

**ISOLASI JAMUR SELULOLITIK DALAM BATUBARA
SERTA UJI AKTIVITAS SELULOLITIKNYA
PADA BERBAGAI pH**

SKRIPSI

oleh:
DANAR PITARINI
NIM.08630014



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**ISOLASI JAMUR SELULOLITIK DALAM BATUBARA SERTA UJI
AKTIVITAS SELULOLITIKNYA
PADA BERBAGAI pH**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN)
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

oleh:
DANAR PITARINI
NIM.08630014

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**ISOLASI JAMUR SELULOLITIK DALAM BATUBARA SERTA UJI
AKTIVITAS SELULOLITIKNYA
PADA BERBAGAI pH**

SKRIPSI

oleh:
DANAR PITARINI
NIM.08630014

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 9 september 2014

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP.19750410 200501 2 009

A.Ghanaim Fasya, M.Si
NIP.19820616 200604 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP.19790620 200604 2 002

**ISOLASI JAMUR SELULOLITIKDALAM BATUBARA SERTA UJI
AKTIVITAS SELULOLITIKNYA
PADA BERBAGAI pH**

SKRIPSI

**oleh:
DANAR PITARINI
NIM.08630014**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 9September 2014

Penguji Utama:	Eny Yulianti, M.Si	()
	NIP. 19760611 200501 2 006		
Ketua Penguji:	Ahmad Hanapi, M.Sc	()
	NIPT.20140201 1 422		
Sekretaris Penguji:	Akyunul Jannah, S.Si, M.P	()
	NIP. 19750410 200501 2 009		
Anggota Penguji:	A.Ghanaim Fasya, M.Si	()
	NIP.19820616 200604 1 002		

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP.19790620 200604 2 002

Motto

Berangkat dengan penuh keyakinan
Berjalan dengan penuh keikhlasan
Istiqomah dalam menghadapi cobaan

﴿الْفَائِزُونَ هُمُ الَّذِينَ صَبَرُوا بِمَا آلَيْتَهُمْ جَزَيْتَهُمْ إِنِّي﴾

Artinya: “Sesungguhnya aku memberi Balasan kepada mereka di hari ini, karena kesabaran mereka; Sesungguhnya mereka Itulah orang-orang yang menang.”
(Qs. al-Mukminun: 111)

“Sabar dalam mengatasi kesulitan dan bertindak bijaksana dalam mengatasinya adalah sesuatu yang utama”

Keberhasilan adalah sebuah proses. Niatmu adalah awal keberhasilan. Peluh keringatmu adalah penyedapnya. Tetesan air matamu adalah pewarnanya. Doamu dan doa orang-orang disekitarmu adalah bara api yang mematangkannya. Kegagalan disetiap langkahmu adalah pengawetnya. Makadari itu, bersabarlah! Allah selalu menyertai orang-orang yang penuh kesabaran dalam proses menuju keberhasilan. Sesungguhnya kesabaran akan membuatmu mengerti bagaimana cara mensyukuri arti sebuah keberhasilan

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sepenggal persembahan sederhana nan indah serta bermakna bagiku dan untuk semua orang tersayang yang senantiasa mendoakan dan mendukungku dengan sepenuh hati.

Syukur Alhamdulillah..

senantiasa kuucapkan atas nikmat tak terkira yang Kau berikan Kepada hamba yaa Allah

Kau telah memberi hamba keluarga yang bahagia

Memberi hamba sahabat dan teman yang luar biasa

Telah mempertemukanku dengan orang-orang sebagai bagian dari hidup hamba yang selalu mendukung dalam menyelesaikan tugas akhir ini dengan begitu baiknya.

Ibundaku, Ayahandaku tercinta, Adikku nanda tersayang yang baik hatinya

Terima kasih atas titisan doa dan air mata selama ini

Kalian adalah inspirasi terbesarku dalam melewati segala rintangan

Meski capai, letih, lelah, khawatir, namun kalian selalu menjadi api semangatku yang baru

Karena itu Ananda selalu berusaha menjaga amanah yang Ayahanda dan Ibunda berikan

Ananda tak pernah lupa pengorbanan Ayahanda dan Ibunda dan berpesan

untuk selalu lurus dalam tujuan,

Untuk menuju kebaikan. Mungkin inilah sepenggal karya yang telah kubuktikan dan ku

persembahkan sebaik-baiknya hati yang menanti.

Yaa Allah... Alhamdulillah Engkau telah memberikan hamba nikmat yang luar biasa atas kebahagiaan yang tak terkira.

Atas orang-orang terkasih disamping hamba yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat sehingga hamba bisa menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

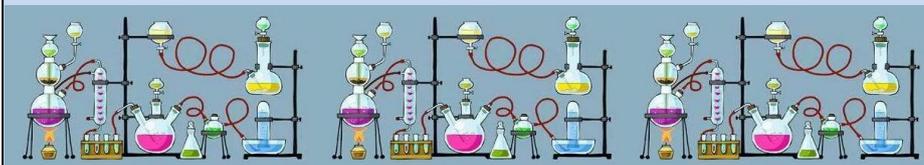
Ibu Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Ibu Anik Maunatin, S.T, M.P, Pak A.Ghanaim Fasya, M.Si, Pak Ahmad Hanapi, M.Sc, ibu Eny Yulianti, M.Si terima kasih banyak atas bimbingan, kesabaran dan ilmu yang insyaAllah dapat bermanfaat bagi penulis.

Teman-teman seperjuangan (Mas Lalang, Bapak Syafa', Ibuk Suci, Agie, Albi, Mbah Oki, Opa Hendi, Zahra, dan teman-teman lain) tetap semangat dan hati dalam mengarungi lautan padang pasir yang kadang kala menimbulkan penampakan fatamorgana keindahan.

Teman-teman Biokimia Research, kakak-kakak dan adik-adik penyemangat (Mbak Jazil, Mbak

Wildha, Ichya', Ferry, Farah, Rizki, dan yang lain-lain) teruslah melangkah untuk senantiasa lurus dalam kebaikan. Jangan pernah gentar akan lika-liku kehidupan, karena Allah senantiasa bersama kita.

Teman-teman angkatan 2008 Kimia khususnya, I'II Be Miss u Guys...



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Danar Pitarini

NIM : 08630014

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang telah saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 9 September 2014
Yang membuat pernyataan,

Danar Pitarini
NIM.08630014

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum.wr.wb.

