

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI SELULOLITIK DARI AIR MUARA DAERAH ALIRAN SUNGAI SIAK WILAYAH KABUPATEN BENGKALIS

Sarlly Deviani, Yuli Haryani, Christine Jose

**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Bidang Biokimia Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*sarlly.deviani@gmail.com***

ABSTRACT

Cellulolytic bacteria are bacteria that can degrade cellulose into smaller polysaccharides called cellodextrins or completely into glucose units. Glucose is used as a carbon source for bacterial growth. The aims of this study were to isolate cellulolytic bacteria from estuary water of Siak watershed in Bengkalis area and to determine its cellulolytic activity and specific activity. A total of 13 isolates of cellulolytic bacteria have been isolated using commercial cellulose substrate containing 1% w/v carboxymethyl cellulose (CMC). We found that 11 of the 13 isolates were Gram negative bacteria, while others were Gram positive. The isolate of C3 from Pelabuhan Roro showed the highest cellulolytic activity $[(1.701 \pm 0.166) \times 10^{-3} \text{ U/mL}]$ which was not significantly different ($p \leq 0.05$) with cellulolytic activity of the A3 isolate $[(1.605 \pm 0.041) \times 10^{-3} \text{ U/mL}]$. The C3 isolate also had the highest Cellulolytic specific activity $[(31.037 \pm 4026) \times 10^{-3} \text{ U/mg}]$ and it was significant ($p \geq 0.05$) different with other isolates

Keywords: Carboxymethyl cellulose (CMC), cellulase, cellulolytic bacteria, Siak River.

ABSTRAK

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang dapat memecah selulosa menjadi polisakarida yang lebih sederhana yaitu selodekstrin atau menjadi unit-unit glukosa. Glukosa dimanfaatkan bakteri sebagai sumber karbon untuk kebutuhan pertumbuhannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri selulolitik dari air muara Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak wilayah Kabupaten Bengkalis, dan menentukan aktivitas selulolitik dan aktivitas spesifiknya. Hasil isolasi bakteri selulolitik didapatkan 13 isolat yang diisolasi menggunakan substrat selulosa komersial yang mengandung 1% b/v Karboksimetil selulosa (CMC). Hasil pewarnaan Gram didapatkan 11 dari 13 isolat merupakan bakteri Gram negatif, sedangkan yang lainnya Gram positif. Isolat C3 dari Pelabuhan Roro menunjukkan aktivitas selulolitik tertinggi sebesar $[(1,701 \pm 0,166) \times 10^{-3} \text{ U/mL}]$ yang tidak berbeda nyata ($p \leq 0,05$) dengan aktivitas selulolitik pada isolat A3 sebesar $[(1,605 \pm 0,041) \times 10^{-3} \text{ U/mL}]$. Isolat C3 juga menghasilkan aktivitas spesifik selulolitik tertinggi sebesar $[(31,037 \pm 4,026) \times 10^{-3} \text{ U/mg}]$ dan berbeda secara nyata ($p \geq 0,05$) dibandingkan dengan isolat bakteri lainnya.

Kata kunci: Karboksimetil selulosa (CMC), selulase, bakteri selulolitik, Sungai Siak.

PENDAHULUAN

Riau memiliki banyak kekayaan sumber daya alam dan sungai-sungai yang besar seperti Sungai Siak. Sungai Siak merupakan sungai terdalam di Indonesia dengan kedalaman mencapai 20-30 meter dan lebar 100-150 meter. Seluruh Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak berada di Provinsi Riau melewati lima wilayah administrasi kabupaten atau kota yaitu, Kabupaten Rokan Hulu, Kabupaten Kampar, Kota Pekanbaru, Kabupaten Siak dan Kabupaten Bengkalis (Dapertemen Pekerjaan Umum, 2005).

