

Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap

TRESNAWATI PURWADARIA¹, PESTA A. MARBUN², ARNOLD P. SINURAT¹ dan PIUS P. KETAREN¹

¹Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

²Departemen Kimia, FMIPA, IPB, Jl Raya Pajajaran Bogor

(Diterima dewan redaksi 4 Nopember 2003)

ABSTRACT

PURWADARIA, T., P. A. MARBUN, A. P. SINURAT and P. P. KETAREN. 2003. The comparison of cellulase activities from bacteria and molds isolated from termites. *JITV* 8(4): 213-219.

Screening for choosing the best bacterium and mold producing cellulase was carried out from eight xylanolytic bacteria and three cellulolytic molds isolated from termites. Each bacterium and mold was inoculated on the agar medium containing minerals and carboxymethylcellulose. The diameters of colony and clearing zones were measured after stained with Congo red. Four bacteria: *Bacillus larvae* XB 1-1, *B. larvae* XU 2-2, *Bacillus* PU 2-2, and *B. pumilus* PU 4-2 showing higher clearing zone ratio were further submerged cultured in PM medium containing 2% wheat pollard in the shaker incubator at room temperature, 150 rpm for 36 and 48 hours. The three molds: *Aspergillus flavus* S 13, MS 21, and *Penicillium nalgiovense* S 11 were also cultured in the same way as bacteria, but in Mandels medium containing 2% wheat pollard for three and five days incubation time. *B. pumilus* PU 4-2 and *A. flavus* S 13 produced the highest CMCase in each group respectively. All enzyme assays of *A. flavus* S 13 had higher activities than that of *B. pumilus* PU 4-2. The specific activity of CMCase, avicelase, FPase, and cellobiohidrolase were the highest on the enzyme of *A. flavus* S 13 produced from 3 days incubation time, while its β -glucosidase was the best for five days incubation. In term of activities, *A. flavus* S 13 had the highest ability to produce cellulase. The ability of *B. pumilus* PU 4-2 to produce cellulase and xylanase at the same time was an additional value.

Key words: *Bacillus pumilus*, *Aspergillus flavus*, cellulases

ABSTRAK

PURWADARIA, T., P. A. MARBUN, A. P. SINURAT dan P. P. KETAREN. 2003. Perbandingan aktivitas enzim selulase dari bakteri dan kapang hasil isolasi dari rayap. *JITV* 8(4): 213-219.

Penapisan untuk mendapatkan bakteri atau kapang selulolitik terbaik, dilakukan di antara 8 bakteri xilanolitik dan 3 kapang selulolitik yang diisolasi dari rayap. Tiap bakteri dan kapang ditusukkan pada medium agar-agar karboksimetilselulosa. Diameter koloni dan daerah bening diukur setelah diwarnai dengan *Congo red*. Empat bakteri: *Bacillus larvae* XB 1-1, *B. larvae* XU 2-2, *Bacillus* PU 2-2, dan *B. pumilus* PU 4-2 yang menunjukkan nisbah daerah bening tertinggi kemudian dipilih dan dilanjutkan dengan penapisan kuantitatif pada kultur terendam pada medium PM yang mengandung 2% polard pada inkubator bergoyang 150 rpm, suhu kamar dan waktu inkubasi 36 dan 48 jam. Ketiga kapang: *Aspergillus flavus* S 13, MS 21, dan *Penicillium nalgiovense* S 11 juga ditumbuhkan pada kultur terendam seperti bakteri. Medium yang digunakan medium Mandels yang mengandung polard 2%, pada masa inkubasi 3 dan 5 hari. *B. pumilus* PU 4-2 dan *A. flavus* S 13 menghasilkan aktivitas CMCase tertinggi pada kelompoknya. Semua data aktivitas enzim *A. flavus* S 13 menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi daripada enzim *B. pumilus* PU 4-2. Aktivitas spesifik CMCase, aviselase, F Pase, dan selobiohidrolase tertinggi diperoleh dari *A. flavus* S 13 pada inkubasi 3 hari, sedangkan β -glukosidase pada masa inkubasi 5 hari. Berdasarkan nilai aktivitas, kapang *A. flavus* S 13 merupakan yang terbaik untuk memproduksi selulase. Kemampuan *B. pumilus* PU 4-2 untuk memproduksi selulase bersamaan dengan xilanase merupakan suatu nilai tambah.