Segala puji bagi Allah SWT, karena dengan izinNya, penulis bisa menyelesaikan skripsi dengan judul "Isolasi Jamur Selulolitik Dalam Batubara Serta Uji Aktivitas Selulolitiknya Pada Berbagai pH". Shalawat dan salam semoga senantiasa dilimpahkan kepada Nabi Muhammad Saw., keluarga, sahabat dan pengikutnya.

Dengan ketulusan hati, iringan do'a dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M. Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Akyunul Jannah, S.Si, M.P,A.Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Pembimbing skripsi dan Anik Maunatin, M.P, selaku Konsultan skripsi
5. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Seluruh Staf Laboratorium dan Staf Administrasi Jurusan Kimia dan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Keluargaku, Kedua Orang Tuaku dan Adikku yang senantiasa menyemangati dan selalu mendukung untuk terselesaikannya tugas akhir ini.
8. Sahabat-sahabat yang selalu menyemangatiku seperti lalang, agie, suci, syafa', dan yang lainnya.
9. Teman-teman yang sama-sama berjuang untuk menyusun tugas akhir, mbak wildha, mbak jazil, hendi, ichya', alfin, zahra, ferry, david, amri, dll.

10. Kakak-kakak, teman-teman dan adik-adik Kimia angkatan 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

11. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca, khususnya bagi penulis secara pribadi. *Āamiin Ya Rabbal 'Āalamiin.*

Wassalamu 'alaikum.wr.wb

Malang, 9 September 2014

Penulis



DAFTAR ISI

LEMBAR PRNGESAHAN	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan.....	8
1.4 Manfaat.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Batubara.....	9
2.1.1 Proses Pembentukan Batubara.....	10
2.1.2 Komposisi Batubara.....	11
2.1.3 Klasifikasi Batubara.....	13
2.1.4 Struktur Molekul Batubara.....	15
2.1.5 Bioteknologi Batubara.....	17
2.1.6 Pencairan Batubara.....	18
2.2 Fungi.....	21
2.1.1 Jamur Selulolitik.....	22
2.1.2 Selulosa.....	23
2.3 Media Pertumbuhan.....	24
2.1.1 Potatoes Dextrose Agar (PDA).....	24
2.1.2 Carboxil Methyl Cellulose (CMC).....	25
2.4 Kurva Pertumbuhan.....	25
2.5 Identifikasi Jamur.....	26
2.6 Pembentukan Zona Bening.....	28
2.7 Aktivitas Enzim.....	30
2.8 Enzim Selulase.....	32
2.9 Uji Selulolitik.....	36
2.10 Karakteristik Jamur.....	37

BAB III METODOLOGI	38
3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	38
3.2 Alat Dan Bahan Penelitian.....	38
3.2.1 Alat Penelitian	38
3.2.2 Bahan Penelitian.....	38
3.3 Rancangan Penelitian.....	39
3.4 Tahapan Penelitian.....	41
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	41
3.5.1 Tahap Preparasi Alat dan Bahan	41
3.5.2 Pembuatan Media.....	42
3.5.2.1 Media <i>Potatoes Dextrose Agar</i>	42
3.5.2.2 Media <i>CMC Agar</i>	42
3.5.2.3 Media <i>CMC Broth</i>	43
3.5.3 Isolasi dan Seleksi Jamur dari Batubara.....	43
3.5.4 Uji Jamur Penghasil Selulase Secara Kualitatif	44
3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan.....	44
3.5.6 Pengukuran Aktivitas Enzim dengan Metode Penetapan Total Gula Pereduksi dengan <i>Metode Dinitrosalicylic Acid (DNS)</i>	45
3.5.6.1 Penyiapan Pereaksi DNS.....	45
3.5.6.2 Pembuatan Kurva Standar	45
3.5.6.3 Penetapan Total Gula Pereduksi	45
3.5.6.4 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Berbagai Variasi pH.....	46
3.5.7 Analisa Data	46
BAB IV PEMBAHASAN.....	47
4.1 Isolasi Jamur dari Batubara	47
4.2 Uji Jamur Penghasil Selulase secara Kualitatif	49
4.3 Kurva Pertumbuhan Jamur Selulolitik.....	55
4.4 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Variasi pH Menggunakan Analisa Metode <i>Dinitrosalicylic Acid (DNS)</i>	56
4.5 Pemanfaatan Batubara dalam Perspektif Islam	63
BAB V PENUTUP.....	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Batubara	9
Gambar 2.2	Struktur Molekul Batubara (Fakoussa dan Hofrichter, 1999)	17
Gambar 2.3	Dua struktural modifikasi utama batubara coklat oleh mikroorganisme (Hofrichter , 1997).....	19
Gambar 2.4	Pencairan batubara coklat oleh microfungus berfilamen (<i>Alternaria sp.</i>)(Hofrichter , 1997)	19
Gambar 2.5	Usulan mekanisme pencairan batubara low rank (Hofrichter, 1997). ..	21
Gambar 2.6	Struktur Selulosa (Ophardt, 2003)	24
Gambar 2.7	Kurva Pertumbuhan Fungi (Gandjar dan Wellyzar, 2006).....	26
Gambar 2.8	Mekanisme Kerja Enzim Selulase	34
Gambar 4.1	Struktur <i>Congo Red</i>	50
Gambar 4.2	Dugaan ikatan hidrogen antara congo red dengan selulosa	50
Gambar 4.3	Mekanisme kerja enzim selulase	52
Gambar 4.4	Reaksi Glukosa dengan DNS.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi batubara	14
Tabel 4.1 Bentuk Isolat Jamur Hasil Isolasi Dari Batubara	48
Tabel 4.2 Zona bening jamur selulolitik.....	50



DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1	Kurva Pertumbuhan Jamur JM 2	55
Grafik 4.2	Grafik Hubungan pH dan Aktivitas Enzim	59
Grafik 4.3	Grafik Kurva Standar Glukosa	62



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir.....	73
Lampiran 2 Perhitungan dan Pembuatan Larutan.....	79
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	85



ABSTRAK

Patarini, D. 2014. **Isolasi Jamur Selulolitik Dalam Batubara Serta Uji Aktivitas Selulolitiknya Pada Berbagai pH**. Pembimbing: Akyunul Jannah, S.Si, MP, Anik Maunatin, S.T, MP, dan A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Kata Kunci: Jamur selulolitik, enzim selulase, dan batubara.

