BAB II

ENZIM SELULASE, LIMBAH JERAMI PADI (*Oryza sativa,* L), LIGNOSELULOSA, SELULOSA, PRETREATMENT, RAYAP KAYU (*Cryptotermes* sp.), BAKTERI SELULOLITIK, DAN FERMENTASI

2.1 Enzim Selulase

Enzim merupakan protein katalitik yang berperan sebagai biokatalisator yaitu mempercepat laju suatu reaksi kimia tanpa ikut terlibat atau tidak ikut menjadi produk dari reaksi tersebut, melainkan kembali ke bentuk asal setelah reaksi tersebut selesai. Aktivitas dari enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu pH, suhu, konsentrasi substrat, dan inhibitor. Jika faktor-faktor tersebut tidak sesuai maka akan mengganggu stabilitas dari enzim yang berperan penting dalam aplikasinya sebagai biokatalis. Saat ini dalam bidang industri enzim sudah banyak digunakan terutama industri bioteknologi baik konvensional maupun modern. Kemampuan enzim yang unik dan spesifik membuat enzim semakin banyak dimanfaatkan dalam proses industri dan dapat dikenal dengan teknologi enzim (Susanti dan Fibriana, 2017).Penggunaan enzim dalam bioteknologi modern semakin berkembang dengan cepat. Banyak industri-industri yang telah memanfaatkan kerja enzim, meliputi industri pangan dan non pangan (Yuneta dan Putra, 2010).

Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan di dalam sel yang kemudian dikeluarkan ke medium pertumbuhannya. Enzim selulase ini diproduksi untuk pemecah selulosa menjadi glukosa dengan cara memutuskan ikatan β-1,4-glukosidik yang terdapat pada selulosa (Acharya *et al*.,2008). Enzim selulase berperan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa, protein sel tunggal, makanan ternak, etanol dan lain-lain. Selulase dapat diproduksi oleh bakteri simbiotik dalam pencernaan herbivor dan pada beberapa serangga rayap (Susanti dan Fibriana, 2017). Selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa, enzim ini sebagian besar diproduksi oleh mikroorganisme antara lain kelompok bakteri maupun jamur. Pemanfaatan enzim selulase saat ini

Widya Nur Septiani, 2019
OPTIMASI PRODUKSI ENZIM SELULASE EKSTRAK KASAR OLEH ISOLAT BAKTERI SELULOLITIK R3-1 DARI SALURAN PENCERNAAN RAYAP Cryptotermes sp. MENGGUNAKAN MEDIA SERBUK JERAMI PADI (Oryza sativa, Linn.)
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

semakin meningkat dalam kegiatan industri makanan, kertas, detergen, dan industri pertanian (Alam *et al*., 2013).

Enzim selulase terdiri dari tiga jenis enzim ektraselular yang dapat bekerja secara sinergis dalam proses mendegradasi selulosa menjadi gula, yaitu :

a. Enzim endoglukanase yang menghidrolisis ikatan glikosidik β-1,4 secara acak yang bekerja terutama pada daerah amorf dari serat selulosa yang menghasilkan oligosakarida dan polimer yang panjang tereduksi, seperti pada *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Endoglukanase mempunyai afinitas yang tinggi terhadap substrat CMC (CMC-ase).
b. Enzim exoglukanase atau selobiohidrolase yang memotong residu selubiosil dari rantai selulosa yang ujung rantai selulosanya tidak tereduksi dan menghasilkan selobiosa.
c. Enzim endo β-glukosidase menghidrolisis selobiosa untuk menghasilkan dua unit glukosa (Sakti, 2012).

2.1.1 Kegunaan Enzim Selulase

Industri enzim sudah berkembang pesat dan memiliki peran penting dalam bidang industri**.** Beberapa pengamatan yang telah dilakukan membuktikan bahwa penggunaan enzim semakin meningkat dari tahun ke tahun mencapai 10-15% (Rahayu, 2004).. Kesadaran masyarakat terhadap masalah lingkungan yang semakin tinggi serta adanya tekanan dari para ahli dan pecinta lingkungan menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif dalam menggantikan berbagai proses kimiawi yang tidak ramah lingkungan pada bidang industri. Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Yuneta dan Putra, 2010).

Bakteri selulolitik dan enzim selulasenya banyak dimanfaatkan untuk berbagai macam keperluan industri karena biaya produksi yang murah, waktu produksi singkat, menghasilkan kompleks multienzim dan cenderung stabil pada beberapa kondisi. Enzim selulase banyak digunakan dalam industri pulp dan kertas untuk modifikasi serat, penghilangan warna dan peningkatan drainase (Ladeira, *et al*., 2015), dalam

industri tekstil digunakan sebagai biopolishing kain dan deterjen untuk meningkatkan kelembutan dan kecerahan kain (Shadu dan Maiti, 2013) serta produksi biofuel (Bogati, 2011). Aplikasi enzim selulase di bidang peternakan telah dilakukan untuk peningkatan kualitas bahan pakan ternak. Selulase digunakan untuk meningkatkan kecernaan rumput raja (Prabowo *et al*., 2007), jerami padi (Nur *et al*., 2008), bagas tebu (Rayhan *et al*., 2013), eceng gondok (Riswandi, 2014) dan bahan baku lainnya.