Kabupaten Bengkalis merupakan daerah hilir dari DAS Siak yang banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai usaha perkebunan kelapa sawit, di samping industri pertambangan minyak bumi dan kehutanan (Sachihi, 2008). Meningkatnya pertumbuhan sektor perkebunan tersebut menyebabkan naiknya jumlah limbah industri kelapa sawit ke lingkungan khususnya lingkungan air. Limbah yang dihasilkan berupa limbah padat dan limbah cair yang sebagiannya terakumulasi di sungai (Dapertemen Pekerjaan Umum, 2005). Limbah yang dihasilkan sebagian besar mengandung polimer karbohidrat. Adanya polimer karbohidrat tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh bakteri untuk pertumbuhannya dengan cara memproduksi enzim. Limbah karbohidrat yang paling stabil di air adalah selulosa (Maranatha, 2008).

Selulosa adalah polimer karbohidrat berantai lurus (1,4)- β -D-glukosa berbentuk seperti serabut, liat, tidak larut dalam air (Lehninger, 1982). Selulosa dapat dipecah menjadi senyawa sederhana melalui proses selulolitik. Selulolitik adalah proses

pemecahan selulosa menjadi senyawa atau unit-unit glukosa yang lebih kecil. Proses selulolitik dapat terjadi dengan bantuan enzim selulase yang salah satunya dihasilkan oleh bakteri selulolitik. Beberapa genus bakteri selulolitik adalah *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Acetivibrio*, *Misrobispora*, dan *Streptomyces* yang dapat memproduksi enzim selulase secara efektif (Saratale dkk., 2012). Penggunaan enzim dalam bidang bioteknologi berkembang sangat cepat. Selulase memiliki peranan aplikasi industri seperti tekstil, produksi bioetanol, *pulp*, dan *paper* (Balasaravanan dkk., 2013). Proses hidrolisis selulosa terjadi melalui sebuah kompleks enzim selulase. Enzim tersebut adalah katalis yang bekerja secara sinergis untuk melepaskan gula (Santos dkk., 2012).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Siagian (2012) diperoleh 10 isolat bakteri selulolitik dari Sungai Siak Daerah Tandun yang ternyata 2 dari 10 isolat mampu menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas relatif lebih besar dibandingkan isolat yang lain yaitu S-16 sebesar $(4,40 \pm 0,2) \times 10^{-3}$ U/mL dan S-22 sebesar $(13,417 \pm 1,98) \times 10^{-3}$ U/mL. Berdasarkan kemampuan bakteri untuk tumbuh pada lingkungan yang mengandung selulosa sebagai sumber karbonnya, maka pada penelitian ini akan dilakukan isolasi bakteri selulolitik dan identifikasi kemampuan bakteri dalam hal menghasilkan enzim selulase dari sampel air pada tiga titik stasiun sampling di muara DAS Siak wilayah Kabupaten Bengkalis. Pengambilan sampel pada ketiga titik ini berdasarkan pada perbedaan terhadap parameter

fisika yang terjadi disepanjang aliran sungai.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Autoclave (All American Model No. 2X), Spektrofotometer UV-VIS (*Thermoscientific Genesys 10S*), *Waterbath (Grant Instrument Type SUB 28)*, *Vortex (H-VM-300)*, *Incubator (Mettler)*, *Oven (Fisher Scientific Model 655F)*, Mikroskop (*Yazumi X5Z-107BN*), *Microcentrifuge (Hareous Instrument Biofuge Pico D-37520 Osterode)*, *Shaking Incubator (Labtech Model LS1-3016R Serial No. B110221102)*, dan alat-alat gelas laboratorium lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air, karboksimetil selulosa (CMC) (Brataco Chemika J1438/4), *Nutrient Agar* (Merck, No.Kat.1.05450.0500), *Nutrient Broth* (Merck, No.Kat.1.05443.0500), reagen arsenomolibdat, reagen Nelson-Somogyi, dan bahan lainnya sesuai prosedur kerja.