Batubara terbentuk dari pengulangan rangkaian selulosa, oleh karena itu batubara mampu di degradasi oleh jamur selulolitik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi jamur selulolitik dalam batubara untuk memperoleh enzim selulase yang selanjutnya digunakan untuk bioteknologi pencairan batubara untuk menaikkan mutu dari batubara di Indonesia dan untuk mengetahui ciri-ciri isolat dan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase dari jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara. Pemanfaatan batubara telah diterangkan Allah dalam Firmannya surat al-Hijr ayat [15]: 19-20.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama melakukan isolasi jamur selulolitik dari batubara dan tahap kedua untuk mengetahui pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim selulase oleh jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara, variasi pH yang digunakan adalah pH 5, 6, 7, dan 8. Selanjutnya dilakukan analisa kadar glukosa menggunakan metode 3,5-dinitrosalisilat (DNS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa didapatkan 3 isolat jamur hasil isolasi dari batubara yaitu, JM1, JM2, dan JM3, sedangkan jamur selulolitik yang dihasilkan hanya satu yaitu JM2. Ciri jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara, yaitu berwarna putih dan membentuk zona terhidrolisis seperti pada isolat JM2. Adapun hasil uji Aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara sangat dipengaruhi oleh pH. Pada kisaran pH 5 sampai dengan 8, ketika pH dinaikkan maka aktivitas enzim selulase juga naik hingga mencapai pH 7 sebesar 0,501 unit kemudian turun pada pH 8 sebesar 0,346 unit.

ABSTRACT

Patarini, D. 2014. **Isolation of Cellulolytic Fungi within Coal and Test of Its Cellulolytic Activities in Variety of pH**. Advisor: Akyunul Jannah, S.Si, MP, Anik Maunatin, S.T, MP, and A. Ghanaim Fasya, M.Sc.

Keywords: Cellulolytic Fungi, Cellulose Enzymes, And Coal.

The coal is formed from cellulose repeating series, so that the coal can be degraded by cellulolytic fungi. The study aims to isolate the fungi from coal to procure cellulase enzyme which furthermore used to liquefaction of coal biotechnology for raising grade of the coal in Indonesia and to determine the characteristics of the isolates and the effect of pH on the activity of cellulase enzyme of cellulolytic fungi from the results of coal isolation. As Allah describes in his Word Surah al-Hijr verse [15]: 19-20.

This study consisted of two stages. The first stage is isolating the cellulolytic fungi from coal and the second stage is to know the effect of pH towards the activity of cellulose enzymes by cellulolytic fungi isolated from coal, the pH variation used are 5, 6, 7, and 8. Then performing glucose analysis using 3,5-dinitrosalisilat (DNS).

The results showed that it obtained 3 isolates of fungi as isolation result from coal those are JM1, JM2, JM3, the characteristic of the cellulolytic fungi as a result of isolation from coal, namely those whose color are white and in the form of hydrolysis zone as in isolation of JM2. As the results of the enzyme activity test produced by the cellulolytic fungi from coal is identically influenced by pH. At range pH 5 to 8, when pH increased, the enzyme activity of cellulose increased as well up to pH 7 by 0, 501 unit. Afterwards, go down at pH 8 in an amount of 0, 346 units.

مستخلص البحث

فتاريبي ، د . 2014 . عزلة فطريات سيلولوتيك في الفحم الحجري وتجربة فعالة سيلوليتيكا في مختلف النشاط بدرجة الحموضة . المشرفة الأولى : أعين الجنة الماجستير ، المشرفة الثانية : أنيك معونة الماجستير ، المشرف الثالث : وأحمد غنائم فاشا الماجستير

الكلمات الرئيسية : فطريات سيلولوتيك، والانزيمات سلولاز، والفحم الحجري

الفحم الحجري هو شيء مكونة من مترددات كائنات عضوية السيلولوز، لذلك كونه مستطيعا لدهره الفحم الحجري. والهدف من هذا البحث هو لعزلة فطريات سيلولوتيك في الفحم الحجري لحصول وانتاج الانزيمات السيلولوز ويستخدمها في تكنولوجيا الحيوية صرف الفحم الحجري لارتفاع كمية فحم الحجري في أندونيسيا ومعرفة خصائص ايزولات وأثر درجة الحموضة في فعالة نشاط أنزيمات سلولاز من فطريات سيلولوتيك خلال طريقة عزلة فطريات سيلولوتيك في الفحم الحجري. وكذلك لمعرفة فوائد الفحم الحجري وطريقة استفادتها كما قد قال الله جلّ وعلا في القرآن بسورة الحجر في الآية 19-20.

تتألف هذا البحث من مرحلتين: المرحلة الأولى وهي إجراء العزلة واختيار فطريات جيلوليتيك من الفحم الحجري، والمرحلة الثانية هي مرحلة لمعرفة تأثير درجة الحموضة على نشاط الأنزيمات سلولاز بواسطة الفطريات جيلوليتيك معزولة من الفحم الحجري، وأنواع درجة الحموضة المستخدمة هي درجة الحموضة برقم 5، 6، 7 و 8. ويتم تنفيذ هذا البحث بتحليل الجلوكون باستخدام طريقة 3.5 دينيتروساليسيلات (DNS).

والنتائج من هذا البحث تدل على بحدو الطريقة أي عزلة الفطريات جيلوليتيك تحصل على ثلاث إيزولات وهي إيزولات الفطريات الأولى (JM1)، إيزولات الفطريات الثانية (JM2) ، إيزولات الفطريات الثالثة (JM3). وخصائص فطريات سيلولوتيك ناتجة من عزلة الفحم الحجري هي بكونها أبيض اللون ويشكل صافيا كما كان في إيزولات الفطريات الثانية (JM2). وأما النتيجة من تجربة انزيمات سلولاز المنتجة من فطريات جيلوليتيك بطريقة العزلة هي متعلقة بدرجة الحموضة بالدرجة ما بين درجة 5 حتى 8. وإذا رُفِع درجته فارتفع نشاط انزيمات إلى درجة 7 في 0,501 وحدة ثم تنخفض إلى درجة الحموضة 8 من 0.346 وحدة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT menunjukkan keagungan dan kekuasaanNya melalui betapa banyaknya ciptaan Allah SWT yang meliputi makhluk yang paling sempurna yakni manusia sampai dengan makhluk terkecil yakni mikroorganisme. Mikroorganisme yang dimaksud merupakan makhluk hidup yang bisa dilihat dengan bantuan mikroskop, seperti bakteri, jamur, virus. Sesuai pada ayat Al Quran QS. as Saba': 22 :

قُلِ ادْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ
 وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا لَهُمْ فِيهِمَا مِنْ شِرْكٍَ وَمَا لَهُمْ مِنْهُمْ مِنْ ظَهِيرٍ ﴿٢٢﴾

Artinya: “Katakanlah: Serulah mereka yang kamu anggap (sebagai Tuhan) selain Allah SWT, mereka tidak memiliki (kekuasaan) seberat dzarrah pun dilangit dan di bumi, dan mereka tidak mempunyai suatu saham pun dalam (penciptaan) langit dan bumi dan sekali-kali tidak ada di antara mereka yang menjadi pembantu bagi-Nya”. (QS. as Saba': 22).