Kata kunci: *Bacillus pumilus*, *Aspergillus flavus*, selulase

PENDAHULUAN

Deteksi pada ekstrak rayap *Coptotermes formosanus* (ITAKURA *et al.*, 1997; ASADA *et al.*, 1999; NAKASHIMA dan AZUMA, 2000) dan *Glyptotermes montanus* (PURWADARIA *et al.*, 2003b) menunjukkan aktivitas kompleks enzim selulase yaitu endo- β -D-1,4-glukanase (CMCase, pengurai selulosa amorf), aviselase (pengurai selulosa mikrokristal), dan β -D-1,4-glukosidase

(melepaskan glukosa dari ujung akhir selooligosakarida terutama selobiosa). Ekstrak enzim *G. montanus* dapat dipergunakan untuk mencerna bahan pakan kaya serat seperti dedak, polard, lumpur sawit dan bungkil inti sawit (PURWADARIA *et al.*, 2003b). Walaupun demikian untuk penggunaan di lapang produksi enzim lebih mudah dan cepat dilakukan dengan memanfaatkan isolat mikroba rayap yang berperan dalam penguraian

serat khususnya selulosa daripada memproduksi rayap untuk diekstraksi.

Jenis mikroba pada rayap yang berperan dalam penguraian selulosa dapat berupa bakteri atau protozoa yang umumnya terdapat pada saluran pencernaan rayap (BRUNE, 1998) atau kapang yang terdapat pada sarangnya (SANDS, 1970). SHIMIZU *et al.* (1998) dan ARDININGSIH (2002) telah mengisolasi bakteri xilanolitik *Bacillus* sp. dan *B. pumilus* PU 4-2 masing-masing dari perut *C. formosanus* dan usus rayap *Termitidae*. Kedua bakteri ini dilaporkan dapat memproduksi dengan baik xilanase. *B. pumilus* PU 4-2 merupakan salah satu bakteri terbaik dari 30 yang berhasil diisolasi di Balai Penelitian Ternak (ARDININGSIH, 2002). Kelompok mikroba yang menghasilkan selulase umumnya dapat memproduksi enzim xilanase, seperti yang ditemukan pada *Cellulomonas* (PEIRIS *et al.*, 1982). Oleh karena itu kemungkinan produksi selulase dari enzim *B. pumilus* PU 4-2 dan isolat bakteri xilanolitik yang lain harus dievaluasi.

NURBAYTI (2002) mengisolasi 16 kapang dari sarang, badan dan saluran pencernaan *G. montanus* dan *Termitidae*. *Penicillium nalgiovense* S11 merupakan kapang yang dipilih untuk memproduksi selulase (NURBAYTI, 2002). Penapisan kapang selulolitik dengan uji daerah bening menunjukkan terdapat kapang lain seperti S 13 dan MS 21 yang mempunyai diameter daerah bening yang cukup tinggi, walaupun indeks selulasenya rendah karena diameter koloninya juga tinggi. Oleh karena itu perlu dievaluasi kemampuan ketiga kapang dalam memproduksi selulase pada kultur terendam.

Ketiga komponen kompleks enzim selulase berperan dalam penguraian selulosa yaitu endo- β -D-1,4-glukanase (CMCase), ekso- β -D-1,4-glukanase (selobiohidrolase) dan β -D-1,4-glukosidase. Perbandingan komponen enzim kompleks selulase tergantung pada jenis mikroba. Enzim ekstraselular bakteri *Cellulomonas* CSI-17 lebih berperan dalam penguraian selulosa amorf (PURWADARIA, 1995). β -D-1,4-glukosidase umumnya bersifat ekstraselular pada kapang tidak pada bakteri (RAMASAMY dan VERACHTERT, 1980). Selain aviselase, aktivitas penguraian selulosa mikrokristal pada enzim ekstraselular fungi juga umum dilakukan dengan penentuan *filter paper activity* (MANDELS *et al.*, 1976). Seluruh komponen enzim berperan sinergistik dalam penguraian selulosa terutama dari serat bahan tanaman termasuk limbah pertanian (PURWADARIA *et al.*, 2003a)

Pada penelitian ini ditentukan isolat bakteri dan kapang yang dapat memproduksi aktivitas selulase tertinggi. Kemudian aktivitas komponen selulase ekstraselular bakteri tertinggi akan dibandingkan dengan kapang tertinggi.