2.1.2 Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas dari enzim selulase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, pH, zat penghambat atau aktivator, kadar substrat dan jenis substrat. Aktivitas enzim selulase akan berlangsung secara optimum jika berada pada kondisi yang optimal sehingga dapat menghasilkan produk yang optimal pula (Nishida *et al*., 2007).

Menurut Sadikin, (2002) jika suhu di bawah batas suhu optimum, maka aktivitas enzim akan rendah. Demikian juga dengan pH, jika dilakukan proses dibawah batas pH optimum maka aktivitas enzim rendah. Hal tersebut terjadi karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah, sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim akibatnya proses katalis tidak dapat berlangsung secara sempurna.

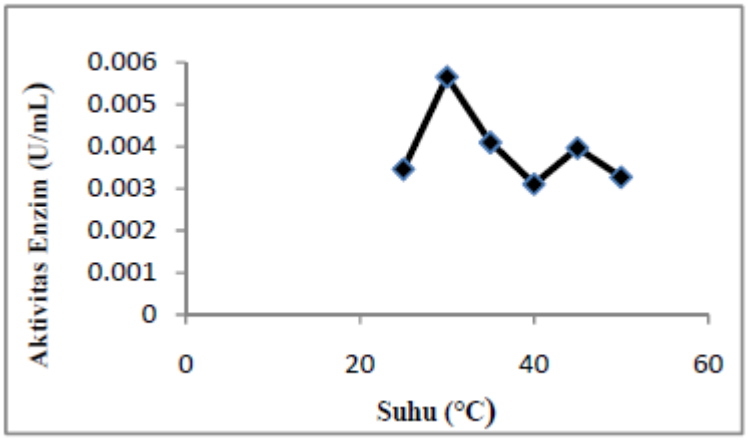
Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas suatu enzim adalah sebagai berikut :

a) Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi aktivitas dari enzim, karena enzim adalah rangkaian asam amino yang konformasinya berkaitan erat dengan suhu lingkungannya. Aktivitas tertinggi dari enzim akan dicapai apabila direaksikan pada suhu optimum. Reaksi enzimatik yang terjadi di bawah suhu optimum akan menyebabkan kakunya struktur protein, sehingga pengolahan substrat tidak optimal dan menyebabkan aktivitas enzim turun. Namun suhu yang diatas batas suhu optimumpun akan mengganggu aktivitas enzim karena menyebabkan rusaknya struktur lipatan protein karena proses denaturasi, sehingga aktivitas enzim menjadi turun (Prima, 2012).

Suhu pada media fermentasi menjadi salah satu faktor yang berpengaruh dalam produksi enzim. Enzim merupakan suatu protein, maka kenaikan suhu dapat

menyebabkan terjadinya proses denaturasi, sehingga bagian aktif enzim akan terganggu, dengan demikian aktivitas enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun (Poedjiadi dan Supriyanti, 2006). Hasil penelitian Sholihati *et al.,* (2015) menunjukkan bahwa salah satu bakteri selulolitik yaitu *Bacillus subtilis* memproduksi enzim selulase dengan aktifitas yang optimum yaitu pada suhu 30ºC dengan nilai aktivitas enzim sebesar 5,6609 x 10^{-3} U/mL, grafik nilai aktifitas enzim terhadap pH dapat dilihat pada Gambar 2.*1* dibawah.



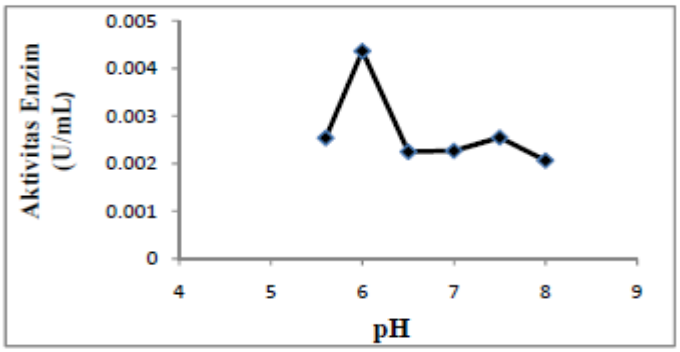
Gambar 2.*1* Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim
(Sumber : Sholihati, 2015)