b. Isolasi bakteri selulolitik

Sebanyak 1 mL masing-masing sampel air diinokulasikan ke dalam 4 mL media *nutrient broth* steril, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan metode cawan gores pada media padat selulase yang mengandung 1% CMC (1 g CMC; 0,02 g MgSO₄.7H₂O; 0,075 g KNO₃; 0,002 g K₂HPO₄; 0,004 g CaCl₂.2H₂O; 0,2 g ekstrak khamir; 1,5 g agar batang), diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam. Koloni tunggal yang tumbuh pada cawan petri tersebut diidentifikasi dengan pewarnaan

Gram dan digunakan untuk produksi enzim selulase.

c. Identifikasi isolat dengan pewarnaan Gram

Bakteri yang tumbuh pada media padat yang mengandung 1% CMC diinokulasi pada media agar miring sebagai stok bakteri selulolitik. Isolat bakteri diremajakan pada media *nutrient broth*, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam, dan selanjutnya diidentifikasi melalui pewarnaan Gram (Pratiwi, 2008).

Preparat ulas dibuat dengan mengambil 1 ose biakan bakteri dari media *nutrient broth*, selanjutnya diratakan, dikeringanginkan, dan difiksasi dengan melewati di atas api bunsen. Ulasan diberi beberapa tetes kristal violet dan dibarkan sekitar 20 detik, lalu dicuci dengan akuades mengalir, selanjutnya ulasan ditetesi dengan larutan iodin dan dibiarkan sekitar 1 menit, lalu dicuci dengan akuades mengalir. Ulasan diberi larutan pemucat (etanol 96%), dicuci dengan akuades mengalir, ditetaskan safranin di atas ulasan, dibiarkan selama 20 detik, lalu dicuci dengan akuades mengalir. Preparat dikeringkan dengan menempelkan tisu disisi ulasan, lalu dikeringanginkan, kemudian preparat ditetesi minyak imersi untuk diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100× (Pratiwi, 2008).

d. Produksi enzim selulas

Isolat bakteri yang tumbuh pada media padat yang mengandung 1% CMC diinokulasikan ke media *nutrient broth*, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 16 jam dengan kecepatan

agitasi 120 rpm. Inokulum tersebut diukur kekeruhan sel bakterinya atau *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm. Inokulum dengan OD senilai 0,5 dimasukkan masing-masing ke dalam 100 mL media produksi enzim selulase, diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam dalam *shaking incubator* dengan kecepatan agitasi 150 rpm.

Masing-masing media produksi enzim yang terdapat kultur isolat didinginkan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C selama 1 jam, dan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk mengendapkan biomassa bakteri. Supernatan disaring dengan *filter glass fiber* Whatman GF/C, Ekstrak kasar enzim yang diperoleh ditentukan volume dan aktivitas enzim selulasenya dengan metode Nelson-Somogyi.

e. Aktivitas enzim selulase

Penentuan aktivitas enzim selulase melalui pengukuran konsentrasi gula pereduksi dilakukan menggunakan metode Nelson-Somogyi. Tabung uji diisi dengan 0,5 mL larutan substrat CMC 2% yang dilarutkan dengan larutan bufer fosfat 0,05 M pH 7, kemudian diinkubasi selama 5 menit di dalam *waterbath* suhu 40°C. Tanpa mengeluarkan tabung dari *waterbath* dimasukkan larutan enzim 0,5 mL dan inkubasi dilanjutkan selama 30 menit. Kerja enzim dihentikan dengan penambahan reagen Nelson-Somogyi sebanyak 0,5 mL, dan selanjutnya dipanaskan selama 20 menit dalam air mendidih, kemudian didinginkan hingga suhu sama dengan suhu kamar. Setelah dingin, ditambahkan reagen arsenomolibdat sebanyak 0,5 mL dan dihomogenkan, selanjutnya didiamkan

selama 5 menit. Sebanyak 3 mL akuades ditambahkan ke dalam larutan tersebut, dihomogenkan menggunakan *vortex* dan didiamkan selama 30 menit. Tabung selama 10 menit lalu disaring karena terdapat endapan pada permukaan atas larutan. Sebagai standar dibuat larutan standar glukosa pada berbagai konsentrasi. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Clark dan Switzer, 1997). Satu unit aktivitas selulase didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang melepaskan 1 µmol gula pereduksi permenit.