MATERI DAN METODE

Sumber bakteri dan kapang

Isolat bakteri yang digunakan merupakan 8 bakteri yang menunjukkan aktivitas xilanase yaitu isolat XB 1-1, XU 1-1, XU 1-2, BP 5-1, XU 2-2, PU 1-2, PU 2-2, dan PU 4-2. Isolat kapang yang digunakan *Aspergillus flavus* S 13 (identifikasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Indonesia setelah percobaan ini selesai) dan MS 21, sedangkan *P. nalgiovense* S 11 digunakan sebagai pembanding. Bakteri dipelihara pada medium agar-agar kaldu (NA) yang ditambahkan dengan 0,5% selobiosa, sedangkan kapang pada medium agar-agar kentang dekstrosa (PDA).

Penapisan bakteri dan kapang selulolitik

Penapisan dilakukan pada bakteri dalam medium 2% agar-agar dengan campuran mineral PM dan 0,5% CMC (karboksimetilselulosa), sedangkan pada penapisan kapang digunakan campuran mineral Mandels dan 0,5% CMC (ARDININGSIH, 2002; NURBAYTI, 2002). Kedua media dipersiapkan pada cawan petri dengan 2 lapisan, lapisan bawah hanya mengandung campuran mineral dan agar-agar, sedangkan pada lapisan atas selain campuran mineral ditambahkan CMC. Mikroba ditusukkan di atas media dan diinkubasi selama 2 hari. Pengukuran diameter daerah bening dan koloni dilakukan setelah diwarnai dengan *Congo red* (TEATHER dan WOOD, 1982). Kemudian nisbah daerah bening ditentukan dengan membagi diameter daerah bening dengan diameter koloni.

Produksi enzim

Enzim diproduksi secara kultur terendam menggunakan campuran mineral PM untuk bakteri dan Mandels untuk kapang pada labu Erlenmeyer berukuran 300 ml. Pada kedua media ditambahkan 0,05% ekstrak khamir, 0,075% pepton, dan 2% polard sebagai sumber karbon dan induser. Setiap labu berisi 50 ml media. Inokulum diperoleh dari kultur agar miring yang ditambahkan dengan 5 ml NaCl-fisiologis dan 2 ml suspensi diinokulasikan ke tiap labu. Inkubasi dilakukan pada inkubator bergoyang kecepatan 150 rpm pada suhu 30°C selama 36 dan 48 jam untuk bakteri, sedangkan waktu inkubasi kapang 3 dan 5 hari. Pada waktu pemanenan kultur ditambahkan 0,2% Na-asida.

Enzim dipisahkan dari sel dengan sentrifus pada 12.000 rpm, suhu 4°C selama 20 menit; untuk memperoleh supernatan bebas sel, sentrifugasi dilakukan 2 kali. Ekstrak enzim disimpan dalam freezer (-10°C) untuk dianalisis.

Penentuan aktivitas enzim

Seluruh penentuan aktivitas enzim bakteri menggunakan buffer McIlvaine pH 7,2 dan suhu 42°C (pH dan suhu optimum untuk xilanase *B. pumilus* PU 4-2, ARDININGSIH, 2002). Sementara itu, penentuan aktivitas enzim kapang menggunakan buffer asetat pH 5,2 dan 50°C (pH dan suhu optimum CMCCase *P. nalgiovensis* S 11, NURBAYTI, 2002).

Aktivitas CMC-ase dan aviselase ditentukan menurut metode HAGGETT *et al.* (1979) dengan modifikasi. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan 1 µmol glukosa per menit dalam kondisi esei, CMCCase terhadap substrat CMC, sedangkan aviselase terhadap substrat Sigmacell 20. Kadar glukosa ditentukan dengan DNS (dinitrosalisilat) dengan standard glukosa secara spektrofotometri pada λ optimum 540 nm.