Kata *dzarrah* di dalam ayat di atas bermaksud partikel yang sangat kecil seperti mikroorganisme uniseluler (bersel satu) dan molekul atom. Allah SWT mengajarkan melalui ayat ini bahwa Allah SWT mengendalikan dunia “ghaib” mikroorganisme. Ayat Al Quran di atas juga menunjukkan bahwa makhluk kecil dikendalikan oleh Allah SWT dan manusia tidak mempunyai kuasa dan tidak mempunyai upaya untuk mengendalikan mereka. Mikroorganisme atau dalam ayat ini disebut makhluk kecil yaitu salah satunya adalah jamur atau fungi (Purwanto, 2008).

Jamur “Fungi” merupakan kelompok mikroorganisme yang terdiri dari beberapa ribu spesies. Banyak terdapat di tanah dan udara, bersifat heterotrof dan mampu beradaptasi dengan lingkungan yang beragam. Jamur umumnya mengontaminasi berbagai komoditi pangan, peralatan proses, dan fasilitas penyimpanan makanan. Namun, Jamur yang banyak dimanfaatkan salah satunya adalah jamur selulolitik. Jamur selulolitik banyak dimanfaatkan pada berbagai macam industri seperti industri pengolahan kertas, textile, detergen, pupuk (Hidayat, 2006).

Kelebihan jamur selulolitik dibandingkan dengan bakteri selulolitik adalah berdasarkan produksi enzim yang dihasilkan, yaitu enzim selulase yang dihasilkan jamur selulolitik lebih kuat mendegradasi selulosa daripada enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik berdasarkan tiga komponen penting yang dimiliki oleh enzim selulase, yaitu endoglukosidase, β -glukosidase, selobiohidrolase/eksoglukanase, (Miyamoto, 1997). Jamur memiliki semua komponen penting yang dimiliki oleh enzim selulase sedangkan bakteri hanya memiliki dua komponen penting dari enzim selulase yaitu endoglukosidase, selobiohidrolase/eksoglukanase.

Batubara di Indonesia mempunyai peranan yang penting untuk memenuhi kebutuhan energi dalam negeri misalnya untuk bahan bakar pembangkit listrik, industri, dan transportasi. Batubara menjadi sumber energi yang penting di dunia seiring dengan semakin terbatasnya cadangan minyak dan gas alam (IEA, 2011). Hal itu didukung oleh cadangan atau sumberdaya batubara Indonesia yang cukup melimpah. Pada tahun 2009, cadangan atau sumber daya batubara yang aspek ekonominya telah diperhitungkan mencapai 104,76 miliar ton (per Januari 2009) dan terus meningkat dengan pertumbuhan rata-rata hampir 6% per tahun dari dua tahun

sebelumnya yang hanya mencapai 93,4 miliar ton (CDIEMR, 2008;2009). Menurut ESDM (2011), Indonesia memiliki cadangan batubara sebesar 4,3 miliar ton atau 0,5% dari total cadangan batubara dunia. Cadangan batubara Indonesia didominasi oleh jenis lignit sebesar 59% dan subbituminus sebesar 27%, sedangkan jenis bituminus mencapai 14% dan antrasit 0,5%.

Batubara memiliki komposisi kimia C, H, O selulosa sebesar C 60-70%, H 5-6%, O 20-30% (May, EWM,1985 dalam Anggayana, 2002). Kandungan tersebut memungkinkan untuk diisolasi jamur selulolitiknya yang bersifat termofilik. Jamur selulolitik yang bersifat termofilik lebih disukai untuk proses industri, karena proses industri membutuhkan enzim yang stabil pada suhu tinggi (enzim termostabil). Penggunaan enzim termostabil juga mampu mengurangi resiko kontaminasi. Berbagai jenis enzim termostabil dapat diisolasi dari jamur termofilik, tidak terkecuali enzim selulase (Turner, 2007 dalam Sinatari, dkk., 2013). Hal ini ditunjukkan untuk memanfaatkan ilmu yang dimiliki bagi kesejahteraan masyarakat, seperti pada QS. Ali 'Imran: 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
 وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطِيلاً سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah SWT sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Orang yang berakal adalah orang yang melakukan dua hal yaitu *tadzakkur* yakni mengingat Allah SWT, dan *tafakkur*, yaitu memikirkan ciptaan Allah SWT, dengan merenungkan penciptaan langit dan bumi, akan membawa manusia menyaksikan tentang ke-Esaan Allah SWT, yaitu adanya aturan yang dibuatNya serta karunia dan berbagai manfaat yang terdapat di dalamnya, bahkan sumber daya alam yang belum dimanfaatkan secara maksimal seperti isolasi dan identifikasi jamur selulolitik dalam batubara.

Seiring dengan berjalannya waktu, dengan penggunaan batubara sebagai sumber energi maka kelangkaan dan kemungkinan habisnya sumber batubara akan terjadi. Oleh karena itu, diperlukan adanya energi alternatif sebagai energi terbarukan pengganti batubara. Proses pembentukan batubara atau coalification yang dibantu oleh faktor fisika, kimia alam akan mengubah selulosa menjadi lignit, subbitumine, bitumine dan antrasit (Sukandarrumidi, 2006).

Umumnya, hidrolisis selulosa menjadi glukosa yang biasanya dilakukan dengan cara kimiawi, yaitu melalui penambahan asam atau basa yang dapat mencemari lingkungan. Perlu adanya pencarian alternatif katalis yang ramah lingkungan, yakni katalis biologis (enzim). Keuntungan lain dari hidrolisis enzim selain dapat bekerja pada kondisi normal atau tidak memerlukan suhu, tekanan, dan pH yang tinggi, juga produk yang dihasilkan lebih spesifik dan dekomposisi dapat dihindari. Akan tetapi masih banyak kendala pada harga enzim murni yang sangat mahal. Sehingga perlu adanya isolasi enzim selulase dari sumbernya. Enzim selulase diperoleh dari berbagai sumber seperti tanaman, insekta (hewan), dan

mikroorganisme. Tanaman dan hewan menghasilkan enzim yang sedikit dibandingkan mikroorganisme (Maranatha, 2007).