f. Aktivitas spesifik enzim selulolitik

Penentuan aktivitas spesifik enzim selulase melalui pengukuran kadar protein enzim selulase dilakukan menggunakan metoda Lowry (Folin-Ciocalteu). Larutan enzim sebanyak 0,5 mL masing-masing dimasukkan ke dalam 6 tabung *microtube*, ditambahkan 1 mL aseton dingin 80% (-20°C), dihomogenkan, dan disimpan dalam *freezer* pada temperatur -20°C selama 30 menit. Setelah itu, setiap *microtube* disentrifugasi dalam keadaan dingin dengan mikrosentrifugator dingin (-20°C) pada kecepatan 13000 rpm selama 10 menit. Supernatan dituang dari *microtube* dan endapan protein yang diperoleh dilarutkan dengan 20 µL bufer asetat 0,05 M pH 7. Campuran dihomogenkan hingga endapan protein larut. Larutan protein yang telah dipekatkan dari 6 tabung *microtube* dikumpulkan menjadi satu dalam tabung reaksi (Lowry, 1951).

Larutan sampel protein yang telah dipekatkan diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 9,8 mL Na₂CO₃ 2% 0,1 mL Natrium Kalium Tartarat 2,7%,

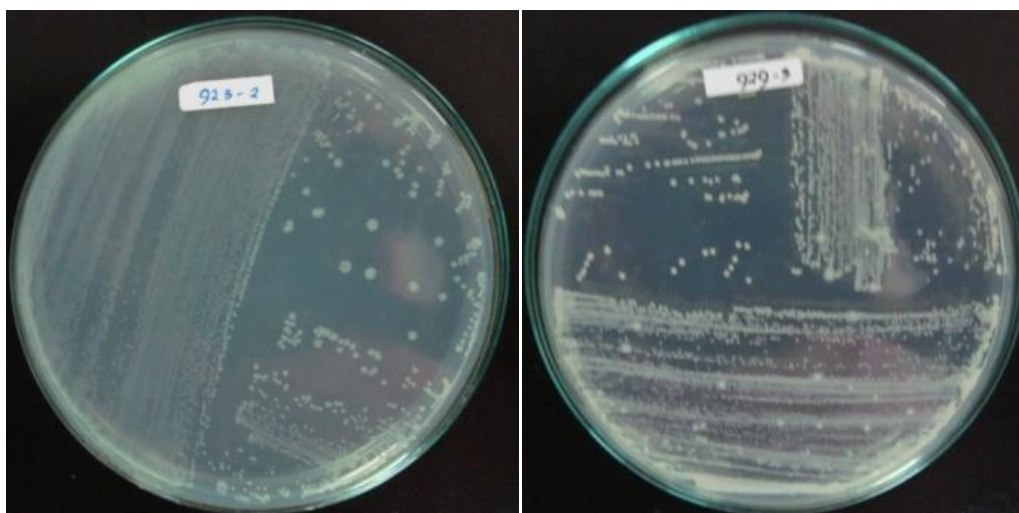
dan 0,1 mL CuSO₄ 1%. Campuran dihomogenkan menggunakan *vortex* dan didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Campuran ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu, dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian didiamkan kembali selama 30 menit pada suhu ruang (Lowry, 1951). Absorbansi larutan berwarna yang terbentuk diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 700 nm (Alexander dan Griffiths, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi dan pemurnian bakteri selulolitik

Bakteri selulolitik adalah bakteri heterotrof yang termasuk golongan saprofit yang memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa menjadi monomer glukosa. Bakteri saprofit adalah bakteri yang dapat memanfaatkan sisa-sisa tumbuhan yang telah mati untuk memenuhi kebutuhan sel. Glukosa adalah monomer