Aktivitas filter paper-ase (F Pase) ditentukan menurut metode MANDELS *et al.* (1976) menggunakan kertas saring Whatman No.1 berukuran 1 cm x 6 cm. Waktu inkubasi reaksi 60 menit. Penentuan gula reduksi menggunakan DNS. Satu unit aktivitas enzim disesuaikan dengan acuan pada pustaka (MANDELS *et al.*, 1976).

Aktivitas β-glukosidase ditentukan dengan mengukur pelepasan *p*-nitrofenol dari par-nitrofenolglukosida (*p*-NPG) (CHOI *et al.*, 1978). Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan 1 µmol *p*-nitrofenol per menit. Penentuan kadar *p*-nitrofenol dilakukan dengan spektrofotometer pada λ 390 nm.

Aktivitas selobiohidrolase ditentukan dengan mengukur pelepasan *p*-nitrofenol dari par-nitrofenol selobiosida (*p*-NPC). Prosedur penentuan aktivitasnya sama seperti aktivitas β-glukosidase. Untuk menghambat pengaruh β-glukosidase, ditambahkan D-glukano-1,5-δ-lakton.

Analisis kadar protein

Penentuan kadar protein pada enzim selulase bakteri dan kapang ditentukan berdasarkan metode BRADFORD (1976). Sebanyak 0,2 mL filtrat enzim ditambahkan 5 mL pereaksi Bradford dan divorteks. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang, λ = 595 nm. Kadar protein ditentukan dari kurva standar larutan *bovine serum albumin* (BSA).

Analisis sidik ragam

Pola sidik ragam rancangan faktorial 8 x 2 dilakukan untuk menentukan jenis bakteri (8 jenis) dan waktu inkubasi (36 dan 48 jam) yang terbaik dalam memproduksi CMCCase. Sementara itu, untuk

menentukan jenis kapang selulolitik terbaik dilakukan rancangan faktorial 3 x 2 yaitu 3 jenis kapang dan waktu inkubasi 3 dan 5 hari. Selanjutnya sidik ragam rancangan acak lengkap digunakan untuk membandingkan data aktivitas spesifik masing masing komponen enzim pada bakteri dan kapang terbaik.

HASIL DAN DISKUSI

Isolat bakteri xilanolitik dari rayap dapat memproduksi selulase karena membentuk daerah bening pada medium CMC (selulosa amorfus) (Tabel 1). Dari penapisan 8 isolat hanya satu *Pediococcus* PU 1-2 yang tidak menunjukkan terbentuknya daerah bening, walaupun bakteri tersebut dapat tumbuh pada medium yang hanya mengandung sumber karbohidrat selulosa. *Pediococcus* PU 1-2 mungkin dapat menghasilkan selulase, hanya aktivitasnya kecil sekali sehingga daerah bening yang terbentuk mungkin terlihat tidak jelas dan hanya terdapat di bawah koloni.

Umumnya bakteri yang diketahui dapat menghasilkan xilanase (ARDININGSIH, 2002) membentuk daerah bening pada CMC atau memproduksi selulase. Tiga bakteri yang mempunyai nisbah daerah bening tertinggi yaitu *B. larvae* XU 2-2, *Bacillus* PU 2-2, dan *B. pumilus* PU 4-2 juga membentuk nisbah daerah bening yang tinggi pada medium xilan (ARDININGSIH, 2002). *B. larvae* XB 1-1 dan BP 5-1 menunjukkan daerah bening yang luas, tetapi nisbah daerah beningnya rendah. Oleh karena itu, untuk penapisan kuantitatif atau produksi selulase dalam kultur terendam, dipilih *B. larvae* XU 2-2, *Bacillus* PU 2-2, *B. pumilus* PU 4-2 dengan nisbah daerah bening tinggi dan *B. larvae* XB 1-1 dipilih mewakili yang berdiameter koloni tinggi.

