

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Feses Kambing

Kambing yang tersebar luas di daerah tropis dan subtropis memiliki kemampuan beradaptasi pada berbagai lingkungan dengan baik dan tersebar luas diberbagai wilayah di Indonesia. Kegunaan kambing biasanya diambil dagingnya, selain itu juga mempunyai manfaat sebagai tabungan hidup, penghasil biogas, dan Fesesnya dibuat pupuk kandang (Devendra dan Burns, 1994).

Kambing merupakan ternak yang sangat bermamfaat bagi kehidupan kita. Yang mana dalam Al-Quran disebutkan beberapa manfaatnya kepada manusia,. Beberapa manfaat kambing ternak telah dijelaskan dalam beberapa ayat dalam Al-Quran seperti surat An-Nahl ayat 5. Dalam surat ini dijelaskan bahwa Allah telah menciptakan binatang ternak untuk diambil manfaatnya

وَاللّٰهُمَّ خَلَقَهَا لَكُمْ فِيْهَا دِفْءٌ وَمَنْفَعٌ وَمِنْهَا تَأْكُلُوْنَ

Artinya : ” Dan dia Telah menciptakan binatang ternak untuk kamu; padanya ada (bulu) yang menghangatkan dan berbagai-bagai manfaat, dan sebahagiannya kamu makan ” (QS : An-Nahl (16) : 5)

Dari ayat di atas, yang mana dalam surat An-Nahl ayat 5, kita dapat mengambil manfaatnya seperti bulu yang bisa kita gunakan untuk menghangatkan dan sebahagiannya kita makan. Ayat lain yang membahas tentang manfaat hewan adalah surat Al-Hajj ayat 28 :

لِيَشْهَدُوا مَنَفَعَهُمْ وَيَذْكُرُوا اسْمَ اللَّهِ فِي أَيَّامٍ مَّعْلُومَةٍ عَلَىٰ مَا رَزَقَهُمْ مِّنْ
بَهِيمَةٍ الْأَنْعَامِ فَكُلُوا مِنْهَا وَأَطْعِمُوا الْبَائِسَ الْفَقِيرَ ۝

Artinya : “Supaya mereka menyaksikan berbagai manfaat bagi mereka dan supaya mereka menyebut nama Allah pada hari yang Telah ditentukan atas rezki yang Allah Telah berikan kepada mereka berupa binatang ternak Maka makanlah sebahagian daripadanya dan (sebahagian lagi) berikanlah untuk dimakan orang-orang yang sengsara dan fakir ” (QS: Al-Hajj ayat (22):28) .

Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi serta kecerdasan manusia yang terus bertambah maka manusia terus menggunakan dan memanfaatkan hal-hal selain di atas tadi, yaitu memanfaatkan Feses hewan. Karena Feses hewan juga ciptaan Allah sehingga manusia harus berpikir tentang manfaat Feses hewan yang mengandung zat-zat hara yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Feses kambing termasuk dalam sampah organik karena sebagian besar tersusun oleh senyawa-senyawa organik. Bahan organik yang terkandung di dalam feses kambing berasal dari sisa-sisa tanaman atau bahan lainnya yang menyusun di dalamnya yang telah dirombak dan dihancurkan dalam saluran pencernaan ruminansia tersebut (Waluyo, 2009).

Tekstur dari Feses kambing adalah sangat khas, karena berbentuk butiran-butiran yang agak sukar dipecah secara fisik sehingga berpengaruh terhadap proses dekomposisi dan proses penyediaan haranya, feses kambing juga mempunyai nilai C/N pada umumnya masih diatas 30, sebenarnya feses yang baik mempunyai rasio C/N kurang dari 20, sehingga Feses kambing akan lebih baik penggunaannya bila dikomposkan terlebih dahulu (Widowati *et al*, 2005). Feses

kambing mempunyai kandungan N yang tinggi dan kadar airnya rendah. Oleh karena itu proses pelapukannya cepat, sehingga lebih cepat matang. Keadaan demikian merangsang jasad renik melakukan perubahan-perubahan aktif, sehingga perubahan berlangsung dengan cepat (Djoehana, 1986).

Feses kambing mempunyai kandungan bahan organik berserat berupa selulosa yang cukup tinggi, berdasarkan hasil analisis bahwa Feses kambing mengandung beberapa bahan organik penting lainnya seperti hemiselulosa, lignin, karbon, dan nitrogen. Secara umum pupuk kandang yang berasal dari Feses kambing yang telah dibuat kompos mengandung 1,85 % N, 11,3 % C/N, 1,14 % P, 2,49 K (Nurtjahya, 2003).

Salah satu ternak yang cukup berpotensi sebagai sumber pupuk organik adalah kambing. Feses kambing mengandung bahan organik dan nitrogen berturut-turut 40-50% dan 1,2-2,1%. Kandungan tersebut bergantung pada bahan penyusun ransum, tingkat kelarutan nitrogen pakan, nilai biologis ransum dan kemampuan ternak untuk mencerna ransum. Produksi urin kambing dan domba mencapai 0,6-2,5 l/hari dengan kandungan nitrogen 0,51-0,71%. Variasi kandungan tersebut tergantung pada pakan yang dikonsumsi, tingkat kelarutan protein kasar pakan, serta kemampuan ternak untuk memanfaatkan nitrogen asal pakan (Nurtjahya, 2003).

