

**PEMANFAATAN SELULOSA POPOK BAYI SEBAGAI SUBSTRAT UNTUK  
PRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH ISOLAT BAKTERI S-16 DAN S-22  
STRAIN LOKAL RIAU**

**Maya Dahlena, Andi Dahliaty, Silvera Devi Sy**

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

**ABSTRACT**

The S-16 and S-22 cellulolytic bacteria isolated from Siak River water were used in this study to produce cellulase with disposable diapers as a substrate. Cotton is the main component in the disposable diapers that can be used as a substrate in the production of cellulase. Cellulase is an enzyme that catalyzes the hidrolisis of  $\beta$ -1-4-glycosidic bond of cellulose. Fermentation was carried out for 10, 20, and 30 days by S-16 and S-22. Enzyme activity was determined using Nelson-Somogyi method. The results showed that the highest enzyme activity obtained at 20 days, with S-16 of  $(2,654 \pm 0,53) \times 10^{-3}$  U/mL and S-22 of  $(13,704 \pm 4,91) \times 10^{-3}$  U/mL.

Keywords: Cellulolytic bacteria, cellulose, disposable diapers.

**ABSTRAK**

Isolat S-16 dan S-22 merupakan bakteri selulolitik yang diisolasi dari air Sungai Siak. Pada penelitian ini produksi enzim selulase dari isolat S-16 dan S-22 menggunakan popok bayi. Sebagian besar isi bagian dalam popok tersebut adalah kapas yang mengandung senyawa polimer selulosa sehingga dapat digunakan sebagai media dalam produksi enzim selulase. Selulase adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi pemutusan ikatan  $\beta$ -1-4-glikosidik dalam selulosa. Pada penelitian ini dilakukan fermentasi popok bayi selama 10, 20, dan 30 hari oleh isolat S-16 dan S-22. Penentuan aktivitas enzim selulase dilakukan menggunakan metode Nelson-Somogyi. Dari hasil menunjukkan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tertinggi untuk S-16 pada waktu fermentasi 20 hari sebesar  $(2,654 \pm 0,53) \times 10^{-3}$  U/mL dan S-22 pada waktu fermentasi 20 hari sebesar  $(13,704 \pm 4,91) \times 10^{-3}$  U/mL.

Kata kunci: Bakteri selulolitik, selulosa, popok bayi.

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki angka kelahiran bayi mencapai sekitar 4,5 juta setiap tahunnya (Badan Pusat Statistik, 2010). Popok bayi (*disposable diapers*) merupakan kebutuhan yang akan terus menerus meningkat sesuai dengan bertambahnya angka kelahiran bayi. Penggunaan popok bayi sekali pakai di Indonesia saat ini mencapai 85 persen. Tingginya pemakaian popok bayi tanpa diimbangi sistem pengelolaan atau pemanfaatan limbah tersebut maka akan menjadi permasalahan di bidang lingkungan, karena limbah ini akan mengganggu estetika lingkungan. Sebagian besar isi bagian dalam popok tersebut adalah kapas yang mengandung senyawa polimer selulosa (Cowd, 1991). Adanya selulosa tersebut dapat dijadikan sumber karbon bagi mikroba penghasil selulase.

Enzim selulase adalah salah satu enzim yang dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme dan pada umumnya merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan di dalam sel kemudian dikeluarkan ke medium pertumbuhannya, untuk mengkatalisis pemecahan selulosa menjadi glukosa dengan pemutusan ikatan  $\beta$ -1,4-glukosidik yang terdapat pada selulosa. Enzim ini sangat penting dalam proses biokonversi atau perubahan secara biologi limbah-limbah organik mengandung selulosa menjadi glukosa. Glukosa yang dihasilkan dapat dijadikan bahan baku pembuatan bioetanol (Acharya dkk., 2008).