Pencairan batubara dapat dilakukan dengan mendekomposisikan batubara dengan pertolongan enzim pengurai selulosa yaitu enzim selulosa. Enzim selulosa ini juga dapat dihasilkan dari pembiakan salah satu jenis jamur yang banyak tumbuh di Indonesia yaitu jamur *Phanerochaete chrysosporium* dalam media hidrokarbon, misalnya cairan singkong atau cairan gula (Putra, 2011).

Jamur *Phanerochaete chrysosporium* berfungsi untuk mengisolasi enzim selulosa yang terdapat dalam batubara, dikarenakan batubara merupakan sedimen organik bahan bakar hidrokarbon padat yang terbentuk dari tumbuh-tumbuhan yang telah mengalami pembusukan secara biokimia, kimia dan fisika dalam kondisi bebas oksigen yang berlangsung pada tekanan serta temperatur tertentu pada kurun waktu yang sangat lama. Oleh karena itu, bisa disimpulkan bahwa batubara mengandung selulosa (Priyono, 1992).

Menurut Risti (2009), Sebagai alternatif untuk menggantikan energi minyak bumi, saat ini telah dikembangkan teknologi pencairan batubara sebagai bahan bakar. Pencairan batubara secara biologis dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme, seperti jamur *Phanerochaete chrysosporium*.

Mutambanengwe (2009) melaporkan, mekanisme pencairan batubara menggunakan jamur hanya akan terjadi dengan adanya media yang mengandung konsentrasi tinggi N dalam bentuk glutamat atau amonia (Hofrichter, dkk., 1997). Sementara keberadaan sumber C tambahan penting bagi pertumbuhan jamur, tapi juga dapat menyebabkan penghambatan pencairan batubara dalam studi oleh Holker,

(1995). Di sisi lain, Blondeau (1995) melaporkan penghilangan warna disempurnakan asam humat dengan 15 strain *Streptomyces* tumbuh di hadapan media pengayaan dengan glukosa. Terlepas dari ini, batubara dengan mutu rendah dapat dilarutkan oleh jamur dan bakteri yang dipilih bila ditanam pada media mineral tetapi, pelarutan dari batubara keras masih akan memerlukan penambahan media pertumbuhan.

Beberapa mikroba terutama dari kelompok jamur memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Beberapa jamur yang mampu menghasilkan komponen selulase diantaranya adalah *Trichoderma*, sehingga jamur ini sering disebut sebagai selulolitik sejati. Beberapa jamur telah diteliti memiliki kemampuan mendegradasi serasah dedaunan terdiri dari 30 strain termasuk dalam tujuh genus diantaranya: *Gliocladium* (2 strain), *Gonatobotryum* (1 strain), *Syncephalastrum* (1 strain), *Paecilomyces* (2 strain), *Penicillium* (4 strain), *Aspergillus* (10 strain), dan *Trichoderma* (10 strain) (Affandi *et al.*, 2001).

Menurut Meryandini (2009), selulosa terbungkus dan terikat secara kovalen maupun non-kovalen pada lignin dan hemiselulosa. Hemiselulosa maupun lignin akan mengganggu aktivitas enzim selulase yang hanya spesifik memotong ikatan β -1-4-glikosidik pada selulosa. Oleh sebab itu untuk meningkatkan luas permukaan substrat diperkecil ukurannya. Pengocokan pada saat inkubasi substrat-enzim juga memperbesar kontak antara enzim selulase dan komponen selulosa sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase. Pada penelitian sebelumnya, Masfufatun (2009) telah melakukan penelitian isolasi dan karakterisasi enzim selulase didapatkan

bahwa aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain pH, temperatur dan konsentrasi substrat.

Faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan jamur selulolitik adalah suhu, pH, kandungan oksigen terlarut dan konsentrasi nitrogen yang mencukupi. Temperatur optimum yang mendukung pertumbuhan jamur selulolitik adalah 39° C dengan pH antara 4-5 karena mikroorganisme ini termasuk aerobik, maka aktivitas biologisnya juga dipengaruhi oleh konsentrasi oksigen terlarut dalam media (Ceribasi dan Yetis, 2001).

Enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroorganisme mempunyai karakteristik yang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti, suhu dan pH dari lingkungan tempat enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis mikroorganisme. Sebagian besar enzim memiliki aktivitas optimum pada suhu 20-50 °C termasuk dalam golongan mesozim (Volk, dkk., 1984).

Berdasarkan latar belakang, diketahui bahwa batubara mampu di degradasi oleh jamur selulolitik, karena batubara terbentuk dari pengulangan rangkaian selulosa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi jamur selulolitik dalam batubara untuk memperoleh enzim selulase yang selanjutnya digunakan untuk bioteknologi pencairan batubara untuk menaikkan mutu dari batubara di Indonesia. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan isolasi jamur selulolitik dalam batubara serta uji aktivitas selulolitiknya pada berbagai pH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Bagaimana ciri jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara?
2. Bagaimana pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh jamur hasil isolasi dari batubara?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui ciri jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara.
2. Untuk mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh jamur hasil isolasi dari batubara.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah batubara yang didapat dari PT. Ipmomi Paiton.
2. Metode aktivitas enzim selulase *Dinitrosalicylic Acid* (DNS) dengan menggunakan *Spectrofotometer*.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah memberikan informasi kepada masyarakat pada umumnya dan pada industri batubara pada khususnya, bahwa jamur selulolitik memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah mampu mengisolasi enzim selulase pada batubara yang selanjutnya hasilnya bisa digunakan sebagai energi alternatif dengan melalui proses pencairan batubara yang bertujuan untuk peningkatan mutu dari batubara di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Batubara

Batubara merupakan salah satu bahan bakar disamping minyak dengan gas bumi dan panas bumi (Sukandarrumudi, 2006). Batubara adalah bahan bakar hidrokarbon padat yang terbentuk dari tumbuh-tumbuhan dalam lingkungan bebas oksigen dan terkena pengaruh temperatur serta tekanan yang berlangsung sangat lama. Dari beberapa sumber diatas, dapat dirangkum suatu definisi yaitu: “Batubara adalah berupa sedimen organik bahan bakar hidrokarbon padat yang terbentuk dari tumbuh-tumbuhan yang telah mengalami pembusukan secara biokimia, kimia dan fisika dalam kondisi bebas oksigen yang berlangsung pada tekanan serta temperatur tertentu pada kurun waktu yang sangat lama” (Priyono, dkk. 1992).