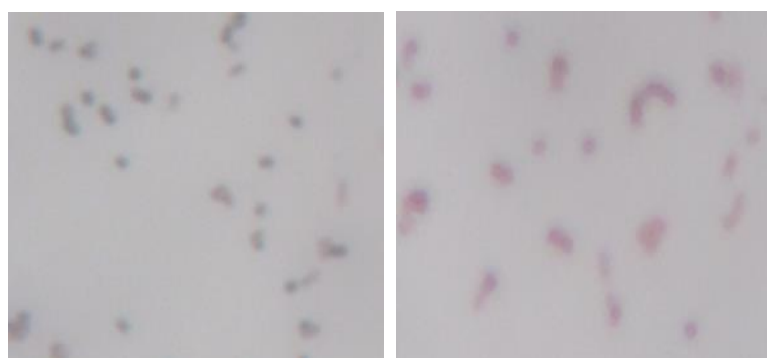
karbohidrat yang dapat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk kebutuhan pertumbuhannya. Bakteri yang dapat hidup dalam media yang mengandung sumber karbon selulosa yaitu pada penelitian ini menggunakan *carboxymethyl cellulose* (CMC) menandakan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim selulase. Bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase merupakan bakteri selulolitik. Hasil penelitian didapatkan 13 isolat bakteri selulolitik dengan tiga kali pemurnian yang diisolasi dari 3 sampel air muara DAS Siak wilayah Kabupaten Bengkalis (Gambar 1). Pada penelitian ini, Isolasi bakteri menggunakan media padat selulase yang mengandung CMC 1%, sehingga bakteri yang dapat hidup pada media tersebut merupakan bakteri selulolitik. Hal ini menandakan bahwa air muara DAS Siak wilayah Kabupaten Bengkalis terdapat limbah selulosa yang bisa dijadikan sumber karbon untuk bakteri selulolitik.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri pada media padat selulase yang mengandung 1% CMC.

Tabel 1. Hasil pengamatan pada identifikasi Gram

Kode Sampel	Kode Isolat	Identifikasi Gram
A	A1	-
	A2	-
	A3	-
	A4	-
	A5	-
B	B1	-
	B2	-
	B3	-
	B4	-
C	C1	-
	C2	+
	C3	-
	C4	+



(a)

(b)

Gambar 2. Foto mikroskopi pewarnaan Gram pada bakteri (a) bakteri (C2) menunjukkan bakteri Gram positif (b) bakteri (B3) menunjukkan bakteri Gram negatif.

2. Identifikasi isolat dengan pewarnaan Gram

Identifikasi pewarnaan Gram adalah salah satu prosedur yang paling banyak digunakan untuk membedakan dua kelompok besar bakteri, yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pada saat pewarnaan Gram, bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan ke dalam Gram positif, sedangkan bakteri berwarna merah digolongkan ke dalam

Gram negatif (Pratiwi, 2008). Pada hasil penelitian didapatkan 2 isolat bakteri merupakan Gram positif yaitu pada isolat C2, C4 dan 11 isolat lainnya merupakan bakteri Gram negatif dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan perbedaan pada struktur, komposisi dinding sel bakteri, dan perbedaan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri. Dinding

sel bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida.

Bakteri Gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri Gram positif. Selama prosedur pewarnaan, perlakuan dengan etanol terhadap bakteri Gram negatif menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel Gram negatif. Kompleks ungu kristal-iodium, yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan, dapat diekstraksi, oleh sebab itu organisme Gram negatif kehilangan warna tersebut. Kandungan lipidnya yang lebih rendah, dinding sel bakteri Gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks ungu kristal-iodium tidak dapat terekstraksi (Pelczar dan Chan, 2006).