Suhu memainkan peranan yang sangat penting dalam reaksi enzimatik, dapat dilihat pada gambar 2.*1*. Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik akan bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak, baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat akan bereaksi. Ketika suhu lebih tinggi dari suhu optimum, protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat, menyebabkan enzim terdenaturasi. Suhu yang tidak sesuai substrat dapat berubah konformasinya, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim (Rumiris *et al*., 2012).

b) Derajat Keasaman (pH)

Selain suhu, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh pH. Derajat keasaman (pH) sangat berkaitan dengan keberadaan ion hidrogen. Konsentrasi ion hidrogen

sangat mempengaruhi aktivitas enzim, karena enzim aktif apabila asam amino yang merupakan sisi aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi tepat. (Prima, 2012). Dalam penelitiannya Sholihati *et al.*, (2015) mengatakan bakteri selulolitik *Bacillus subtilis* dapat memproduksi enzim selulase dengan aktifitas yang optimum yaitu pada pH 6,0 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 4,3661 x 10^{-3}, grafik nilai aktifitas enzim dapat dilihat pada Gambar 2.*2* dibawah.



Gambar 2.*2* Pengaruh pH dengan Aktivitas Enzim
(Sumber : Sholihati, 2015)

Berdasarkan Gambar 2.*2* yang merupakan hasil pengujian aktivitas enzim diperoleh data variasi pH, bahwa *Bacillus subtilis* cenderung optimum pada pH 6,0 (Sholihati, 2015). Konsentrasi ion hidrogen yang ada akan mempengaruhi struktur dimensi enzim dan aktivitas enzim. Setiap enzim memiliki pH optimum di mana pada pH tersebut memiliki struktur tiga dimensinya paling efektif dalam mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional. Selain itu, pH rendah atau tinggi menyebabkan enzim terdenaturasi yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Poedjiadi dan Supriyanti, 2006).

c) Konsentrasi Enzim

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim akan tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim (Poedjiadi dan Supriyanti, 2006).

d) Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat yang rendah hanya dapat menampung sedikit substrat pada bagian aktif enzim. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim substrat makin besar sehingga menyebabkan semakin besar kecepatan reaksi. Pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif telah dipenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam hal ini, bertambah besarnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks enzim tersebut, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar (Poedjiadi dan Supriyanti, 2006).

e) Inhibitor

Kerja suatu enzim dapat terhalang oleh zat lain. Zat yang dapat menghambat kerja enzim disebut inhibitor. Ketika inhibitor berikatan dengan enzim maka akan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzimatis. Zat penghambat atau inhibitor ini dapat menghambat kerja enzim untuk sementara atau secara tetap. Inhibitor (hambatan) enzim dibagi menjadi dua, yaitu inhibitor reversibel dan inhibitor ireversibel (Poedjiadi dan Supriyanti, 2006).

Produk akhir juga dapat menjadi salah satu faktor yang dapat menghambat kerja enzim, hal tersebut dikarenakan adanya *feed back inhibition* dari glukosa sehingga dapat menghambat aktivitas enzim selulase. Molekul glukosa yang menjadi produk akhir dari enzim selulase, dapat menempel pada sisi alosterik enzim sehingga sisi aktif enzim selulase tidak dapat ditempati oleh substrat selulosa (Simanjuntak *et al*., 2010).

2.1.3 Penghasil Enzim Selulase

Enzim selulase dapat diproduksi oleh mikroorganisme antara lain bakteri maupun jamur. Terdapat beberapa karakteristik enzim selulase yang berasal dari berbagai jenis mikroorganisme, menunjukkan karakteristik enzim selulase yang berbeda-beda. Perbedaan karakteristik tersebut disebabkan karena isolat dan strain

bakteri yang berbeda (Alam *et al*., 2013). Mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerjasama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan (1,4)-ß-D glukosa pada selulosa (Saratale, 2012).

Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme bakteri lebih banyak diunggulkan karena memiliki tingkat pertumbuhan yang relatif cepat, mudah dan enzim yang dihasilkanpun tinggi (Yusak, 2004).

2.2 Limbah Jerami Padi (*Oryza sativa*, Linn.)

Padi merupakan tanaman semusim, termasuk dalam golongan rumput-rumputan, berasal dari genus Oryza, famili Graminae (Poaceae) dan salah satu spesiesnya adalah *Oryza sativa,* L (Siregar, 1981). Beras menjadi makanan pokok lebih dari 95% bagi penduduk Indonesia. Bercocok tanam padi dapat menyediakan lapangan pekerjaan bagi spetani desa sehingga dari sisi ketahanan pangan nasional, padi ini menjadi suatu nilai yang sangat penting dan strategis (Balitpa, 2009).