Gambar 2.1 Batubara

Batubara memiliki komposisi kimia C, H, O selulosa sebesar C 60-70%, H 5-6%, O 20-30% (May, EWM,1985 dalam Anggayana, 2002). Kandungan tersebut memungkinkan untuk diisolasi jamur selulolitiknya yang bersifat termofilik. Oleh

karena itu, disinilah peran manusia yang dikaruniai oleh Allah SWT akan akal pikiran dan segenap potensi untuk mengambil beberapa ilmu pengetahuan dari ayat-ayat Al Qur'an dan Al Hadits untuk memikirkan dan mengambil hikmah dari segala ciptaanNya, seperti pada ayat berikut:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا
لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

aynitrA : “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya” (QS. Al-Hijr: 19-20).

Ayat diatas menerangkan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatunya di bumi ini dengan bermacam-macam ukuran dan bentuk yang di dalamnya memiliki manfaat masing-masing.

2.1.1 Proses Pembentukan Batubara

Pada awalnya, batubara merupakan tumbuh-tumbuhan pada zaman prasejarah, yang berakumulasi di rawa dan lahan gambut. Kemudian, karena adanya pergeseran pada kerak bumi (tektonik), rawa dan lahan gambut tersebut lalu terkubur hingga mencapai kedalaman ratusan meter. Selanjutnya, material tumbuh-tumbuhan yang terkubur tersebut mengalami proses fisika dan kimiawi, sebagai akibat adanya tekanan dan suhu yang tinggi. Proses perubahan tersebut, kemudian menghasilkan batubara (Farisyalwan, 2009).

Perbedaannya, arang kayu dapat dibuat sebagai hasil rekayasa dan inovasi manusia, selama jangka waktu yang pendek, sedangkan batubara terbentuk oleh proses alam, selama jangka waktu ratusan hingga ribuan juta tahun. Batubara terbentuk oleh proses alam, maka banyak parameter yang akan berpengaruh pada pembentukan batubara. Makin tinggi intensitas parameter yang berpengaruh makin tinggi mutu batubara yang terbentuk (Sukandarrumudi, 2006).

Batubara merupakan senyawa hidrokarbon padat yang terdapat di alam dengan komposisi yang cukup kompleks. Bahan organik utamanya yaitu tumbuhan yang dapat ditengarai berupa jejak kulit pohon, daun, akar, struktur kayu, spora, pollen, damar, dan lain-lain. Bahan organik tersebut mengalami berbagai tingkat pembusukan (dekomposisi) sehingga menyebabkan perubahan sifat-sifat fisik maupun kimia baik sebelum ataupun sesudah tertutup oleh endapan lainnya. Dua jenis material yang membentuk batubara, yaitu (Driyo, 2005):

- *Combustible Material*, yaitu bahan atau material yang dapat dibakar/ dioksidasi oleh oksigen. Material tersebut umumnya terdiri dari karbon padat (Fixed Carbon), senyawa hidrokarbon, total Sulfur, senyawa Hidrogen, dan beberapa senyawa lainnya dalam jumlah kecil.
- *Non Combustible Material*, yaitu bahan atau material yang tidak dapat dibakar/dioksidasi oleh oksigen. Material tersebut umumnya terdiri dan senyawa anorganik (SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , TiO_2 , Mn_3O_4 , CaO , MgO , Na_2O , K_2O dan senyawa logam lainnya dalam jumlah kecil) yang akan membentuk abu

dalam batubara. Kandungan non combustible material ini umumnya tidak diinginkan karena akan mengurangi nilai bakarnya.

Pada proses pembentukan batubara, dengan bantuan faktor fisika dan kimia alam, selulosa yang berasal dari tanaman akan mengalami perubahan menjadi *Lignite*, *Subbituminous*, *Bituminous* atau *Anthracite* (Driyo, 2005). Untuk proses pembatubaraan fase lanjut dengan waktu yang cukup lama atau dengan bantuan pemanasan, maka unsur senyawa karbon padat yang terbentuk akan bertambah sehingga grade batubara akan menjadi lebih tinggi. Pada fase ini unsur Hidrogen yang terikat pada molekul air yang terbentuk akan menjadi semakin sedikit (Driyo, 2005).

Konsep bahwa batubara berasal dari sisa tumbuhan diperkuat dengan ditemukannya cetakan tumbuhan di dalam lapisan batubara. Dalam penyusunannya batubara diperkaya dengan berbagai macam polimer organik yang berasal dari antara lain karbohidrat, lignin, dll. Namun komposisi dari polimer-polimer ini bervariasi bergantung pada spesies dari tumbuhan penyusunnya (Driyo, 2005).

2.1.3 Klasifikasi Batubara

Secara umum batubara digolongkan menjadi 5 tingkatan (dari tingkatan paling tinggi sampai tingkatan paling rendah) yaitu : *anthracite bituminous coal*, *sub bituminous coal*, *lignite* dan *peat* (gambut).

Tabel 2.1 Klasifikasi batubara berdasarkan kandungan karbon, kelembaban dan analisis unsur. Diadopsi dari Hodek (1994) dan Opaprakasit (2003).

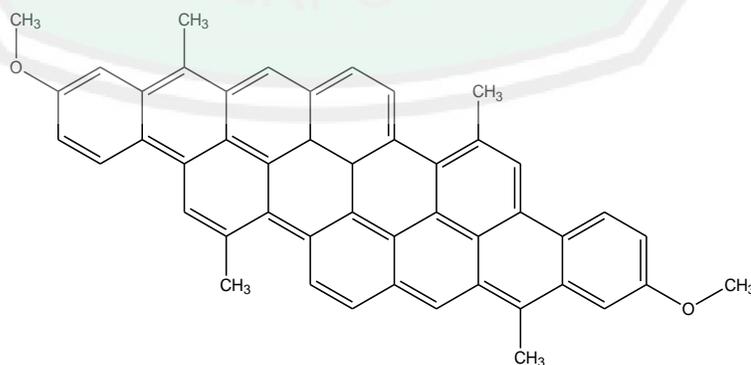
Jenis Batubara	Karakteristik
Lignit	Terbentuk dari pemadatan dan dekomposisi gambut dan batubara coklat. Hal ini ditandai dengan batubara kadar air tinggi dengan energi panas mulai dari 8-10 MJ / Kg. Terutama digunakan untuk pembangkit tenaga listrik. C - 25 sampai 35%, H - 6%, O - 25%
Sub-bituminus	Bertahap hilangnya kelompok karboksil dan metoksil dan kerugian berikutnya di O:C dan H:C rasio dalam hasil batubara lignit dalam jelaga, kadar air tinggi dan kandungan sulfur yang rendah, yang membuatnya menarik untuk digunakan dalam aplikasi pembakaran bersih. C - 35 sampai 45%, H - 5%, O - 9%
Bituminus	Tahap selanjutnya dari catagenesis, sering disebut sebagai pembentukan batubara dimulai pada tingkat ini. Tahap ini ditandai dengan redistribusi H ₂ mengarah ke tingkat berikutnya dari pembentukan batubara. Paling cepat berkembang di pasar batubara dengan nilai yang menghasilkan panas 28 MJ / Kg dan kadar air kurang dari 3%. Digunakan terutama untuk pembangkitan listrik dan kokas untuk industri baja. C - 45 menjadi 86%, H - 4,5%, O - 3%
Anthrasit	Sebuah batubara mengkilap, yang berisi kandungan air hampir tidak ada dan konten energi dan bisa sampai 32 MJ / Kg. Ini memiliki volatilitas terendah di antara semua kategori. Ia membakar dengan asap sedikit atau tidak ada, alasan seringnya penggunaan untuk pemanasan rumah. C-86 sampai 96%, H - 3,8%, O - 1,3%