Tabel 2.1. Komposisi Pada Feses Kambing

No	Komposisi	Feses Kambing
1.	Kadar Air	64 %
2.	Bahan Organik	31 %
3.	Karbon	46,51 %

4.	Posfat	0,67 %
5.	Nitrogen	1,41
6.	Kalium	0,75
7.	Rasio C/N	32,98 %

Sumber : Pinus Lingga (2001).

Feses kambing yang tersusun dari feses, urin dan sisa pakan mengandung nitrogen lebih tinggi dari pada yang hanya berasal dari feses. Feses kambing mengandung bahan organik yang dapat menyediakan zat hara bagi tanaman melalui proses penguraian. Proses ini terjadi secara bertahap dengan melepaskan bahan organik yang sederhana untuk pertumbuhan tanaman. Feses kambing mengandung sedikit air sehingga mudah diurai. Penggunaan Feses ternak dalam bentuk kompos sebagai pupuk organik akan memperbaiki struktur dan komposisi hara tanah. Tanah olahan yang diberi kompos menjadi lebih gembur, mengandung cukup hara, serta mampu mengikat dan menyimpan air (Djoehana, 1986).

Feses kambing dalam konsentrasi 160-170 gram perliter aquades dapat digunakan sebagai sumber mikroba pengganti cairan rumen. Konversi serat kasar pakan menjadi produk pada ruminansia yang dipelihara intensif belum optimal, karena hanya 10-35% energi dari serat kasar yang dapat dimanfaatkan. Kondisi ini terjadi karena 20% sampai 70%, selulosa tidak tercerna dan keluar bersama feses. Pencernaan serat kasar dalam rumen belum optimal juga dibuktikan berdasarkan kenyataan bahwa kadar serat kasar pada pada feses tinggi dan proses fermentasi tetap berlangsung (Krause et al, 2003).

2.2 Bakteri Selulolitik

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup, sedangkan pencarian dan pemanfaatannya tergantung dari manusia. Isyarat adanya makhluk hidup yang lebih kecil telah difirmankan oleh Allah SWT dalam QS. Al-Baqarah (2) : 26.

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: *Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu [33]. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik (QS. Al-Baqarah (2):26).*

Ibnu Katsir menafsirkan bahwa kata *فما فوقه* (yang lebih rendah dari itu), menunjukkan bahwa Allah SWT kuasa untuk menciptakan apa saja, yaitu penciptaan apapun dengan obyek apa saja, baik yang besar maupun yang lebih kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu pun yang Dia ciptakan meskipun hal itu kecil. Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam perumpamaan penciptaan yang dilakukan oleh Allah memiliki manfaat bagi kehidupan manusia (Al-Mubarak, 2006).

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: *Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir. (QS. Al-Jaatsiyah 45: 13).*

Ayat di atas menunjukkan bahwa manusia dapat memanfaatkan segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT, termasuk bakteri untuk kemaslahatan kehidupan manusia. Para ahli bahasa menerangkan bahwa kata *سخر* memudahkan atau *menundukkan* pada ayat di atas ialah sesuatu yang dapat kita tundukkan atau kita taklukkan yang berarti memudahkan (menundukkan) segala isi alam semesta untuk kepentingan manusia. Karena di dalam alam semesta dilangit dan dibumi, tidak ada sesuatu pun yang sukar untuk dipergunakan oleh manusia itu, asal saja ia suka menggunakan akal fikrian serta ilmu pengetahuannya dan suka mengusahakan untuk diambil manfaatnya, serta mengerti bagaimana mengembangkan kebaikan-kebaikan yang berasal dari benda tersebut (Assiba'i, 1993).

Jika dilihat dari sistem taksonomi, bakteri selulolitik merupakan makhluk hidup yang berada pada sistem yang paling rendah yang tidak dapat diamati. Sehingga jelaslah bahwa Allah SWT selain menciptakan makhluk yang dapat dilihat secara langsung, juga menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup yang tidak dapat dilihat secara langsung atau lebih kecil. Bakteri selulolitik adalah

kelompok jasad renik yang memiliki kemampuan mendegradasikan selulosa menjadi senyawa dengan berat molekul yang lebih kecil seperti selobiosa dan glukosa (Thayer, 1978).

Bakteri selulolitik merupakan bakteri pencerna selulosa dengan produk akhir suksinat dan asetat. Bakteri selulolitik akan menempel pada fragmen substrat dan mengeluarkan enzim yang dapat memotong ikatan molekul selulosa, memindahkan ikatan samping, menghidrolisis selulosa dan menghasilkan fragmen oligosakarida, selubiose dan disakarida yang larut. Selubiose yang digunakan oleh bakteri yang menghasilkannya maupun oleh mikroorganisme yang lain yang tidak dapat merombak selulosa (Weimer, 1996). Secara umum mikroorganisme yang berasosiasi dengan bakteri selulolitik tergantung pada karbohidrat yang terlarut (Miron dan Ghedalia, 1996).

Bakteri selulolitik ditumbuhkan pada media agar berbasis serat sebagai sumber selulosa seperti CMC (*Carboxymethyl cellulose*). Jumlah koloni bakteri selulolitik menurun seiring dengan bertambahnya waktu. Perubahan media dari cair ke padat dengan kadar air terbatas, sekitar 20 % diduga merupakan faktor utama penyebab penurunan populasi bakteri, tetapi bakteri selulolitik mampu hidup dalam media padat walaupun dalam kepadatan rendah (Cruch, 1988).