Jerami adalah hasil samping dari usaha pertanian berupa tangkai dan batang tanaman serealia yang telah kering, setelah biji-bijiannya dipisahkan. Jerami memiliki berbagai manfaat, diantaranya sebagai bahan bakar, pakan ternak, alas atau lantai kandang. Pemanfaatan jerami padi sebagai pakan baru mencapai 31-39%, sedangkan yang di bakar atau di kembalikan ke sawah sebagai pupuk 36-62% seperti pada Gambar 2.*3*, dan sekitar 7-16% digunakan untuk keperluan industri. (Santoz, 2013).

Gambar 2.*3* Limbah Jerami padi
(Sumber : Kerstin, 2018).

Menurut Tjitrosoepomo 2004, klasifikasi tanaman padi adalah sebagai berikut.

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledoneae
Ordo	: Poales
Familia	: Graminae
Genus	: *Oryza*
Species	: *Oryza sativa* L.

Jerami padi merupakan sisa dari tanaman yang banyak dihasilkan, karena Indonesia merupakan negara agraris yang menjadikan beras sebagai bahan pangan pokok di sebagian besar wilayah di Indonesia. Jerami padi adalah bagian batang dan tangkai dari tanaman padi setelah butir-butir buahnya dipanen. Jerami padi mengandung 37,71% selulosa; 21,99% hemiselulosa; dan 16,62% lignin. Kandungan selulosa yang cukup tinggi pada jerami padi ini dapat dimanfaatkan dalam berbagai kegiatan (Dewi,2002).

Jerami memiliki kandungan nutrisi yang rendah, selain itu jerami padi juga termasuk pakan hijauan yang sulit dicerna karena kandungan serat kasarnya sangat tinggi. Daya cerna yang rendah itu terutama disebabkan oleh struktur jaringan jerami yang sudah tua. Jaringan-jaringan pada jerami telah mengalami proses llignifikasi (pengerasan) sehingga terbentuk lignoselulosa dan lignohemiselulosa. (Santoz, 2013).

Jerami padi yang merupakan limbah pertanian memiliki kandungan selulosa cukup tinggi, memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme untuk memproduksi enzim selulase. Jerami padi mempunyai potensi besar sebagai substrat dalam produksi enzim selulase yang digunakan secara luas dalam industri karena kandungan selulosanya yang tinggi dan keberadaannya yang sangat melimpah di Indonesia. Menurut Biro Pusat Statistik (BPS) 2013 luas panen produksi tanaman padi di Indonesia adalah 13835252 ha. Badan Pusat Statistik juga menyebutkan bahwa produksi padi meningkat setiap tahunnya dan pada tahun 2017 mencapai 81,38 juta ton padi yang dihasilkan (Databoks, 2018).

2.3 Lignoselulosa

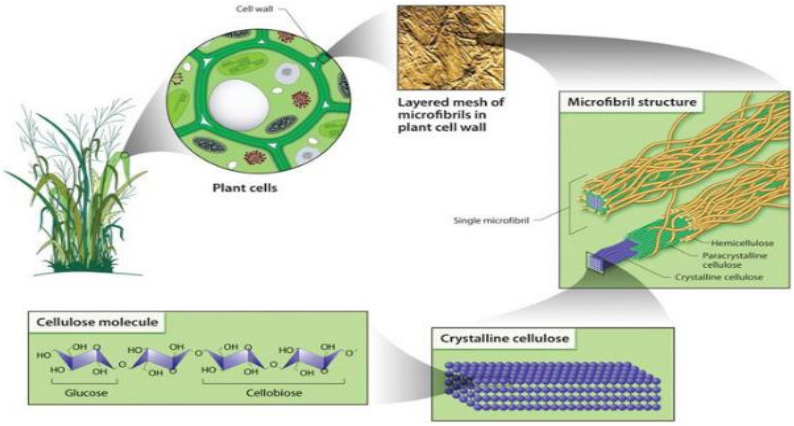
Lignoselulosa merupakan suatu materi organik yang menjadi komponen utama dari tanaman. Lignoselulosa terdiri dari tiga komponen utama, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Terdapat beberapa komponen lain yang terkandung dalam lignoselulosa diantaranya yaitu abu, protein, dan pectin. Kadar ketiga komponen minor dari lignoselulosa ini berbeda-beda sesuai dengan sumber dari lignoselulosanya (Dasthban, 2009). Bahan lignoselulosa dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti jerami padi, tangkai kayu, daun, rumput, dan sebagainya.

Lignin berfungsi dalam mengikat sel-sel tanaman satu dengan lainnya dan sebagai pengisi dinding sel sehingga dinding sel tanaman menjadi keras dan kaku. Lignin merupakan heteropolimer amorf yang terdiri dari tiga unit fenilpropan (p-coumaryl, coniferil dan sinapyl alkohol) yang terikat dengan ikatan yang berbeda. Fungsi utama lignin yaitu memperkuat struktur tanaman dalam menahan terhadap serangan mikroba dan tekanan oksidasi (Hendriks dan Zeeman, 2009). Berbagai produk nilai tambah dari limbah lignoselulosa diantaranya yaitu digunakan sebagai pupuk organik, bioetanol, biogas, biodiesel, biohidrogen, dan industri kimia (Anindyawati, 2010).