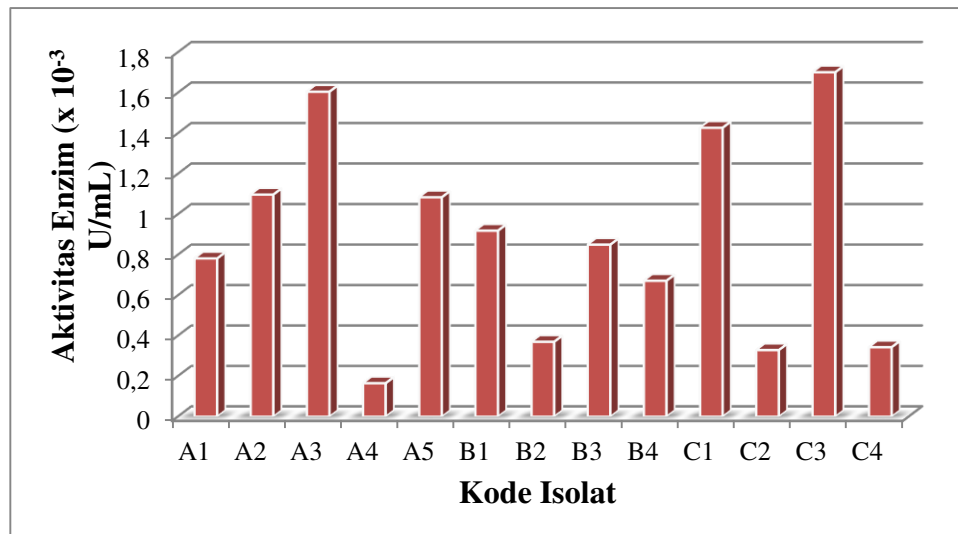
3. Produksi enzim, uji aktivitas, dan aktivitas spesifik selulolitik

Tiga belas bakteri selulolitik yang diperoleh dibuat inokulumnya untuk dihitung jumlah selnya dengan cara menentukan kekeruhan (turbiditas) atau *Optical Density* (OD) suspensi dalam media cair *nutrient broth*. Perbedaan nilai OD masing-masing isolat bakteri disebabkan oleh perbedaan jumlah sel. Semakin keruh suatu suspensi atau semakin tinggi nilai OD, maka semakin banyak jumlah sel.

Pada penelitian ini didapatkan OD tertinggi yaitu pada isolat 953-3 yang menandakan bahwa jumlah sel bakteri pada suspensi lebih banyak dibandingkan pada isolat lainnya. Bakteri yang diinokulasikan kedalam media produksi enzim ODnya diusahakan relatif sama yaitu pada penelitian ini digunakan OD_{660 nm} 0,5, sehingga jumlah sel awal sebelum produksi relatif sama. Banyaknya inokulum dari media cair *nutrient broth* yang akan diinokulasikan yaitu 10% dari media produksi. Nilai OD_{660 nm} dikorelasikan dengan OD_{660 nm} 2 setara dengan $1,6 \times 10^9$ sel/mL kurva standar yang menyatakan hubungan OD dengan jumlah sel per mL.

Isolat bakteri akan tereduksi memproduksi enzim sesuai dengan sumber karbon yang diberikan. Untuk menginduksi isolat bakteri selulolitik memproduksi enzim selulase, maka pada medium cair untuk produksi enzim ditambahkan selulosa sebagai substrat. Hal ini sesuai dengan teori Jacob-Monod tentang induksi enzim. Selulosa adalah sumber karbon utama untuk bakteri penghasil enzim selulase dan juga menginduksi produksi enzim selulase pada bakteri (Jacob dan Monod, 1961). Selulosa yang digunakan dalam proses produksi enzim selulase adalah selulosa komersial yaitu karboksimetil selulosa (CMC).

Tiga belas isolat bakteri selulolitik ditentukan aktivitas enzim secara kuantitatif dengan menggunakan media cair produksi enzim selulase yang mengandung 1% CMC yang dilarutkan di dalam bufer fosfat pH 7. Penentuan aktivitas selulase dari ekstrak kasar enzim selulase dilakukan dengan menggunakan substrat CMC 2%.