Penggolongan tersebut menekankan pada kandungan relatif antara unsur C dan H₂O yang terdapat dalam batubara. Pada anthracite kandungan C relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan H₂O. pada bituminus dan pada peat kandungan unsur C relatif lebih rendah dibandingkan dengan kandungan H₂O (Rinawan, 1992). Pada bituminus kandungan unsur C relatif lebih rendah dibandingkan dengan kandungan unsur C pada anthrasit, sebaliknya kandungan H₂O

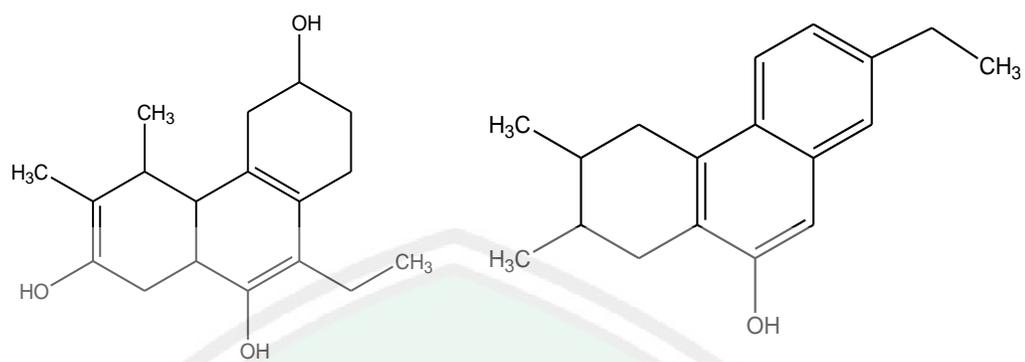
pada bituminus relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan H₂O pada anthrasit. Mempergunakan konsep analogi, disimpulkan kandungan unsur C dalam peat relatif paling sedikit, sebaliknya kandungan H₂O paling banyak dibandingkan dengan jenis batubara yang lain (Sukandarrumidi, 2006).

2.1.4 Struktur Molekul Batubara

Material organik batubara terbentuk dari makromolekul yang memiliki berat molekul ratusan sampai ribuan atau lebih, yang tersusun dari unit dasar berupa cincin benzena (*benzene ring*) dan cincin aromatik polinukleus (*polynucleus aromatic ring*) yang gugus fungsionalnya (misalnya gugus metil atau gugus hidroksil) saling berikatan. Unit-unit dasar tersebut terhubung dengan ikatan metilen, ikatan ether, dan ikatan lain. Adapun makromolekul itu sendiri terhubung dengan ikatan nonkovalen seperti ikatan π - π (ikatan Van der Waals bertipe aromatic flat space), ikatan hidrogen, ikatan ion, dan ikatan lainnya, membentuk struktur jaringan 3 dimensi yang kuat. Dari hasil penelitian, interaksi di antara molekul-molekul tersebut ternyata diketahui sebagai faktor yang mempengaruhi perubahan sifat material dan karakteristik reaksi termokimia pada batubara saat mendapat perlakuan panas.

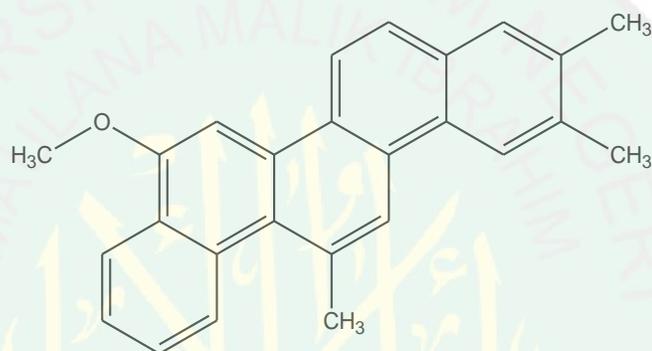


Anthracite (hard) coal

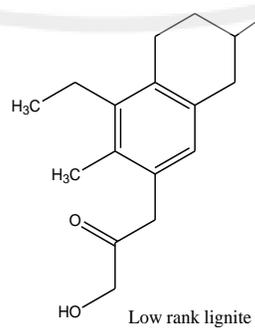
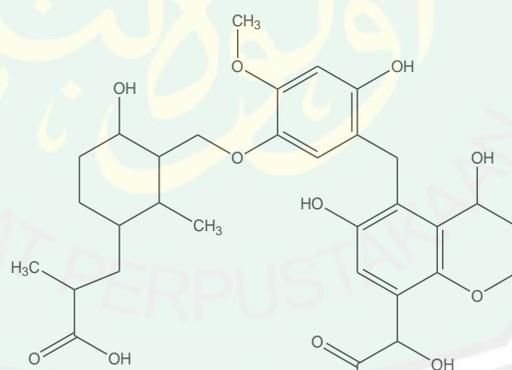


Sub bituminous coal
(High rank lignite)