2.4 Selulosa

Selulosa merupakan komponen utama penuyusun dinding sel pada tanaman. Jumlah selulosa sangat berlimpah di alam sebagai sisa tanaman atau dalam bentuk sisa dari pertanian seperti jerami padi, kulit jagung, gandum, kulit tebu, dan tumbuhan lainnya (Han dan Chen, 2007). Komposisi selulosa dari total penyusun dinding sel tumbuhan berkisar antara 35-50% (Koolman, 2001). Unit penyusun selulosa adalah selobiosa karena unit keterulangan dalam molekul selulosa adalah dua unit gula (D-glukosa). Selulosa adalah senyawa polisakarida (C6H12O6)n yang dapat diturunkan sehingga menghasilkan glukosa (C6H12O6). Glukosa yang dihasilkan dalam penguraian ini dapat digunakan sebagai berbagai bahan dasar suatu produk (Summerscales *et al*., 2010)..

Di alam, selulosa berikatan dengan lignin dan hemiselulosa yang membentuk bagian-bagian tanaman seperti kayu, batang daun dan lainnya. Selulosa termasuk homopolimer linier dengan monomer berupa D-anhidroglukosa yang saling berkaitan dengan ikatan β-1,4-glikosidik (Sari *et al*., 2019). Secara alamiah molekul-molekul selulosa tersusun dalam bentuk fibril-fibril yang terdiri dari beberapa molekul selulosa yang dihubungkan dengan ikatan glikosidik. Fibril-fibril ini membentuk struktur kristal yang dibungkus oleh lignin, seperti pada Gambar 2.*4* dibawah. Komposisi kimia dan struktur yang demikian membuat kebanyakan bahan yang mengandung selulosa bersifat kuat dan keras (Ganguly *et al*., 2012).

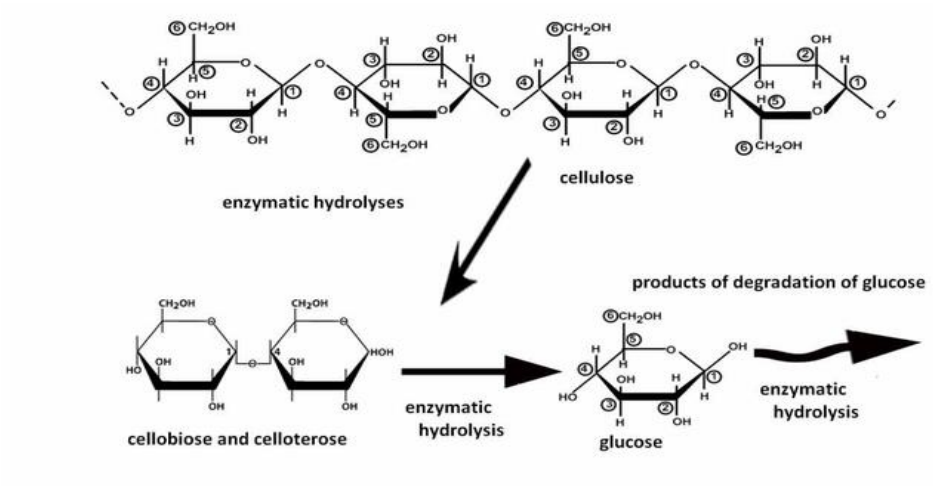


Gambar 2.*4* Skema Dinding Sel Selulosa dan Susunan Serat Mikro
(Sumber : Siqueira, 2010).

Rantai selulosa terdiri dari satuan glukosa anhidrida yang saling berikatan melalui atom karbon pertama dan ke empat. Ikatan yang terjadi adalah ikatan ß-1,4-glikosidik.. Selulosa merupakan biomassa yang paling berlimpah di alam. Selobiosa merupakan monomer dari selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa (Ganguly *et al*., 2012). Selulosa suatu polimer alami yang bersifat dapat didegradasi dan terbarukan (Haryono *et al*., 2010). Selulosa juga dapat digunakan sebagai bahan baku dalam proses pembuatan protein sel tunggal (Parama *et al*., 2013). Selulosa memiliki ciri pada kekuatan mekanisnya yang tinggi, daya tahannya tinggi terhadap zat-zat

kimia dan relative tidak larut dalam air. Selulosa dapat dihidrolisis dengan enzim selulosa (Selulase) (Kusnandar, 2010).