Hasil pengulangan penentuan nisbah daerah bening di antara *A. flavus* S 13, M 21, dan *P. nalgiovensis* S 11 sesuai dengan yang dilaporkan NURBAYTI (2002) (Tabel 1). S 11 mempunyai nisbah daerah bening tertinggi, tetapi S 13 dan MS 21 mempunyai diameter daerah bening lebih tinggi. Oleh karena itu ketiga kapang ini dilanjutkan dengan penentuan produksi enzim secara kultur terendam.

Penapisan secara cepat mikroba selulolitik dapat dilakukan dengan pengukuran daerah bening (TEATHER dan WOOD, 1982). Walaupun demikian penentuan tersebut hanya merupakan deteksi semi kuantitatif. Penapisan kuantitatif merupakan suatu konfirmasi dan hasilnya belum tentu tepat sama dengan penapisan daerah bening Hasil analisis sidik ragam pada penentuan kuantitatif menunjukkan tidak adanya interaksi antara jenis bakteri atau kapang dan waktu inkubasi ($P > 0,05$). Perbedaan nyata ($P < 0,05$) terdapat pada perlakuan jenis mikroba baik pada data aktivitas enzim, kadar protein maupun aktivitas spesifik (Tabel 2

dan 3). Pada kelompok bakteri *B. pumilus* PU4-2 memproduksi CMCCase tertinggi diikuti dengan *Bacillus* PU 2-2, *B. larvae* XU 2-2, dan *B. larvae* XB 1-1. Urutan aktivitas sesuai dengan urutan nisbah daerah bening (Tabel 1). *B. larvae* XB 1-1 yang pada medium agar dapat memproduksi koloni besar tidak dapat mengekspresikan protein tinggi. Kondisi lingkungan

mikro yang berbeda antara medium padat dengan kultur terendam mempengaruhi produksi enzim, terdapat kemungkinan *B. larvae* XB 1-1 memerlukan kadar oksigen yang tinggi untuk pertumbuhannya. Data kadar protein pada keempat enzim bakteri sejajar dengan aktivitas enzim sehingga urutan aktivitas spesifik terhadap protein sama dengan aktivitas/volume.

Tabel 1. Diameter koloni dan daerah bening, serta nisbah daerah bening isolat bakteri dan kapang selulolitik pada medium karboksimetil selulosa

Jenis isolat	Diameter koloni (mm)*	Diameter daerah bening (mm)*	Nisbah daerah bening
Bakteri:			
<i>B. larvae</i> XB 1-1	2,5	15,3	6,1
<i>B. coagulans</i> XU 1-1	0,9	2,0	2,3
<i>B. larvae</i> XU 1-2	0,8	1,8	2,3
BP 5-1	4,0	11,7	2,9
<i>B. larvae</i> XU 2-2	1,1	9,0	8,0
<i>Pediococcus</i> sp. PU 1-2	1,0	----	----
<i>Bacillus</i> PU 2-2	1,3	9,9	7,9
<i>B. pumilus</i> PU 4-2	1,1	9,3	8,3
Kapang:			
<i>A. flavus</i> S 13	18,0	24,7	1,4
MS 21	14,3	25,3	1,8
<i>P. nalgiovense</i> S 11	7,0	16,3	2,2

* Diameter koloni bakteri dan kapang masing masing diukur setelah inkubasi dua dan lima hari terutama bila penapisan dilakukan pada genus yang berbeda (PURWADARIA et al., 1994)

Tabel 2. Produksi selulase (CMCase) menggunakan *B. larvae* XB 1-1, *B. larvae* XU 2-2, *Bacillus* PU 2-2 dan *B. pumilus* PU 4-2

Perlakuan	Kadar protein (µg/ml)	Aktivitas CMCase (U/ml)	Aktivitas spesifik (U/mg protein)
Waktu inkubasi:			
36 jam	170	0,10	0,49
48 jam	162	0,10	0,46
Jenis bakteri:			
<i>B. larvae</i> XB 1-1	67 ^c	0,02 ^c	0,11 ^c
<i>B. larvae</i> XU 2-2	173 ^b	0,03 ^c	0,18 ^c
<i>Bacillus</i> PU 2-2	177 ^b	0,12 ^b	0,66 ^b
<i>B. pumilus</i> PU 4-2	245 ^a	0,24 ^a	0,97 ^a