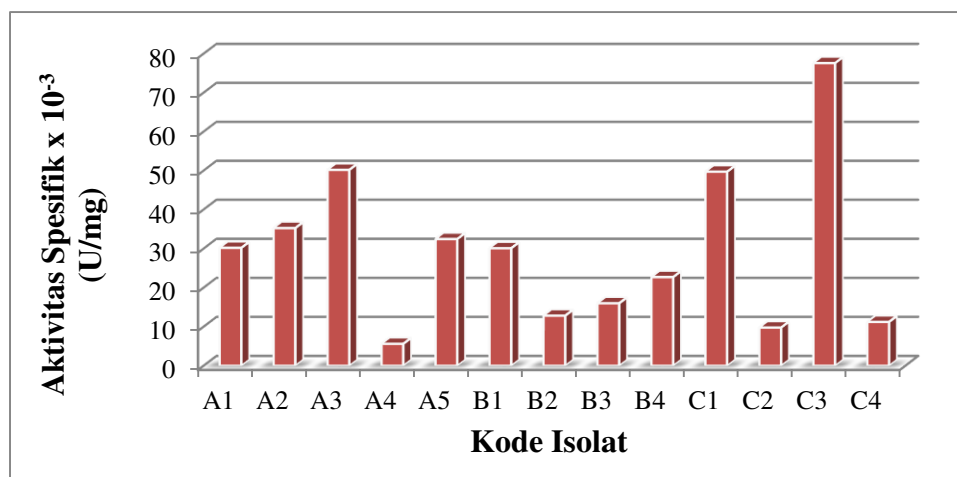


Gambar 3. Grafik aktivitas rata-rata enzim selulolitik.

Pada penelitian ini, aktivitas selulase tertinggi adalah pada isolat C3 sebesar $(1,701 \pm 0,166) \times 10^{-3}$ U/mL dan tidak berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan aktivitas enzim pada isolat A3 sebesar $(1,605 \pm 0,041) \times 10^{-3}$ U/mL (Gambar 3). Hasil penelitian Siagian (2012) pada isolat bakteri selulolitik yaitu S-22 yang diisolasi dari Sungai Siak Daerah Tandun memberikan nilai aktivitas selulase sebesar $(13,417 \pm 0,100) \times 10^{-3}$ U/mL. Hasil penelitian Siagian (2012) memberikan nilai aktivitas selulase lebih tinggi daripada aktivitas selulase yang dihasilkan pada penelitian ini dengan menggunakan kondisi pH, agitasi, sumber karbon, dan waktu produksi yang sama, tetapi komposisi media berbeda. Kemungkinan hal ini disebabkan karena komposisi media produksi. Komposisi media produksi enzim sangat mempengaruhi pada aktivitas enzim yang dihasilkan. Menurut Meryandini dkk (2009), perbedaan pertumbuhan antara isolat bakteri berdasarkan atas kemampuannya dalam mendegradasi substrat dan komposisi yang ditambahkan pada media.

Substrat CMC merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk *amorphous* sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo-1,4- β -glukanase. Endo-1,4- β -glukanase bekerja pada rantai dalam CMC menghasilkan oligosakarida atau rantai selulosa yang lebih pendek, maka dari substrat yang digunakan pada penelitian ini, dianggap bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari air muara DAS Siak wilayah Kabupaten Bengkalis menunjukkan dominasi produksi endoglukanase berdasarkan substrat yang digunakan pada saat produksi enzim.

Aktivitas spesifik dari masing-masing ekstrak kasar enzim selulolitik setelah diuji dengan metode Duncan jarak berganda menunjukkan bahwa aktivitas terbesar adalah pada isolat bakteri C3 yaitu $(77,593 \pm 10,065) \times 10^{-3}$ U/mg. Aktivitas spesifik yang dihasilkan isolat tersebut berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan aktivitas spesifik dari 12 isolat bakteri selulolitik lainnya (Gambar 4).



Gambar 4. Grafik aktivitas rata-rata spesifik enzim selulolitik.