Enzim selulase sangat aktif memutuskan turunan selulosa yang dapat larut (selulosa amorf) seperti CMC (*Carboxymethyl cellulose*) menghasilkan selodekstrin, selobiosa dan glukosa. CMC-ase merupakan salah satu komponen kompleks enzim selulase yang menyerang secara acak bagian dalam struktur selulosa. Aktivitas CMC-ase pada koloni bakteri selulolitik pada media CMC-agar

membentuk zona bening di bawah dan sekitar koloni menunjukkan adanya mikroba selulolitik (Thorm *et al*, 1996). Bakteri perombak selulosa secara ekstraseluler karena selulosa tidak larut air. Mikrobia memproduksi dua tipe sistem kerja enzim ekstraseluler (Peres *et al.*, 2002) :

1. Sistem hidrolitik, yaitu dengan cara menghasilkan enzim hidrolase yang bekerja merombak selulosa dan hemiselulosa, dan
2. Sistem oksidatif yang bersifat lignolitik dan sekresi lignase ekstraseluler dengan cara depolimerisasi lignin. Mikroba memproduksi enzim ekstraseluler untuk depolimerasi senyawa yang berukuran besar menjadi kecil dan larut dalam air (substrat bagi bakteri)

Pengaruh temperatur atau suhu dalam hidrolisis selulosa sangat penting. Hidrolisis selulosa oleh bakteri aerob memiliki suhu optimum antara 20-30°C, sedangkan bakteri anaerob tumbuh dengan baik pada suhu 37°C. Bakteri selulolitik termofilik tumbuh optimum pada suhu 50-65°C (Sutedjo *et al*, 1991)

Mikroorganisme pendegradasi selulosa ditemukan di berbagai ekosistem. Enzim selulosa dapat dihasilkan oleh berbagai bakteri dan fungi, aerob dan anerob, mesofil dan termofil. Fungi aerob yang dapat mendegradasi selulosa diantaranya adalah *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesi*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulvelentum*, *Fusarium solani*, *Tolaromyces emersonii*, dan *Trichoderma koningii*. Hanya sedikit mikroorganisme yang digolongkan ke dalam kelompok seperti fungi termofilik aerobik (*Sporotrichum thermophile*, *Thermoascus aurantiacus*, *Chetomium thermophile*, *Humicola insolens*), fungi

mesofil anaerobik (*Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, *Sphaeromonas communis*) (Bhat, and Bhat, 1997).

Bakteri selulolitik yang menghasilkan enzim selulosa, yaitu Bakteri mesofilik dan termofilik aerobik (*Cellulomonas* sp, *Celvibrio* sp, *Microbispora bispora*, *Thermomonospora* sp), bakteri mesofilik dan termofilik anaerobik (*Acentivibrio cellulolyticus*, *Bacteriodes cellulosovent*, *Bacteriodes succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* dan *Clostridium thermocellum*). Bakteri pendegradasi selulosa termofil dapat menghasilkan enzim selulase yang relatif stabil (tahan pada kondisi asam atau basa dan pada suhu tinggi hingga 90°C) (Bhat, and Bhat, 1997).

Tabel 2.2. Mikroba Pendegradasi selulosa

Organism Pendegradasi Selulosa	Sumber	Jumlah koloni
<i>Clostridium thermocellum</i>	Nonruminanl	0.16
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Ruminal	0.08
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Ruminal	0.07
<i>Ruminococcus albus</i>	Ruminal	0.05
<i>Cellulomonas uda</i>	Nonruminanl	0.006
<i>Cellulomonas flavigena</i>	Nonruminanl	0.027
White-rot fungi (5 species)	Nonruminanl	< 0.002
Brown-rot fungi (8 species)	Nonruminanl	< 0.004

(Weimer *et al.*, 1999)

Organisme dapat mendegradasi selulosa dan menjadikan selulosa sebagai sumber karbon tunggal yang secara ekologi menjadi sangat penting, dan sebagian besar proses degradasi selulosa terjadi dalam keadaan aerob. Hanya 5-10%

degradasi yang berlangsung secara anaerob. Bakteri selulolitik yang ditemukan terdapat pada filum *Thermotogae*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, *Firmicutes*, *Fibrobacteres* and *Bacteroides*. Diperkirakan 80% isolat yang diperoleh ditemukan pada filum *Firmicutes* dan *Actinobacteria* dan mayoritas bakteri pendegradasi selulolitik Gram positif masuk ke dalam kelas *Clostridia* dan genus *Clostridium* yang termasuk ke dalam Filum *Firmicutes* (Levin *et al.*, 2009).

Peran mikrobial selulolitik menjadi penting karena dapat menjaga keseimbangan unsur-unsur yang ada di alam. Bakteri selulolitik ditemukan di berbagai ekosistem. Contoh bakteri selulolitik adalah *Cellulomonas* sp., *Cellulivibrio* sp., *Microbispora bispora*, *Cytophaga* sp., *Thermomonospora* sp., *Acentivibrio cellulolyticus*, *Bacteriodes cellulosolvent*, *Bacteriodes succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* dan *Clostridium thermocellum*. (Bhat and Bhat, 1997).