Mikroorganisme S-16 dan S-22 merupakan bakteri selulolitik isolat koleksi laboratorium enzim, fermentasi dan bio molekuler FMIPA UR yang diisolasi dari Sungai Siak di daerah Tandun (Siagian, 2012). Bakteri

selulolitik ini diisolasi dalam media selektif yang mengandung 1% *carboxymethyl cellulose* (CMC) sebagai sumber karbon dengan waktu fermentasi 24 jam dan mempunyai aktivitas untuk S-16 dan S-22 berturut-turut sebesar  $(4,40 \pm 0,2) \times 10^{-3}$  U/mL dan  $(13,417 \pm 0,198) \times 10^{-3}$  U/mL (Siagian, 2012), sedangkan dalam media selektif yang mengandung 1% ampas tebu sebagai sumber karbon dengan waktu yang sama memiliki aktivitas enzim selulase dari isolat S-16 sebesar  $(4,67 \pm 2,64) \times 10^{-3}$  U/mL dan S-22 sebesar  $(10,23 \pm 2,62) \times 10^{-3}$  U/mL (Suri, 2013). Sehingga bakteri ini memungkinkan untuk menghidrolisis selulosa dari popok bayi. Popok bayi yang digunakan pada penelitian ini adalah popok baru yang belum terkontaminasi oleh urin ataupun feses.

Rahmadani, dkk. (2013) melaporkan bahwa pada beberapa penelitian, limbah pertanian berpotensi digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi enzim selulase. Pada penelitian ini diproduksi enzim selulase dari isolat S-16 dan S-22 menggunakan sumber karbon popok bayi. Hasil yang diperoleh dapat dikembangkan untuk memformulasikan media produksi selulase yang lebih murah dan meningkatkan ketermanfaatan limbah popok bayi.

## METODE PENELITIAN

### a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Autoklaf *All American Mode 25X-2* (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc., Monitowoc), *Waterbath* (*Grant Instrument Type SUB 28*), Vortex (H-VM-300), Spektrofotometer UV-VIS (*Thermoscientific genesys 10S UV-Vis*),

*Shaker Incubator* (Daihan Lab Tech LSI-3016R), *Centrifuge scientific model* 228, Oven (*Fisher Scientific Model* 655F), pH meter (Hanna Instrument H18014), *Incubator* (*Heracus Instrument D6450*), dan peralatan standar laboratorium umum lainnya yang digunakan sesuai prosedur kerja.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat bakteri S-16, dan S-22 isolat koleksi Laboratorium riset enzim, fermentasi dan biomolekuler FMIPA UR yang diisolasi dari sungai Siak (Siagian, 2012), popok bayi merk *Drypers*, *Carboxymethyl cellulose* (CMC), (Brataco Chemika J1438/4), *Nutrient Agar* (Merck, No.kat.1.05450), *Nutrient Broth* (Merck, No.kat.1.06649), reagen Nelson Somogy, reagen arsenomolibdat,  $\text{NaN}_3$  (Kanto Chemical Tokyo) dan bahan lainnya.

#### **b. Persiapan popok bayi**

Popok bayi yang digunakan yaitu merek *Drypers*. Popok bayi dipotong dengan ukuran masing-masing 5x5 cm dengan berat awal popok bayi  $\pm 2,3012$  g.

#### **c. Peremajaan bakteri selulolitik S-16 dan S-22**

Isolat bakteri selulolitik S-16 dan S-22, dari stok NB diambil dengan ose yang telah disterilkan dengan cara dicelupkan pada alkohol dan dibakar menggunakan api (secara aseptis), kemudian diinokulasikan pada media NA dengan cara menggoreskan ose secara zig-zag pada permukaan NA. Isolat diinkubasi pada suhu ruang selama satu hari, kemudian disimpan dalam lemari pendingin jika tidak langsung digunakan.

#### **d. Pembuatan inokulum**

Media yang digunakan sebagai inokulum adalah *Nutrient Broth* yang dilarutkan dalam larutan buffer posfat pH 7. Media NB disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$ , tekanan 15 lbs, selama 30 menit. Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari media *nurtient agar* (NA) menggunakan ose dan dipindahkan dalam media inokulum NB. Kemudian diinkubasi menggunakan *shaking incubator* dengan kecepatan agitasi 120 rpm pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama  $\pm 16$  jam. Inokulum tersebut diukur kekeruhan sel bakterinya atau *optical density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm.

#### **e. Fermentasi**

Popok bayi yang telah dipotong 5x5 cm dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi kering didalam oven pada suhu  $160^\circ\text{C}$  kemudian ditambahkan masing-masing inokulum S-16 dan S-22 dengan OD sebesar 0,5 sebanyak 100 mL. Suspensi bakteri dalam media produksi ini diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 10, 20, dan 30 hari dan dilakukan pengadukan setiap rentang waktu 10-14 jam.

