$\Sigma$	3.1	5.1350	2.2100	5.4633	3.4431

*Lampiran 4. Hasil analisis regresi larutan protein standar :*

$$a = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} = \frac{(5,1350)(2,2100) - (3,1)(3,4431)}{6(2,2100) - (3,1)^2}$$

$$= 0,1848$$

$$b = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} = \frac{6(3,4431) - (3,1)(5,1350)}{6(2,2100) - (3,1)^2}$$

$$= 1,2987$$

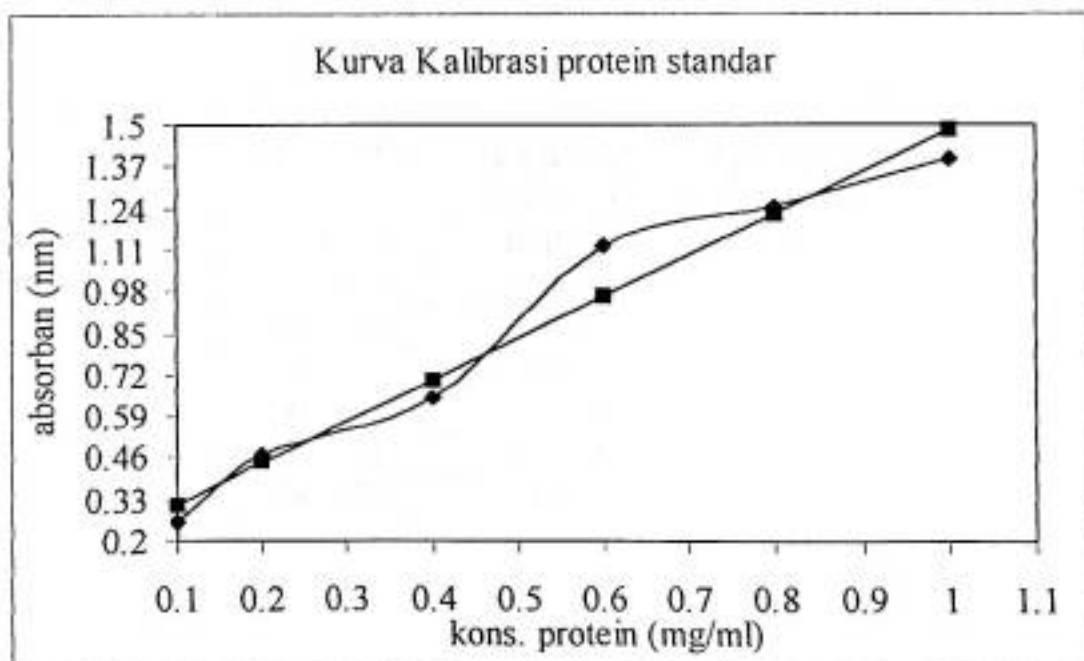
persamaan liniernya adalah  $Y = 1,2987.X + 0,1848$

Jika pada sampel besarnya absorban (Y) adalah 0.2780, maka konsentrasi protein dalam sampel adalah :

$$Y = 1,2987.X + 0,1848$$

$$0,2780 = (12,5856).X - 0,0611$$

$$X = 0,0717 \text{ mg/ml}$$



*Lampiran 5. Tabel Data Pengaruh pH terhadap aktifitas spesifik enzim selulase.*

*(konsentrasi substrat 0,1 mg/ml ; Volume enzim = 1 ml ; suhu 37°C*

*$\lambda = 745 \text{ nm}$ ).*

pH	Absorban	Kadar Glukosa $\mu\text{mol/ml}$	Aktifitas Spesifik Unit/mg prt
4,3	0,4858	0,0435	1.2134
4,5	0,5618	0,0495	1.3808
4,6	0,6312	0,0550	1.5342
4,8	0,6541	0,0568	1.5844
5,0	0,6132	0,0536	1.4951
5,2	0,6092	0,0532	1.4840
5,4	0,5834	0,0512	1.4282

*Lampiran 6. Tabel Data Pengaruh suhu terhadap aktifitas spesifik enzim selulase.*

*( konsentrasi substrat 0,1 mg/ml; pH = 4,8 )*

T°C	Absorban	Kadar Glukosa $\mu\text{mol/ml}$	Aktifitas Spesifik Unit/mg prt
30	0,4338	0.0393	1.0962
35	0,4872	0.0436	1.2162
40	0,5681	0.0500	1.3947
45	0,6372	0.0555	1.5481
50	0,6125	0.0535	1.4932
55	0,5831	0.0512	1.4282
60	0,5331	0.0472	1.3166

*Lampiran 7. Tabel Data Pengaruh Konsentrasi substrat terhadap aktifitas spesifik enzim selulase. ( pH = 4,8 ; t°C = 45 )*