Huruf superskrip berbeda pada lajur yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Tabel 3. Produksi selulase (CMCase) menggunakan kapang *A. flavus* S 13, MS 21 dan *P. nalgiovensis* S 11

Perlakuan	Kadar protein ($\mu\text{g/ml}$)	Aktivitas CMCase (U/ml)	Aktivitas spesifik (U/mg protein)
Waktu inkubasi:			
3 hari	179	0,36	2,0
5 hari	194	0,29	1,6
Jenis kapang:			
<i>A. flavus</i> S 13	362	0,24 ^a	1,7
MS 21	367	0,18 ^b	1,6
<i>P. nalgiovensis</i> S 11	208	0,13 ^c	2,1

Huruf superskrip berbeda pada lajur yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Tabel 4. Perbandingan aktivitas spesifik komponen selulase menggunakan *B. pumilus* PU 4-2 dan *A. flavus* S 13

Komponen selulase	<i>B. pumilus</i> PU 4-2		<i>A. flavus</i> S 13	
	36 jam	48 jam	3 hari	5 hari
	U/mg protein			
CMCase	0,93 ^b	1,00 ^b	2,11 ^a	2,10 ^a
β -glukosidase	0,00 ^c	0,00 ^c	0,40 ^b	0,73 ^a
Aviselase	0,03 ^c	0,02 ^c	0,12 ^a	0,07 ^b
F Pase	0,10 ^b	0,13 ^b	0,32 ^a	0,12 ^b
Selobiohidrolase	TD	0,01 ^b	0,05 ^a	TD

TD tidak dilakukan; huruf superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Aktivitas CMCase (selulase) tertinggi didapatkan pada *B. pumilus* PU 4-2 merupakan suatu keuntungan, karena bakteri ini merupakan isolat terbaik dalam memproduksi xilanase (ARDININGSIH, 2002). Aktivitas xilanase *B. pumilus* PU 4-2 pada medium polard 3% umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas bakteri xilanolitik mesofilik yang dilaporkan pada pustaka lain. Kedua enzim yang diproduksi bersamaan akan bermanfaat dalam penggunaannya untuk menghidrolisis serat bahan alami secara sinergistik.

Produksi CMCase pada bakteri tidak nyata dipengaruhi waktu inkubasi 36 dan 48 jam, tetapi terdapat kecenderungan terjadi penurunan aktivitas pada waktu inkubasi 48 jam atau waktu optimum dicapai pada waktu inkubasi 36 jam. Waktu inkubasi optimum yang pendek dalam proses fermentasi dibandingkan kelompok fungi merupakan hal yang sangat umum dan dapat dipakai sebagai pertimbangan dalam memilih mikroba.

Pendapat tentang daerah bening yang luas tanpa diikuti nilai nisbah daerah bening yang tinggi dapat memproduksi enzim lebih tinggi, terjadi pada kultur *A. flavus* S 13 dan MS 21. Identifikasi S 13 dilakukan setelah diketahui kapang ini dapat memproduksi selulase yang tinggi. Walaupun demikian kultur ini tidak dapat dipilih untuk produksi selulase, karena species ini sangat dikenal sebagai kapang penghasil mikotoksin, khususnya aflatoksin.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa hanya jenis kapang yang menunjukkan perbedaan nyata, sedangkan waktu inkubasi dan kadar protein antara jenis kapang tidak berbeda nyata, walaupun selisih dengan cukup tinggi (Tabel 3). Hal ini terkait dengan variasi yang sangat besar terjadi di antara ulangan. Walaupun demikian, untuk produksi CMCase, waktu inkubasi 3 hari lebih baik daripada 5 hari. Kadar protein pada kapang yang cukup tinggi pada *A. flavus* S 13 dan MS 21 sesuai dengan hasil pertumbuhan di daerah bening yang membentuk koloni yang luas (Tabel 1), sehingga terdapat kemungkinan, selain kompleks enzim selulase, ke dua kapang ini memproduksi enzim lain. Kadar protein yang tinggi ini diikuti dengan aktivitas spesifik yang rendah.