#### **f. Isolasi ekstrak kasar enzim**

Setelah proses fermentasi selesai sesuai waktu yang ditentukan pada variabel, hasil fermentasi didinginkan dalam lemari pendingin pada suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Selanjutnya media fermentasi ini disaring dengan kertas saring *Whatman No.42*. Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme selama fermentasi dipisahkan dari campuran medianya dengan cara sentrifugasi dingin selama  $\pm 10$  menit dengan kecepatan 9500 rpm. Ekstrak kasar

enzim yang diperoleh kemudian ditambahkan  $\text{NaN}_3$  sebanyak 0,02 % dan disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  apabila tidak langsung dilakukan uji aktivitas.

#### **g. Penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dengan metode Nelson-Somogyi**

Penentuan aktivitas enzim selulase dilakukan melalui pengukuran konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis substrat CMC oleh selulase ditentukan menggunakan metode Nelson-Somogyi. Tabung uji diisi dengan 0,5 mL larutan substrat CMC 2%, tabung kontrol dibiarkan kosong, dan tabung blanko diisi dengan 1 mL larutan bufer fosfat 0,05 M pH 7, kemudian ketiga tabung dimasukkan ke dalam *waterbath* dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu  $40^\circ\text{C}$ , selanjutnya tabung uji dan kontrol ditambahkan 0,5 mL ekstrak kasar enzim tanpa pengeluaran tabung dari dalam *waterbath* kemudian diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu  $40^\circ\text{C}$ , semua mulut tabung reaksi ditutup dengan kelereng. Setelah inkubasi 30 menit tabung uji, kontrol, dan blanko dikeluarkan dari *waterbath*.

Reagen Nelson-Somogyi dimasukkan masing-masing 0,5 mL kedalam tiga tabung reaksi ini, dan untuk tabung kontrol ditambahkan 0,5 mL substrat CMC 2%. Semua tabung reaksi ini dipanaskan kembali dalam penangas air selama 20 menit, selanjutnya tabung uji, kontrol, dan blanko didiamkan hingga suhu kamar dan ditambahkan 0,5 mL reagen arsenomolibdat, biarkan selama 5 menit.

Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan lagi 3 mL akuades dan didiamkan kembali selama 30 menit, jika

terdapat endapan larutan disentrifugasi pada 9500 rpm selama 10 menit. Endapan dibuang kemudian absorbansi filtrat diukur. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan masing-masing tiga kali pengulangan untuk setiap sampel. Sebagai standar dibuat larutan standar glukosa pada berbagai konsentrasi. Absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Clark dan Switzer, 1997). Satu unit aktivitas selulase didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang melepaskan 1  $\mu\text{mol}$  gula pereduksi permenit.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Mikroorganisme S-16 dan S-22 merupakan bakteri selulolitik isolat koleksi laboratorium enzim, fermentasi dan bio molekuler FMIPA UR yang diisolasi dari Sungai Siak di daerah Tandun dan merupakan bakteri Gram negatif (Siagian, 2012). Bakteri yang diinokulasikan ke dalam media fermentasi ODnya diusahakan relatif sama yaitu pada penelitian ini digunakan  $\text{OD}_{660\text{ nm}}$  0,5, sehingga jumlah sel awal sebelum fermentasi relatif sama. Ekstrak kasar enzim selulase yang dihasilkan diukur aktivitas enzim selulasenya menggunakan substrat CMC.

Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tertinggi isolat S-16 pada fermentasi 20 hari yaitu sebesar  $(2,654 \pm 0,53) \times 10^{-3}$  U/mL tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan aktivitas enzim pada fermentasi 10 hari (Tabel 1), sedangkan isolat S-22 pada fermentasi 20 hari juga mempunyai aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tertinggi yaitu sebesar  $(13,704 \pm 4,91) \times 10^{-3}$  U/mL tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan aktivitas

enzim pada fermentasi 10 hari (Tabel 2). Dari data yang dihasilkan, terlihat bahwa aktivitas ekstrak kasar enzim S-22 lebih besar dari S-16.

Tabel 1. Rata-rata aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat S-16 pada media fermentasi popok bayi.

Waktu fermentasi	Rata-rata Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase ( $\times 10^{-3}$ U/mL)
10 hari	$1,716 \pm 0,11^a$
20 hari	$2,654 \pm 0,53^a$
30 hari	$1,296 \pm 0,65^b$

Catatan: Pangkat huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% (p 0,05) berdasarkan uji Duncan jarak berganda.