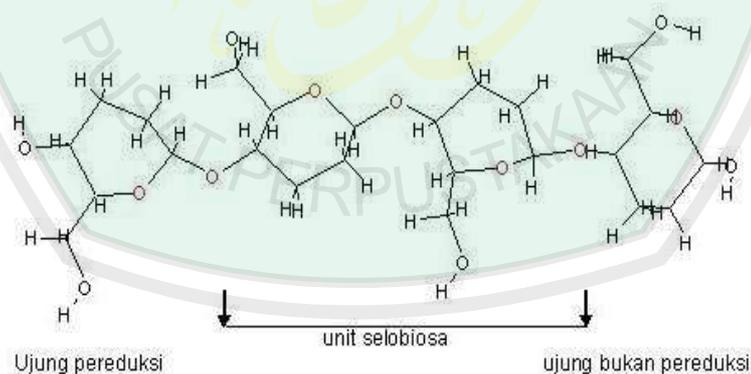
Kondisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri selulolitik tidak hanya bergantung pada kondisi media tersebut, tetapi kondisi pengudaraan (aerasi) juga sangat menentukan. Suatu metode untuk memperoleh kondisi pertumbuhan yang ideal, yaitu menuangkan media dalam erlenmeyer atau tabung reaksi dalam lapisan tipis saja (tidak lebih dari 1-2 cm) kemudian menginkubasikan di atas alat pengocok (*shaking incubator*) (Weimer, 1996)

Faktor pH medium pertumbuhan menentukan jenis mikroba selulolitik yang dominan. Pada medium dengan pH 6,5-7,0 populasi mikroba yang mendominasi adalah *vibrio* dan jamur. Pada medium agak asam pH 5,7-6,2 mikroba yang dominan adalah *vibrio* dan *Cytophaga*. Pada medium asam dengan

pH 5,5 didominasi oleh jamur berfilamen. Pada medium sedikit basa dengan pH 7,1-7,6 merupakan pH optimum untuk bakteri *vibrio*. Sedangkan *Cytophaga* membutuhkan medium dengan pH basa dalam proses degradasi selulosa (Alexander, 1976).

2.3 Selulosa

Selulosa ($C_6H_{10}O_5$) adalah senyawa polisakarida yang paling melimpah di alam dan ditemukan pertama kali sekitar tahun 1838. Senyawa ini menjadi komponen penyusun utama bagi dinding sel tanaman (Ekawati, 2003). Selulosa memiliki struktur molekul linier tak bercabang dengan subunit glukosa yang dirangkaikan oleh ikatan β -1,4-glukosida. Masing –masing molekul selulosa dibentuk oleh lebih dari 10000 D-glukosa sehingga berat molekulnya mencapai $1,8 \cdot 10^6$ D (Weimer dkk, 1996).



Gambar 2.1 : Struktur Selulosa

(Thayer, 1978)

Setiap molekul selulosa mengandung tiga tipe unit glukosa yaitu glukosa dengan ujung yang tereduksi (*reducing end*), glukosa yang ujungnya tidak

tereduksi (*nonreducing end*) dan *anhydroglucopyranose*.. Unit monomer *anhydroglucopyranose* adalah molekul selulosa yang mengandung 3 gugus hidroksil primer dan dua gugus hidroksil sekunder. Monomer *nonreducing end* mengandung empat gugus hidroksil dan monomer *reducing end* mengandung gugus *hemiacetal* pada penambahan tiga gugus hidriksil (Palonen, 2004).

Selulosa merupakan penyusun dinding sel tanaman, jumlahnya berlimpah pada tanaman, umumnya memiliki daya cerna yang rendah dibanding bahan nutrisi lain. Hewan ruminansia seperti sapi dan domba tidak memiliki kemampuan mendegradasi selulosa. Selulosa dapat dihidrolisis dengan proses tertentu menjadi glukosa (Campbell, 1994).

Selulosa adalah komponen struktural yang banyak ditemukan pada dinding sel tanaman terestrial dan laut, juga diproduksi oleh beberapa tanaman laut dan bakteri. (Tahyer, 1978). Selulosa adalah polisakarida yang mempunyai fungsi sebagai unsur struktural pada dinding sel tumbuhan tingkat tinggi. Selulosa berbentuk serabut, liat, tidak larut di dalam air, dan ditemukan terutama pada bagian berkayu pada tumbuhan. Selulosa adalah polisakarida terbanyak yang ditemukan pada tanaman.

Selulosa adalah polimer dari glukosa, dengan rumus bangun molekulnya tidak bercabang dan dihubungkan oleh ikatan 1,4 β - glukosida. Panjang gugus glukosa pada polimer selulosa adalah bervariasi antara 2.000-10.000 unit (Fessenden, 1978), bahkan ada yang sampai 14.000 unit glukosa (Thayer, 1978).

Selulosa merupakan komponen yang sangat melimpah di biosfer. Kandungan selulosa pada dinding sel tanaman sekitar 35-50% dari berat kering

tanaman. Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Ikatan β -1,4 glukosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa secara enzimatik (Bhat dan Bhat, 1997).

Tanaman menggunakan sebagian karbohidrat yang terbentuk dari fiksasi CO_2 untuk membuat bahan organik kompleks seperti selulosa, yang merupakan polimer dari glukosa yang tidak larut dalam air. Tanaman secara normal mengandung selulosa sebanyak 40-50%, komponen penyusun lainnya adalah lignin (20-30%) dan hemiselulosa (10-30%). Ketika tumbuhan mati secara alami selulosa, hemiselulosa dan lignin akan didegradasi oleh mikroorganisme tanah (Pelezar, 1993).

Selulosa terdapat di alam dalam bentuk amorf dan kristalin yang bersifat tidak larut (Schwarz, 2001). Salah satu contoh selulosa yang dapat larut adalah *Carboxymethyl cellulose* (CMC). CMC adalah turunan dari selulosa yang mengikat karboksimetil ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) pada gugus hidroksi glukopiranos. Senyawa ini dibentuk melalui reaksi alkali dan kloroasetat (Wikipedia, 2007).