Degradasi merupakan suatu reaksi perubahan kimia atau penguraian suatu senyawa menjadi senyawa yang lebih sederhana. Misalnya, penguraian polisakarida selulosa menjadi monosakarida (glukosa). Proses penguraian selulosa secara alami memerlukan bantuan mikroorganisme (bakteri selulolitik) yang mengeluarkan enzim selulase. Proses degradasi dapat dibantu oleh enzim seperti enzim selulase yang dapat menghidrolisis selulosa seperti pada Gambar 2.5.



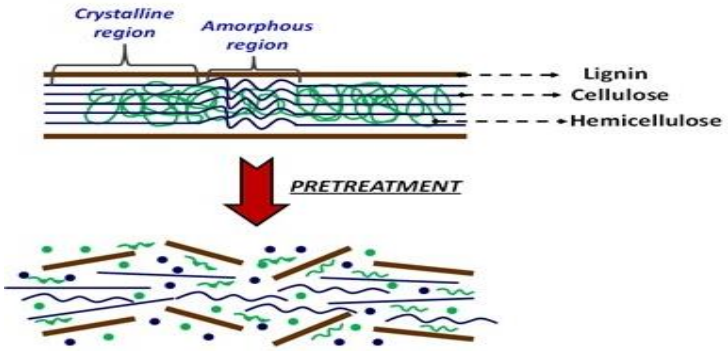
Gambar 2.5 Mekanisme Hidrolisis Selulosa Oleh Enzim

(Sumber : Tomas *et.al*., 2010)

Selulosa yang dihidrolisis oleh enzim selulase akan memotong ikatan 1,4 β-glukosida pada rantai panjang selulosa. Selulosa pada lingkungan aerobik akan terurai menjadi glukosa dan karbondioksida yang akan bergabung ke dalam sel yang sedang tumbuh, sedangkan selulosa pada lingkungan anaerobik akan terurai menjadi alkohol dan asam organik (Prihatiningrum, 2002). Proses degradasi selulosa dapat dilakukan secara enzimatik dengan bantuan mikroorganisme. Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa dan memiliki kelimpahan terbanyak di alam dibanding mikroorganisme lainnya (Hasibuan, 2009).

2.5 Pretreatment Jerami Padi

Pemanfaatan dari lingoselulosa membutuhkan tahapan awal atau *pretreatment*. Proses *pretreatment* dilakukan karena pada lignoselulosa terdapat kandungan lignin dan hemiselulosa yang membentuk struktur kuat yang terbentuk dari ikata kovalen antar ligin dan hemiselulosa yang melindungi selulosa dan mengakibatkan selulosa sulit untuk dihidrolisis (Awatshi *et al*., 2013). Proses *pretreatment* pada bahan yang mengandung lignoselulosa juga dilakukan untuk memudahkan proses hidrolisis yaitu proses membuka strukur lignoselulosa yang terdapat pada bahan, agar selulosa menjadi lebih mudah dijangkau oleh enzim yang akan memecah polimer polisakarida menjadi bentuk monomer, sehingga proses *pretreatment* ini dapat mengurangi penggunaan enzim dan bisa menghemat biaya (Dashtban *et al*., 2009). Proses awal ini dapat memudahkan untuk proses konversi bahan selulosa yang dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti kimia, fisika, dan biologi. Pada proses ini juga bertujuan untuk memisahkan selulosa dari ikatan lignin-hemiselulosa dan mengurangi kristal selulosa seperti pada Gambar 2.*6* (Balan *et al*., 2009). Proses *pretreatment* ini berperan dalam meningkatkan aksesibilitas enzim selulase dan hemiselulase dalam proses menghidrolisis komponen selulosa dan hemiselulosa (Wan dan Li, 2012).



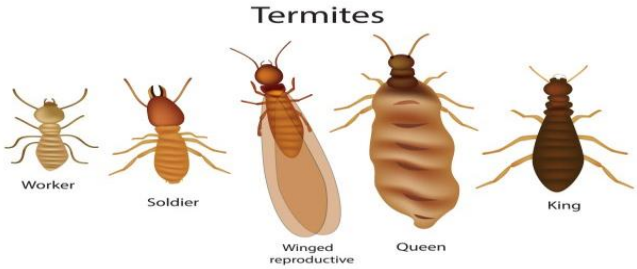
Gambar 2.*6* Proses *Pretreatment* pada Lignoselulosa
(Sumber : Ileana, 2014)