Perbedaan aktivitas enzim selulase dari dua isolat S-16 dan S-22 dapat terjadi karena setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda tergantung dari gen yang dimiliki. Bakteri selulolitik memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi substrat karena dipengaruhi oleh gen penyusunnya (Pratiwi, 2008). Gen merupakan fragmen DNA yang memiliki urutan basa tertentu yang akan mempengaruhi sintesis protein, sehingga beberapa protein enzim selulase yang dihasilkan dari genus yang sama bisa memiliki aktivitas enzim selulase yang berbeda apalagi dengan bakteri yang berbeda genus.

Bertambahnya waktu fermentasi menyebabkan aktivitas enzim selulase meningkat sampai tercapainya waktu optimum. Pada saat waktu optimum kecepatan reaksi enzimatik optimum. Setelah itu, aktivitas kembali menurun seiring bertambahnya waktu. Hal ini berhubungan dengan kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa yang terdapat pada popok bayi untuk

ketersediaan sumber karbon selama pertumbuhannya.

Tabel 2. Rata-rata aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dari isolat S-22 pada media fermentasi popok bayi.

Waktu fermentasi	Rata-rata Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase ( $\times 10^{-3}$ U/mL)
10 hari	$12,469 \pm 3,64^{ab}$
20 hari	$13,704 \pm 4,91^a$
30 hari	$5,988 \pm 1,87^b$

Catatan: Pangkat huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% (p 0,05) berdasarkan uji Duncan jarak berganda.

Popok bayi yang sebagian besar mengandung selulosa, selain sebagai penginduksi juga digunakan sebagai sumber karbon utama untuk bakteri selulolitik penghasil enzim selulase. Popok bayi dengan adanya enzim selulase akan terhidrolisis menjadi glukosa dengan memutus ikatan 1,4- glikosidik (Lehninger, 1998). Glukosa adalah salah satu senyawa karbohidrat sederhana dan yang paling mudah untuk digunakan sebagai sumber energi oleh mikroorganisme.

## KESIMPULAN

Fermentasi popok bayi dengan menggunakan isolat S-16 dan S-22 menunjukkan adanya aktivitas ekstrak kasar enzim selulase. Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tertinggi isolat S-16 pada fermentasi 20 hari yaitu sebesar  $(2,654 \pm 0,53) \times 10^{-3}$  U/mL tidak berbeda nyata (P 0,05) dengan aktivitas enzim pada fermentasi 10 hari, dan isolat S-22 juga terdapat pada fermentasi 20 hari yaitu sebesar  $(13,704 \pm 4,91) \times 10^{-3}$  U/mL tidak berbeda nyata (P 0,05) dengan aktivitas enzim pada fermentasi 10 hari. Dari data yang dihasilkan,

terlihat bahwa aktivitas ekstrak kasar enzim S-22 lebih besar dari S-16.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Riau yang telah memberikan bantuan proposal dana PNBP 2014 An. Maya Dahlena pada penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

Acharya, P. B., Acharya, and Modi, H. A. 2008. Optimization for Cellulase Production by *Aspergillus niger* Using Saw Dust as Substrate. *African Journal of Biotechnology*. 22: 4147-4152.

Badan Pusat Statistik. 2010. Laju Pertumbuhan Penduduk. Dikutip dari: <http://www.bps.go.id>. Di akses pada tanggal 14 Oktober 2013.

Cowd, M.A. 1991. *Kimia Polimer*. Penerbit ITB, Bandung.

Clark, J. M., and Switzer, R. L. 1997. *Experimental Biochemistry*. 2<sup>nd</sup> edition. WH. Freeman & Co. San Fransisco.

Lehninger, A. L. 1998. *Dasar-dasar Biokimia*, Jilid 1. Erlangga, Jakarta.

Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.

Rahmadani, A.H., dan Susanti, E. 2013. Kajian Potensi Limbah Pertanian Sebagai Sumber Karbon Pada Produksi Avicelase dan CMCase

dari *Bacillus circulans*. *Valensi* Vol. 3. No 2 : 82-87

Siagian, E. 2012. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Daerah Aliran Sungai Siak di Tandun Kabupaten Rokan Hulu. *Skripsi*. FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

Suri, H. 2013. Optimalisasi Produksi Enzim Selulase Bakteri Selulolitik dengan Memanfaatkan Limbah Ampas Tebu Sebagai Substrat. *Skripsi*. FMIPA Universitas Riau. Pekanbaru.