Titik pusat pendegradasian selulosa terletak pada pecahnya ikatan 1,4 β -glukosida. Pecahnya ikatan 1,4 β - glukosida menyebabkan selulosa terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu oligosakarida (terutama selobiosa). Selanjutnya oligosakarida akan terhidrolisis menjadi monosakarida (terutama glukosa). Pemecahan ikatan 1,4 β - glukosida dilakukan oleh kompleks enzim selulase (Bondi, 1987).

Selulosa merupakan material yang stabil di alam dan membutuhkan biodegradasi yang kompleks sebelum dapat digunakan oleh mikroba, tumbuhan,

atau manusia. Dekomposisi selulosa dapat dilakukan secara proses kimia atau menggunakan agen mikroba. Mikroba merupakan agen yang potensial untuk dekomposisi selulosa. Beberapa mikroba, misalnya fungi, yeast, bakteri, dan kelompok actinomycetes memiliki kemampuan selulolitik dan mampu mengubahnya menjadi gula yang sama (glukosa). Proses dekomposisi selulosa memerlukan suatu enzim yang kompleks disebut dengan selulase (Palonen, 2004).

Konversi selulosa menjadi glukosa relatif membutuhkan biaya yang lebih besar dibandingkan dengan konversi pati. Hal ini disebabkan karena struktur selulosa lebih kompleks dibandingkan dengan struktur pati, sehingga dibutuhkan beberapa enzim untuk dapat mendegradasi selulosa. Selain itu enzim pendegradasi selulosa membutuhkan medium yang mengandung selulosa murni untuk mengoptimalkan produksi enzim. Selain itu diketahui bahwa selulosa memiliki struktur yang beragam baik dilihat dari tingkat struktural atau supramolekulnya. Untuk meminimalkan biaya produksi diperlukan pengembangan metode konversi selulosa menjadi glukosa. Salah satu bidang yang sering dijadikan studi dalam konversi selulosa adalah mencari mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim yang lebih aktif dan efisien dalam mengkonversi selulosa (Walker and Wilson, 1991). Hal ini disebabkan karena adanya keanekaragaman yang besar pada selulosa yang terdapat di alam, sehingga ditemukan banyak enzim selulase yang ditemukan. Hal ini berkaitan dengan kecocokan antara struktur substrat dengan struktur enzim (Beguin and Aubert, 1994).

2.4 Degradasi Selulosa

Pada degradasi material lignoselulosa dengan kadar selulosa yang tinggi sehingga bisa dikatakan selulosa murni (dihasilkan oleh tanaman kapuk), dengan kadar lignin yang sangat sedikit saja proses degradasi tidak dapat dilakukan dengan memasukkan selulosa ke dalam sel mikroorganisme. Hal ini terjadi karena ukuran selulosa yang cukup besar. Sehingga strategi yang dilakukan oleh mikroorganisme adalah dengan mengsekresikan enzim selulase. Hal ini dapat dilihat ketika melakukan isolasi protein yang terdapat pada tanah dan proses pengomposan, enzim selulase adalah komponen utama dari protein yang ditemukan (Ahmed *et al.*, 2001).

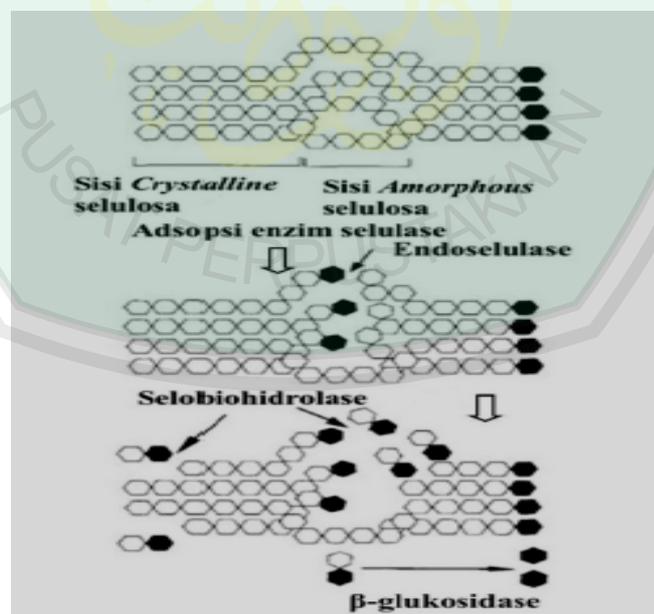
Untuk mengoptimalkan metabolisme bakteri pendegradasi selulosa pada keadaan minimal nutrient, setiap bakteri mempunyai strategi yang berbeda-beda tergantung pada karakteristik bakteri tersebut (Jescu, 1995). Besar hasil akhir yang diperoleh pada proses degradasi tergantung kepada beberapa faktor yaitu pH, akses terhadap karbon (kecocokan konformasi enzim dengan substrat), reaksi redok yang terjadi, konsentrasi produk. Dan untuk mengoptimalkan hasil yang diperoleh maka diperlukan pengetahuan tentang genetika mikroorganisme yang digunakan, enzimatik, dan termodinamika dalam mekanisme aliran karbon (*carbon flow*). Detail pengetahuan mengenai hubungan antara genome content, gen dan produk ekspresi gen, pathway utilization, dan hasil akhir yang diperoleh akan sangat penting untuk diketahui dalam degradasi selulosa (Levin *et al.*, 2009). Karena selulosa di alam yang bersifat berukuran besar dan tidak larut maka enzim selulase memerlukan perlakuan yang khusus dalam mendegradasi selulosa. Karena

substrat yang tidak dapat terdifusi ke dalam enzim, maka enzim selulase harus menjadi lebih aktif dan mendefusi ke dalam substrat (Mattinen, 1998).