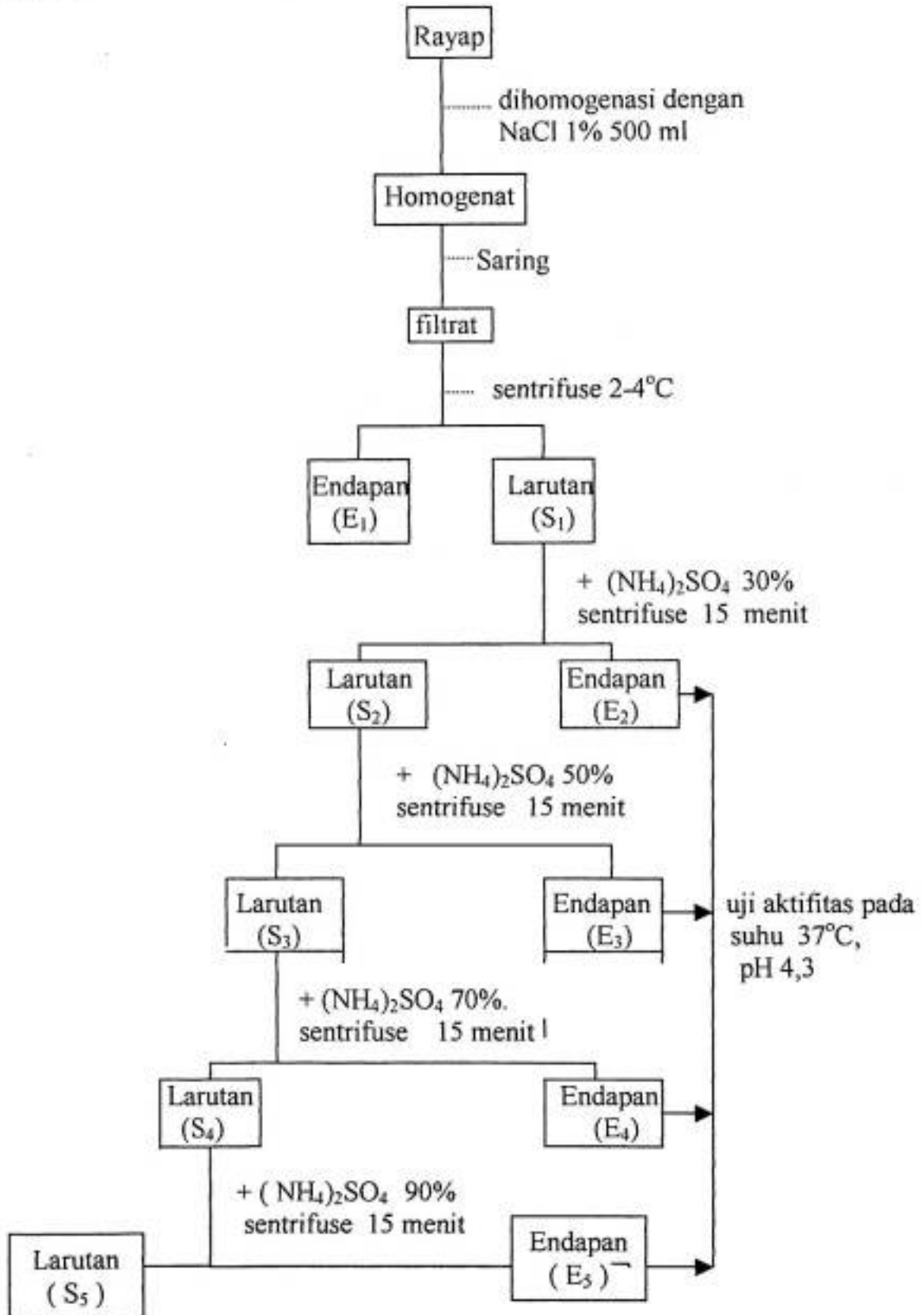
Konsentrasi Substrat ( mg/ ml )	Absorban	Kadar Glukosa $\mu\text{mol/ml}$	Aktifitas Spesifik Unit/mg prt
0,1	0,5349	0.04736	1.3211
0,6	0,5938	0.05204	1.4516
1,2	0,6230	0.05436	1.5163
1,8	0,6423	0.05589	1.5590
2,4	0,6418	0.05585	1.5579
3	0,6415	0.05583	1.5573

*Lampiran 8. Tabel Data Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap aktifitas spesifik enzim selulase. ( pH = 4,8 ; t°C = 45 Kons = 1,8 mg/ml ).*

Waktu ( menit )	Absorban	Kadar Glukosa $\mu\text{mol/ml}$	Aktifitas Spesifik Unit/mg prt
10	1.3384	0.1112	0.1551
20	3.1901	0.2582	0.1801
30	1.6490	0.1359	0.0632
40	1.3890	0.1152	0.0402
50	1.1218	0.0940	0.0262
60	0.8930	0.0758	0.0176

## Skema Metode Penelitian

### 1. Isolasi dan Pemurnian Enzim Selulase

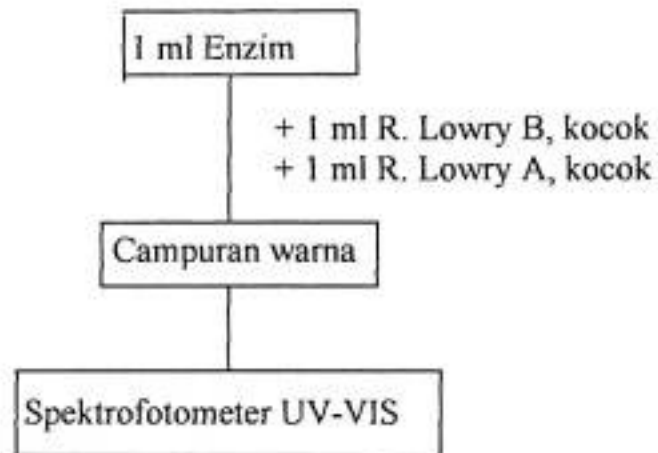




## 2. Penentuan Aktivitas Enzim Selulase



### 3. Penentuan Kadar Protein Enzim



#### *Lampiran 10. Penentuan Aktivitas Spesifik dari Sampel*

Contoh perhitungan keaktifan enzim :

$$\begin{aligned} A_s &= \frac{[\text{Glukosa bebas}]}{[\text{Enzim}] \cdot \text{waktu inkubasi}} \\ &= \frac{(0,0419)}{(0,0717) \times (0,5)} \\ &= 0,4156 \text{ unit mg protein} \end{aligned}$$

Maka Aktivitas spesifik enzim adalah 0,4156 unit mg protein