Dalam mempertimbangkan mikroba mana yang terpilih untuk memproduksi selulase, maka dibandingkan enzim mikroba yang beraktivitas tertinggi dari kedua kelompok. Deteksi dilakukan pada setiap komponen enzim selulase (Tabel 4). Aktivitas β -glukosidase yang paling tinggi didapatkan dari *A. flavus* S 13 dengan waktu inkubasi 5 hari, dan aktivitas CMCase, aviselase, F Pase, dan selobiohidrolase didapatkan pada *A. flavus* dengan waktu inkubasi 3 hari. Seluruh komponen enzim yang menguraikan selulosa amorf (CMCase), selulosa kristal (aviselase dan FPase), dan eksoglukanase (selobiohidrolase) lebih tinggi pada

enzim kapang dibandingkan enzim bakteri, terutama β -glukosidase.

RAMASAMY dan VERACHTERT (1980) mengemukakan hal yang sama bahwa β -glukosidase *Pseudomonas* sp. dihasilkan pada periplasma, tidak diekresikan. Bila enzim yang akan diekstrak hanya berasal dari fraksi ekstraselular, ketidakberadaan enzim ini merugikan karena enzim ini sangat berperan dalam aktivitas sinergistik sakarifikasi selulosa bahan alami (PURWADARIA *et al.*, 2003a). Enzim intraselular (pada periplasma) hanya dapat diekstraksi dengan pemecahan sel. Umumnya aktivitas CMCase enzim bakteri cukup tinggi, menyamai enzim kapang (PURWADARIA, 1995), tetapi pada data perbandingan ini CMCase *B. pumilus* lebih rendah. Hal ini mungkin terkait pada cara isolasi bakteri yang ditujukan untuk mendapatkan bakteri xilanolitik menggunakan substrat xilan (ARDININGSIH, 2002).

Umumnya enzim selulase yang diperdagangkan berasal dari kapang seperti *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus* spp. Pada penelitian ini didapatkan aktivitas enzim *A. flavus* S 13 lebih tinggi daripada *B. pumilus* PU 4-2. Seperti sudah dijelaskan sebelumnya kemungkinan terbentuknya mikotoksin bila menggunakan kapang ini. Oleh karena itu, biakan kapang ini tidak dapat dipilih. Hasil penelitian ini tetap positif dan dapat dipakai sebagai bahan pertimbangan untuk memproduksi selulase. Selain waktu inkubasi dan aktivitas enzim penilaian ekonomis biaya produksi juga akan terkait dengan proses hilir: (i) bila enzim tidak bersifat ekstraselular biaya pemecahan sel harus dipertimbangkan, dan (ii) sel bakteri yang lebih kecil dan bentuk koloni kapang yang berupa miselium akan mempunyai proses pemisahan yang berbeda, sel yang lebih kecil membutuhkan kecepatan putaran sentrifus yang lebih tinggi. Pada penapisan yang dilakukan di Balai Penelitian Ternak, *P. nalgiovensis* S 11 yang terpilih untuk memproduksi selulase, karena kelengkapan komponen enzim ekstraselularnya, ketinggian aktivitasnya dan telah dilakukan optimasi melalui perlakuan substrat dan peningkatan strain dengan hasil yang baik (data akan dipublikasi). *B. pumilus* PU 4-2 dipergunakan untuk memproduksi xilanase dengan nilai tambah aktivitas selulase.

KESIMPULAN

B. pumilus PU 4-2 yang merupakan bakteri penghasil xilanase juga menghasilkan CMCase (selulase) tertinggi dibandingkan isolat bakteri lain. Aktivitas selulase: CMCase, β -glukosidase, aviselase, F Pase, dan selobiohidrolase *B. pumilus* PU 4-2 pada masa inkubasi optimum 36 jam lebih rendah daripada *A. flavus* S 13 dengan masa inkubasi 3 hari. Bila *A. flavus* S 13 tidak bersifat toksin, maka dapat dipergunakan untuk memproduksi selulase, karena

aktivitas CMCase-nya lebih tinggi daripada *P. nalgiovensis* S 11 yang produksinya sudah lebih dahulu dikembangkan.