Bakteri selulolitik dapat bekerja pada variasi keadaan lingkungan yang berbedabeda dalam mendegradasi seresah daun pada tanah (Beguin and Aubert, 1994). Mikroba ini dapat mendegradasi melekul kompleks, keadaan dimana substrat tidak larut dalam air dengan menggunakan berbagai enzim melalui berbagai cara didalam memutuskan bagian yang berbeda di dalam substrat. Efisiensi degradasi kayu dengan menggunakan mikorganisme seperti fungi filamentus, merupakan tipe yang mengsekresikan dan mengsinergikan aksi enzim selulase dimana bakteri menggunakan kompleks enzim (cellulosome) yang bekerja pada permukaan substrat (Linder dan Teeri, 1997). Hal ini juga terjadi pada fungi anaerob dimana memiliki kompleks seperti cellulosome dengan ukuran yang lebih besar. Kedua tipe enzim dapat melepaskan ikatan β -1,4-glukosida dengan menggunakan enzim endo atau exoglukonase yang spesifik yang didasarkan atas topologi dari sisi aktif. Keberadaan nitrogen sangat mempengaruhi laju degradasi yang terjadi. Umumnya degradasi selulosa terjadi pada pH normal (Hatami *et al.*, 2008).

Sistem enzim selulase adalah lebih sulit dibandingkan dengan sistem enzim selulase fungi dan hanya sedikit yang baru diketahui dari sistem enzim selulase bakteri. Enzim selulase yang dihasilkan oleh *Cellulomonas fimi* adalah yang paling sering dilakukan studi. Beberapa bakteri terutama bakteri anaerob menghasilkan kompleks multi enzim yang berukuran besar yang dikenal dengan cellulosome. Contoh bakteri yang memiliki cellulosome adalah *Clostridium thermocellum* (Mattinen, 1998).

Pada degradasi selulosa murni laju degradasi terjadi penurunan yang sangat besar. Penurunan ini disebabkan karena adanya inhibitor yang sangat banyak jika dibandingkan pada degradasi lignoselulosa. Selobiosa adalah inhibitor utama dalam degradasi selulosa, oleh karena itu kehadiran enzim β glukosidase menjadi sangat penting dalam degradasi selulosa. Hal ini karena setelah selobiosa diubah menjadi glukosa maka laju degradasi menjadi jauh lebih cepat. Hasil akhir pada degradasi lignoselulosa tergantung kepada tipe bahan mentah yang digunakan. Pada berbagai penelitian yang dilakukan secara intensif dilakukan maka diketahui bahwa tidak ada faktor yang paling signifikan pada laju hidrolisis pada material lignoselulosa yang berbeda. Secara umum dapat dikatakan bahwa faktor pembatas degradasi selulosa dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu struktur dari substrat, dan mekanisme dan interaksi enzim selulase.



Gambar 2.2 : Skematis Mekanisme Degradasi Selulosa (Beguin and Aubert,1994).

Akses enzim selulase terhadap selulosa pada lignoselulosa menjadi yang penting dalam degradasi selulosa. Selulosa memiliki akses baik eksternal (dipengaruhi oleh bentuk dan ukuran *particle*) dan internal (struktur kapiler pada *fibers*). Pada lignoselulosa yang tidak dilakukan pretreatment hanya sedikit pori yang dapat digunakan sebagai akses enzim selulase terhadap substrat (Palonen, 2004). Pada pretreatment yang dilakukan untuk menghilangkan hemiselulosa menunjukkan terjadi peningkatan pori dan terdapat permukaan spesifik. Hasil hidrolisis berkaitan dengan volume pori yang digunakan dalam akses enzim selulase (Grethlein, 1985 dalam Palonen, 2004). Pada beberapa penelitian diketahui bahwa pengeringan lignoselulosa menurunkan maka laju degradasi menjadi jauh lebih cepat. Hasil akhir pada degradasi lignoselulosa tergantung kepada tipe bahan mentah yang digunakan. Pada berbagai penelitian yang dilakukan secara intensif dilakukan maka diketahui bahwa tidak ada faktor yang paling signifikan pada laju hidrolisis pada material lignoselulosa yang berbeda. Secara umum dapat dikatakan bahwa faktor pembatas degradasi selulosa dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu struktur dari substrat, dan mekanisme dan interaksi enzim selulase.

Kemampuan degradasi selulosa oleh bakteri berbeda dengan kemampuan degradasi fungi dalam mendegradasi selulosa. Bakteri memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa *crystalline* dibandingkan dengan sisi *amorphous*, dan kemampuan ini dimiliki oleh hampir semua bakteri pendegradasi selulosa baik secara aerob atau anaerob. Namun karena selulosa *crystalline* tidak dapat didegradasi oleh enzim selulase tunggal karena sifat selulosa *crystalline* yang

rigid, maka diduga degradasi selulosa *crystalline* dilakukan lebih dari satu enzim (Mulcahy, 1996). Sedangkan fungi memiliki kecenderungan untuk mendegradasi selulosa pada sisi *amorphous* dibandingkan dengan sisi *crystalline*. Ekstrasellular endo- dan exoglucanase diproduksi oleh berbagai bakteri. Secara umum struktur enzim selulase bakteri memiliki kesamaan dengan yang dihasilkan fungi. Bakteri mensekresikan enzim selulase sebagai enzim ekstraselluler yang bersifat soluble atau pada keadaan anaerobic membentuk kompleks yang disebut dengan cellulosome yang menempel dengan permukaan sel bakteri. Cellulosome nampaknya mampu mendegradasi tidak hanya selulosa saja, namun semua jenis polisakarida termasuk berbagai jenis hemiselulosa seperti *xylanases*, *mannanases*, *arabinofuranosides*, and *pectin lyases* (Glazer and Nikaido, 2007).