Jenis *pretreatment* yang sering dilakukan pada substrat jerami padi yaitu *pretreatment* menggunakan bahan-bahan kimia ataupun *pretreatment* dengan

kombinasi bahan kimia dan perlakuan panas atau bisa disebut dengan kombinasi kimia-fisika. Proses delignifikasi dengan cara kimia dapat dilakukan menggunakan bahan asam, basa ataupun keduanya (Novian *et al*., 2018). Proses *treatment* akan meningkatkan efisiensi dari proses hidrolisis dengan cara memperluas permukaan kontak substrat dengan enzim (Mergner *et al*., 2013). Metode *pretreatment* dengan dengan menggunakan basa akan dapat meningkatkan efektifitas proses hidrolisis enzimatis karena dapat meningkatkan akesibilitas suatu enzim pada permukaan selulosa (Remli *et al*., 2014). Lignin akan larut pada larutan alkali encer, sehingga digunakan larutan NaOH yang dapat merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan bagian amorf, sehingga memisahkan sebagian dari lignin dan hemiselulosa (Gunam *et al.*, 2010). Penggunaan asam seperti H_2SO_4 dilakukan untuk menghilangkan komponen hemiselulosa (Summerscales et al., 2010).

2.6 Rayap Kayu (*Cryptotermes* sp.)

Rayap termasuk ke dalam ordo Isoptera (iso = sama dan ptera = sayap). Rayap merupakan serangga yang berperan penting dalam proses daur ulang nutrisi suatu tanaman melalui proses disintegrasi dan dekomposisi material organik dari kayu mati, ranting dan serasah menjadi material organik yang lebih halus (Bignell *et al*., 2010). Dalam tubuh rayap terdapat bakteri yang dapat mencerna selulosa dalam bentuk kertas filter hingga 65% lebih tinggi bila dibandingkan dengan bakteri dalam tubuh siput, cacing tanah dan ulat bulu (Gupta *et al*., 2012). Rayap merupakan serangga sosial yang memiliki pembagian tugas yang jelas atau dapat juga disebut dengan pembagian kasta seperti pada Gambar 2.*7* dibawah.



Gambar 2.*7* Pembagian Kasta pada Rayap
(Sumber : Ann, 2017)

Berdasarkan kemampuan dalam bereproduktif, rayap terbagi menjadi 2 kasta yaitu, kasta reproduktif dan kasta steril. Kasta reproduktif terdiri dari primer atau sering disebut pendiri koloni yaitu laron (*King* dan *Queen*) dan sekunder yang dapat menggantikan ketika laron sudah mati. Sedangkan kasta steril terdiri dari pekerja (*Worker*) dan prajurit (*Soldier*). Pekerja yang bertugas untuk mencari makan dan menjaga telur, jumlah kasta pekerja ini hampir 90% dari jumlah koloni. Sedangkan prajurit bertugas menjaga koloni (Krishna, 1969).

Rayap kayu kering merupakan rayap yang bertempatan dan berada pada kayu mati yang sudah kering. Rayap kayu kering ini termasuk kedalam famili Kalotermitidae dari genus *Cryptotermes*. Indonesia merupakan Negara yang memiliki kondisi iklim yang sesuai bagi rayap tersebut. Rayap kayu kering merupakan jenis rayap yang sangat umum pada daerah tropis seperti dataran rendah Jawa Barat, Kalimantan, Sumatera dan Filipina. Penyebaran rayap ini sangat berkaitan dengan iklim lembab. Rayap kayu kering berkembang dan tumbuh pada kayu dalam keadaan kering. Rayap kayu kering memiliki ciri-ciri berantena 11 segmen dimana segmen kedua lebih panjang dibandingkan segmen lainnya serta kepala berwarna coklat gelap kemerah-merahan (Nandika *et al*., 2003). Rayap *Cryptotermes* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.*8* dibawah.

Berikut merupakan klasifikasi rayap kayu kering (Eric, 2011) :

Regnum	: Animalia
Phyllum	: Arthropoda
Sub Phyllum	: Hexapoda
Classis	: Insecta
Ordo	: Blattodea
Familia	: Kalotermitidae
Genus	: Cryptotermes
Species	: *Cryptotermes* sp.

Gambar 2.*8 Cryptotermes sp.*
(Sumber : Jan dan Cecillia, 2017).

Pencernaan material organik pada rayap ini terjadi di dalam saluran pencernaannya yang terbagi dalam tiga bagian yaitu *forgut, midgut* dan *hindgut*. Bakteri selulolitik yang membantu proses pencernaan selulosa banyak ditemukan didalam *hindgut* rayap atau usus rayap bagian belakang. Lignosellulosa terdegradasi secara optimal didalam *hindgut* rayap karena peran dari bakteri pendegradasi lignoselulosa (Papoola dan Opayele, 2012). Pada jenis rayap yang berbeda, memiliki mikroba pendegradasi lignin dan selulosa yang berbeda pula baik dari jumlah maupun jenis mikroba. Perbedaan ini dikarenakan pola dan kondisi yang cocok bagi bakteri selulolitik.