DAFTAR PUSTAKA

- ASADA, S., T. FUKASAWA, T. INOUE, and J. AZUMA. 1999. Beta-glucosidase from *Coptotermes formosanus* (Shiraki). In: Genetics, Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation. K. OHMIYA, K. HAYASHI, K. SAKKA, Y. KOBAYASHI, S. KARITA and T. KIMURA (Eds.). Uni Publishers Co., Ltd. Tokyo, Japan. pp. 182-191.
- ARDININGSIH, P. 2002. Produksi dan karakterisasi xilanase isolat dari rayap. Thesis. Program Pascasarjana UI, Depok, Jawa Barat.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- BRUNE, A. 1998. Termite guts: the world's smallest bioreactors. *Trends Biotechnol.* 16: 16-21.
- CHOI, W.Y., K.D. HAGGETT and N.W. DUNN. 1978. Isolation of a cotton wool degrading strain of *Cellulomonas*: Mutants with altered ability to degrade cotton wool. *Aust. J. Biol. Sci.* 31: 553-564.
- HAGGETT, K.D., P.P. GRAY and N. W. DUNN. 1979. Crystalline cellulose degradation by a strain of *Cellulomonas* and its mutants derivatives. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18: 100-102.
- ITAKURA, S., H. TANAKA and A. INOKI. 1997. Distribution of cellulases, glucose and related substances in the body of *Coptotermes formosanus*. *Mat. Organismen.* 31: 17-29.
- MANDELS, M., R. ANDREOTTI and C. ROCHE. 1976. Measurement of saccharifying cellulose. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 6: 21-33.
- NAKASHIMA, K and J. AZUMA. 2000. Distribution and properties of endo- β -1,4-glucanase from a lower termite, *Coptotermes formosanus* (Shiraki). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 1500-1506.
- NURBAYTI, S. 2002. Produksi dan karakterisasi selulase *Penicillium nalgiovensis* Laxa dari sarang rayap. Thesis, Pascasarjana FMIPA UI, Depok, Jawa Barat.
- PEIRIS, S.P., P.A.D. RICKARD and N. W. DUNN. 1982. Comparison of the xylanolytic and cellulolytic activities of *Cellulomonas*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 14: 169-173.
- PURWADARIA, T. 1995. Synergism in the hydrolysis of cellulose by Endoglucanase I and II (Endo I and II) and cellobiohydrolase (CBH I) purified from *Cellulomonas* CS1-17. *Annales Bogorieneses.* 3: 12-24.
- PURWADARIA, T., N. NIRWANA, P. P. KETAREN, D. I. PRADONO and Y. WIDYASTUTI. 2003a. Synergistic activity of enzymes produced by *Eupenicillium*

- javanicum* and *Aspergillus niger* NRRL 337 on palm oil factory wastes. *Biotropia* 20: 1-10.
- PURWADARIA, T., P. P. KETAREN, A. P. SINURAT and I. SUTIKNO. 2003b. Identification of fiber hydrolytic enzymes in the extract of termites (*Glyptotermes montanus*) for poultry feed application. *IJAS*. 4: 40-47.
- PURWADARIA, T., T. HARYATI, dan J. DARMA. 1994. Isolasi dan seleksi kapang mesofilik penghasil mananase. *Ilmu dan Peternakan* 7(2): 26-29.
- RAMASAMY, K. and H. VERACHTERT. 1980. Localisation of cellulase components in *Pseudomonas* sp. isolated from activated sludge. *J. Gen. Microbiol.* 117: 181-191.
- SANDS, W.A. 1970. The association of termites and fungi. *In: Biology of termites*. K. KRISHNA and F.W. WEESNE (Eds.). Academic Press, New York, USA.
- SHIMIZU, H., M. OKHUMA, K. MORIYA, T. AKIBA and T. KUDO. 1998. Purification and characterization of xylanase produced by *Bacillus* sp. from termite guts. *In: Genetic, Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation*. K. OHMIYA, K. HAYASHI, K. SAKKA, Y. KOBAYASHI, S. KARITA and T. KIMURA (Eds.). Uni Publisher Co. Ltd. Tokyo, Japan. pp. 563-570.
- TEATHER, R. M. and P.J. WOOD. 1982. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 777-780.