2.5 Carboxymethylcellulose (CMC)

Selulosa memiliki banyak derivat yang dimanfaatkan di berbagai bidang kehidupan. Derivat selulosa dilakukan dengan melakukan modifikasi selulosa murni yang diisolasi. Derivat selulos yang sering digunakan dalam isolasi bakteri pendegradasi selulosa adalah *Hydroxyethylcellulose* (HE cellulose) dan *Carboxymethylcellulose* (CMC) (Klemm et al., 1998). *Carboxymethylation* polisakarida adalah suatu bidang penelitian yang diminati dan banyak dilakukan. Hal ini kerana metode ini adalah metode yang mudah dilakukan dan hasil yang diperoleh banyak digunakan untuk berbagai bidang kehidupan. Secara umum dapat dikatakan bahwa metode yang dilakukan adalah dengan menggunakan larutan alkali hydroxide (umunya adalah NaCl) pada polisakarida sehingga ada

penggantian gugus hidroksi yang terdapat pada polisarida. Jadi *Carboxymethylation* tidak terjadi hanya pada selulosa dan pati namun pada polisakarida yang lain (Heinze, 2005).

Carboxymethylcellulose (CMC) pertama kali ditemukan pada tahun 1918 dan diproduksi secara masal pertama kali pada awal 1920 oleh IG Farbenindustrie AG di Jerman. Namun hingga sekarang peningkatan teknologi yang digunakan dalam produksi masih diperbaiki, peningkatan kualitas produk, dan efisiensi dalam melakukan produksi (Heinze, 2005). Saat ini terdapat berbagai jenis kualitas CMC yang digolongkan berdasarkan kandungan pada CMC seperti yang tersaji pada Tabel 2.3 :

Kelompok kualitas dari CMC	Contoh penggunaan	Kandungan CMC (%)	Kandungan garam (%)
<i>Technical</i>	<i>Ditergents, mining flotation</i>	< 75	> 25
<i>Semi-purified</i>	<i>Oil and gas drilling muds</i>	75-85	15-25
<i>Purified</i>	<i>Paper coating, textile sizing and printing, ceramic glazing, oil drilling muds</i>	> 98	< 2
<i>Extra purified</i>	<i>Food, toothpate, pharmaceuticals</i>	> 99,5	< 0.5

Pada CMC ada 2 istilah yang sering digunakan yaitu *Degree of Polimeritation* (DP) dan *Degree of Substitution* (DS). DP menunjukkan seberapa panjang atau berapa monomer penyusun suatu rantai CMC. Sedangkan DS menunjukkan seberapa banyak gugus hidroksi pada selulosa yang diganti dengan

gugus lainya setiap 100 AGU (*anhydroglucopyranose unit(s)*), range dari DS adalah 0-3. Semakin rendah DS maka akan semakin mudah mikroorganismenya mendegradasi CMC tersebut. Sehingga semakin tinggi DS maka aktifitas enzim hidrolisis seperti enzim selulase akan menunjukkan hasil yang semakin rendah. Hal ini karena semakin tinggi DS maka terjadi resistensi CMC terhadap enzim selulase. Namun DS yang terlalu rendah (0,4 dan 0,7) tidak efektif digunakan sebagai CMC, sehingga disarankan menggunakan CMC dengan DS 0,9 terutama pada pengukuran aktifitas enzim selulase pada bakteri (Hankin and Anagnostakis, 1977). Disarankan untuk menggunakan CMC dengan DS 1,2 untuk mendeteksi enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroorganismenya yang diisolasi dari tanah dan air selokan (Hankin *et al.*, 1974; Hankin and Sands, 1974 *dalam* Hankin and Anagnostakis, 1977). CMC dengan DS 0,4 baik digunakan untuk mendeteksi enzim selulase pada beberapa fungi yang tidak dapat efektif mendegradasi CMC dengan DS 0,9. CMC dengan DS 0,9 dapat digunakan untuk mendeteksi secara efektif enzim selulase pada semua mikroorganismenya. Tidak ada perbedaan yang nyata antara laju degradasi CMC pada media padat dengan media cair (Hankin and Anagnostakis, 1977). Hal ini dapat diduga karena enzim selulase disekresikan pada lingkungan sekitar yang mengandung selulosa.

2.6 Enzim Selulase

Enzim adalah substansi yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai katalisator reaksi biokimia yang secara kolektif membentuk metabolisme perantara dari sel. Berdasarkan letak enzim

yang dihasilkan oleh mikroba dapat dibedakan dua macam enzim, yaitu enzim ekstraseluler dan intraseluler. Enzim intraseluler adalah enzim yang terletak di dalam sel, setelah biakan sel diperoleh maka dilakukan pemecahan sel untuk mengeluarkan enzim. Untuk mengekstraksi, kultur mikroba disentrifus dan supernatannya merupakan ekstrak kasar enzim. Enzim ekstraseluler yaitu enzim yang terletak di luar sel, enzim ini selama proses biosintesis menembus membran dan keluar dari sel mikroba. Untuk mendapatkan enzim ini tidak perlu diadakan pemecahan membran sel (Lehninger, 1983).