Aktivitas spesifik enzim menunjukkan suatu ukuran kemurnian enzim atau dapat digunakan sebagai indikasi ada tidaknya inhibitor enzim atau represor sintesis enzim di dalam media produksi enzim. Apabila aktivitas tinggi, tetapi aktivitas spesifik rendah, maka ini menunjukkan selain adanya protein lain dalam ekstrak, konsentrasi inhibitor dalam media rendah. Bila aktivitas rendah dan aktivitas spesifik rendah, maka kemungkinan aktivitas rendah disebabkan oleh adanya konsentrasi yang tinggi dari inhibitor di dalam media produksi enzim. Aktivitas spesifik tinggi juga menunjukkan bahwa protein utama yang dikeluarkan ke media tumbuh mikroba tersebut adalah enzim target (Fitrahmayani, 2010).

KESIMPULAN

Proses isolasi bakteri selulolitik menggunakan media padat selulase yang mengandung 1% CMC menghasilkan 13 isolat yang 11 diantaranya merupakan bakteri Gram negatif dan 2 bakteri lainnya adalah bakteri Gram positif. Aktivitas enzim selulolitik dan aktivitas spesifik

selulolitik tertinggi ditunjukkan oleh isolat C3 dan A3 dengan aktivitas enzim rata-rata sebesar $(1,701 \pm 0,166) \times 10^{-3}$ U/mL dan $(1,605 \pm 0,041) \times 10^{-3}$ U/mL, secara berturut-turut isolat C3 juga memperlihatkan aktivitas spesifik selulolitik yang relatif tinggi sebesar $(31,037 \pm 4,026) \times 10^{-3}$ U/mg yang berbeda secara nyata ($p \leq 0,05$) dibandingkan dengan 12 isolat bakteri lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Yuli Haryani, M.Sc, Apt dan Ibu Dr. Christine Jose, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu memberikan bimbingan, dukungan, dan petunjuk selama penelitian dan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, R. dan R., Griffiths, J. M. 1993. *Basic Biochemical Methods*. Willey-Liss, New York.
- Balasaravanan, T., John, D., Rathnan, R.K. 2013. Isolation, screening,

- identification and optimized production of extracellular cellulase from *Bacillus subtilis* using cellulosic waste as carbon source. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science* **2** (6): 2383-2386.
- Clark, J. M. dan Switzer, R. L. 1977. *Experimental Biochemistry. 2nd edition*. WH. Freeman & Co. San Fransisco.
- Dapertemen Pekerjaan Umum. 2005. *Penataan Ruang Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak Provinsi Riau*. Pekanbaru
- Fitrahmayani. 2010. Optimasi Produksi Kitinase *Trichoderma asperellum* T.N.C52 dengan Variasi Konsentrasi dan Ukuran Partikel Induser dari Limbah Kulit Udang. *Skripsi*. FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru..
- Jacob, F. dan Monod, J. 1961. Genetic regulatory mechanism in the synthesis of protein. *Journal of Molecular and Biological* **3**: 318-356.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*, Jilid 1. Erlangga, Jakarta.
- Lowry, O.H. Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* **193**: 265-275
- Maniatis, T., Sambrook J., Fritsch E.F. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, United States of America
- Maranatha, B. 2008. Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian. *Skripsi*. FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., Satria, H. 2009. Isolasi Bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* **13**: 33-38.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.
- Sachihi, A.W. 2008. Pembangunan Perkebunan Kelapa Sawit di Provinsi Riau: Sebuah Tafsiran Seputaran Pemberdayaan Petani Kebun. *Komaba Studies in Human Geography* **19**: 1-16.
- Santos, T.C., Gomes, D.P.P., Bonomo, R.C.F., Franco, M. 2012. Optimisation of solid state fermentation of potato peel for the production of cellulolytic Enzyme. *Food Chemistry* **133**: 1299-1304.
- Saratale, G.D., Saratale, R.G., Oh, S.E. 2012. Production and characterization of multiple cellulolytic enzymes by isolated *Streptomyces* sp. MDS. *Biomass and Bioenergy* **47**: 302-315.
- Siagian, E. 2012. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Daerah Aliran Sungai Siak di Tandun Kabupaten Rokan Hulu. *Skripsi*. FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