Mikroba berperan penting dalam fungsi fisiologi tubuh rayap. Rayap yang mengkonsusmsi kayu didalam saluran pencernaannya mengandung populasi prokaryot dan protista berflagel yang dapat mendegradasikan lignin, selulosa dan hemiselulosa untuk difermentasikan. Kemampuan mikroba dalam proses degradasi ini dikarenakan mikroba memiliki enzim selulase. Mikroba di dalam usus rayap merupakan mikroba simbion yang saling berhubungan dengan organisme lain dalam proses pendegradasian lignoselulosa (Berlanga *et al*., 2011).

Saluran pencernaan rayap terdapat mikroba selulolitik yang berperan dalam mendegradasi partikel-partikel kayu menjadi senyawa terlarut yang banyak mengandung selulosa kurang lebih 40-45% bahan kering (Zhu *et al*., 2011).

2.7 Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik merupakan jenis bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi substrat yang mengandung selulosa. Bakteri selulolitik dapat mengubah selulosa menjadi gula yang lebih sederhana untuk digunakan sebagai sumber karbon dan energi bagi metabolisme dan pertumbuhannya. Kemampuan ini disebabkan bakteri dapat memproduksi enzim selulase (Zhang dan Zhang, 2013). Selulolitik sendiri berarti proses pemecahan selulosa menjadi senyawa atau unit-unit glukosa yang lebih kecil. Beberapa genus bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik adalah *Achromobacter, Angiococcus, Bacillus, Cellulomonas, Cytophaga, Clostridium, Cellivibrio, Flavobacterium, Pseudomonas, Poliangium, Sorangium, Sporocytophaga, Vibrio, Cellfalcicula* (Rao, 1994), *Citrobacter, Serratia, Klebsiella, Enterobacter* dan *Aeromonas* (Anand *et al*., 2009).

Bakteri selulolitik dipilih sebagai salah satu mikroba yang dapat mendegradasi selulosa karena memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat dibanding dengan kelompok mikroba lainnya, sehingga waktu yang dibutuhkan dalam melakukan proses produksi enzim menjadi lebih singkat (Baharuddin *et al*., 2010). Beragamnya variasi genetik kelompok bakteripun menjadi keunggulan dibandingkan dengan mikroba lain karena dengan keragaman tersebut memungkinkan dilakukannya rekayasa genetika untuk optimasi produksi maupun aktivitas enzim selulasenya (Alam *et al*., 2004).

Bakteri selulolitik dapat mendegradasi molekul komplek pada substrat tidak larut dalam air dengan menggunakan berbagai enzim melalui berbagai cara dalam memutuskan bagian yang berbeda di dalam substrat. Pemanfaatan bakteri selulolitik sebagai penghasil enzim selulase digunakan untuk menghidrolisis selulosa karena bakteri tersebut menghasilkan enzim selulase sebagai respon terhadap adanya selulosa pada lingkungannya. Proses perombakkan secara enzimatis terjadi dengan adanya enzim selulase sebagai agen perombak yang bersifat spesifik untuk menghidrolisis ikatan β-(1,4)-glikosidik, rantai selulosa dan derivatnya (Ambriyanto, 2010). Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa,

sedangkan hidrolisis tidak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yaitu selobiosa (Fan et al., 1982).

2.8 Fermentasi SmF (*Submerged Fermentation*)

Fermentasi merupakan teknik dari konversi secara biologi dimana mengubah substrat kompleks menjadi senyawa sederhana menggunakan bermacam-macam mikroorganisme. Teknik fermentasi sudah banyak digunakan oleh industri untuk memproduksi enzim selulase. Seiring berjalannya waktu, teknik fermentasi berkembang mengikuti kebutuhan ekonomi dan kemajuan lingkungan. Kemajuan ini menghasilkan dua teknik fermentasi yaitu SSF (*Solid State Fermentation*) dan SmF (*Submerged Fermentation*) (Sadhu dan Maiti, 2013).

Submerged Fermentation (SmF) merupakan salah satu metode fermentasi dengan menggunakan substrat cair. Penambahan maupun penggantian nutrisi dalam media *Submerged Fermentation* (SmF) berjalan kontinyu. Teknik fermentasi ini paling cocok untuk mikroorganisme seperti bakteri yang membutuhkan kadar air yang tinggi (Alegre, 2009). Produksi enzim dengan metode fermentasi terendam ini sudah lama digunakan dibandingkan fermentasi dalam keadaan padat belakangan ini. Terdapat berapa keuntungan dalam menggunakan fermentasi jenis ini, diantaranya karena system fermentasi jenis ini lebih mudah untuk direkayasa oleh para peneliti karena kemudahan kontrol dalam proses. Selain itu, produksi enzim dapat bersifat konstitutif atau diinduksi dan menunjukkan pola produksi yang berbeda, tergantung pada strain dan kondisi kultur (Vidhyalaksmi *et al.*, 2009).