Enzim selulase merupakan kelompok enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa menjadi komponen yang lebih sederhana. Enzim selulase memiliki peranan penting di alam yaitu dalam proses biohidrolisis. Selulase dipergunakan dalam ekstraksi komponen penting dari sel tanaman dan untuk meningkatkan nilai nutrisi pakan ternak (Palonen, 2004).

Tiga tipe utama dari aktivitas enzimatik yang ditemukan, yaitu Endoglucanase atau 1,4-B-D-glucanase, termasuk 1,4-B-D-glucan-4-glucanohydrolase (EC 3.2.1.4), Endoklukanse memotong secara acak pada tempat internal tidak beraturan dari rantai polisakarida selulosa sehingga menghasilkan oligosakarida dengan berbagai macam panjang dan selanjutnya ujung rantai baru. Exoglucanase, termasuk 1,4-B-D-glucan glucanohydrolase (juga dikenal sebagai cellodextrinase) (EC 3.2.1.74) dan 1,4-B-D-glucan cellobiohydrolase (cellobiohydrolase) (EC 3.2.1.91). Exoglucanase bertindak untuk proses reduksi atau ujung reduksi dari rantai polisakarida selulosa sehingga membebaskan baik glukosa (glukanohydrolase) atau selebiososa (selebiohidrolase) sebagai produk

utama. Exoglukanase dapat berperan pada mikrokristal selulosa dengan melepaskan rantai selulosa dari struktur mikro Kristal, Cellobiase atau B-glucosidase atau B-glucosida glucohydrolase (EC. 3.2.1.21). B-Glukosidase menjadi celloextrin dan selobiosa untuk dirubah menjadi glukosa (Singleton, 2001).

Tabel 2.4 : Jenis-jenis enzim selulase (Bhat dan Bhat, 1997)

Jenis Enzim	Kode EC	Sinonim	Mekanisme Reaksi
Endo-(1-4) β -D-selulase	EC 3.2.1.4	Endoselulase atau Endoglekanase	-G-G-G-G Memutuskan ikatan secara acak
Ekso-(1-4)- β -Dselulase	EC 3.2.1.91	Selobiohidrolase atau eksoselulase	G-G-G-G Melepaskan selobiosa baik yang <i>reducing</i> atau <i>nonreducing end</i>
Ekso-(1-4)- β -Dselulase	EC 3.2.1.74	Eksoglukanase atau glukohidrolase	G-G-G-G Melepaskan glukosa dari <i>non-reducing end</i>
β - glukosidase	EC 3.2.1.21	Selobiose	G-G, G-G-G Melepaskan glukosa dari selobiosa atau rantai cellooligosakarida pendek

Enzim selulase dapat diisolasi dari berbagai sumber, dengan perbedaan karakteristik berat molekul, komposisi asam amino beserta urutannya, kapasitas untuk menyerap selulosa dan kemampuan untuk mendegradasi substrat tertentu. Beberapa enzim selulase yang berasal dari bakteri mempunyai kemampuan yang

lebih untuk mendegradasi selulosa secara *in vivo* dibandingkan dengan enzim selulosa yang berasal dari fungi (Aklyosov, 2004).

2.7 Identifikasi Bakteri Menggunakan *Microbact* 12E

Salah satu cara pengidentifikasian mikroorganisme yaitu dengan menganalisa kemampuan metabolismenya dengan menggunakan suatu metode uji biokimia. Uji biokimia yaitu meliputi kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan berbagai jenis sumber karbon dan senyawa kimia lainnya. Uji biokimia yang beragam dan semakin banyak jenis senyawa pengujian maka akan menghasilkan pengidentifikasian yang spesifik hingga tingkat spesies (Buckle, dkk, 1987).

Microbact 12E (MB12E) adalah identifikasi sistem komersial untuk bakteri secara umum dan bakteri Gram negatif golongan enterobacter. Tes ini terdiri dari substrat sebanyak 12 biokimia yang berbeda tes ditempatkan di sumur *microbact*. Pengujian dengan menggunakan *Microbact* 12E akan semakin mempermudah metode pengidentifikasian suatu mikroorganisme. *Microbact* 12E mempunyai Sistem yang dirancang untuk mengidentifikasi bakteri dengan komposisi substrat dan pereaksi yang telah distandarisasi. Pengujian dengan *Microbact* 12E (MB12E) memiliki beberapa ketentuan sebelum dilakukan pengujian, yaitu sampel isolat yang digunakan merupakan isolat yang telah dimurnikan dan dilarutkan ke dalam garam fisiologis (Oxoid, 2004).

Prinsip kerja dari *Microbact* 12E (MB12E) yaitu dengan mereaksikan suspensi isolat ke dalam sumur-sumur yang telah berisi sumber karbon dan

senyawa-senyawa biokimia lain yang berjumlah 12 jenis. Suspensi bakteri yang dilarutkan ke dalam garam fisiologis ditambahkan ke masing-masing 12 sumur uji biokimia yang tersedia. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 ° C reagen yang sesuai ditambahkan dan perubahan warna tes pada tiap sumur yang berbeda dicatat. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*). Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat (Oxoid, 2004)