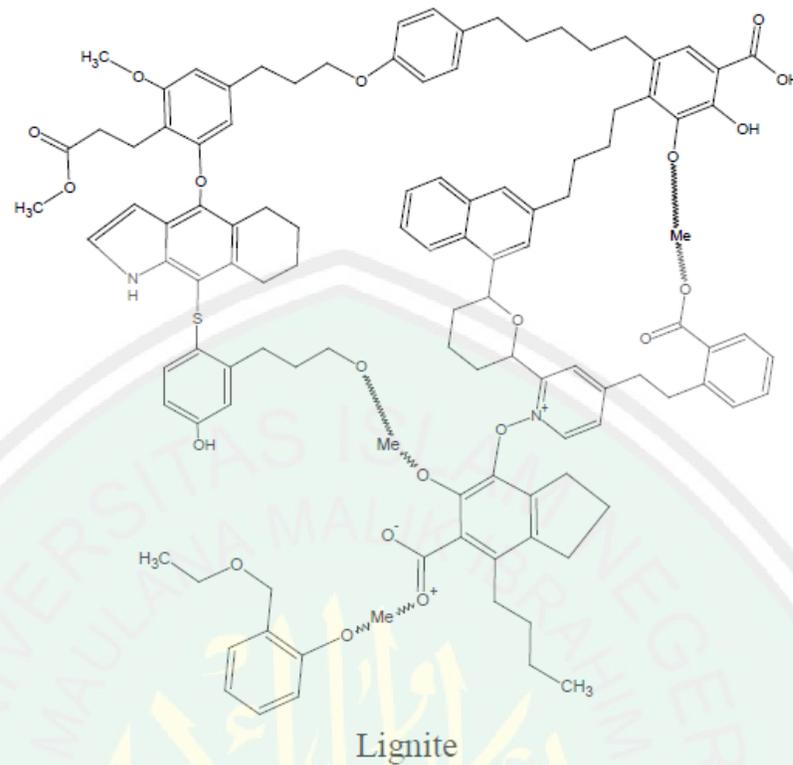
High volatile
Bituminous (hard) coal



Low volatile bituminous (hard) coal



Low rank lignite



Gambar 2.2 Struktur molekul batubara
 Sumber: Fakoussa dan Hofrichter, 1999

2.1.5 Bioteknologi Batubara

Bioprocessing batubara telah difokuskan pada dua bidang luas: benefisasi batubara untuk menghilangkan kotoran dan transformasi batubara yang melibatkan pencairan mikroba dan depolimerisasi, dekolorisasi, gasifikasi dan pretreatment (Olson dan Brinckman, 1986).

Proses pertama melibatkan penghapusan sulfur, nitrogen dan pengurangan kadar abu menggunakan proses mikroba ringan. Konversi batubara mikroba tidak didefinisikan dengan baik, meskipun tujuan keseluruhan dari konversi ini adalah produksi nilai tambah produk seperti bahan bakar bersih dan bahan kimia khusus.

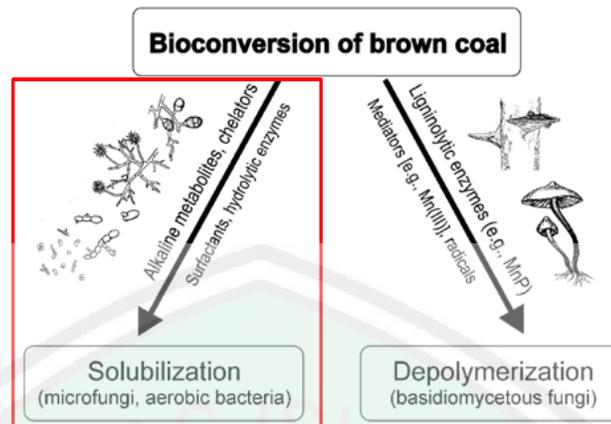
Namun, fungsi dari kedua daerah tergantung pada pemahaman yang kuat tentang struktur batubara dan kereaktifannya (Catcheside dan Ralph, 1999).

Kegiatan ini menggambarkan fenomena yang sama sekali berbeda dan karena itu harus dibedakan secara jelas. Pencairan didefinisikan sebagai konversi hanya dari batubara ke lain Bentuk fisik (padat ke cair) tanpa implikasi proses, sedangkan pencairan didefinisikan sebagai pemutusan seluruh atau sebagian dari molekul batubara dengan pelarut alkali atau organik (Klein, 1999).

2.1.6 Pencairan Batubara

Pencairan dari batubara coklat, yang mengarah pada pembentukan cairan hitam, adalah proses desolving terutama nonenzimatik yang terjadi secara istimewa pada pH tinggi (pH 7-10) dan karena pembentukan mikroba zat alkali dan / atau bahan kelat dan surfaktan. Selain itu, studi terbaru telah memberikan indikasi baru bahwa enzim hidrolitik tertentu dapat digunakan pada proses pencairan (Hofrichter , 1997).

Pencairan batubara tidak mengakibatkan penurunan substansial dalam massa molekul zat humat batubara, sebaliknya, bahkan dapat disertai dengan reaksi polimerisasi dan peningkatan massa molekul yang dominan (Hofrichter , 1997).



Gambar 2.3 Dua struktural modifikasi utama batubara coklat oleh mikroorganism (Hofrichter , 1997).



Gambar 2.4 Pencairan batubara coklat oleh microfungus berfilamen (*Alternaria sp.*). Tetesan hitam terbentuk dari sepotong batubara coklat (3 mm) ditempatkan pra-tumbuh pada piring agar (Hofrichter , 1997).

Kemampuan untuk melarutkan batu bara telah didominasi berhubungan dengan jamur berfilamen meskipun beberapa bakteri berfilamen, anggota actinomycetes dan kadang-kadang Eubacteria, telah dilaporkan (Fakoussa dan Hofrichter, 1999 dalam Oncu , 2007).

Mekanisme pencairan mikroba yang belum sepenuhnya dipahami. Para peneliti telah mendalilkan bahwa beberapa senyawa yang dihasilkan melalui aksi mikroba seperti enzim oksidatif dan hidrolitik, zat alkali dan chelators (Cohen dan Gabriele, 1982 dalam Laborda , 1999).

Pencairan batubara dapat dijelaskan oleh model deskriptif, di mana proses pencairan dipengaruhi oleh Deuteromycetes dan di mana tetesan guttation dibentuk oleh jamur yang tumbuh di kedekatan partikel batubara (Gambar 2.4). Reaksi pencairan terjadi dalam tetesan guttation dimediasi oleh zat alkalin ada di media pertumbuhan jamur. Reaksi terjadi karena produksi zat alkali, NH_4^+ atau zat kelat seperti asam dikarboksilat (Klein, 1999 dalam Holker, 2002). Zat alkali berfungsi untuk melarutkan batu bara dengan deprotonasi kelompok asam untuk meningkatkan kelarutan dalam air, sedangkan zat kelat berfungsi untuk menghilangkan logam dari struktur yang berfungsi untuk molekul keseluruhan bersama sebagai kompleks.

Batubara yang dihasilkan dari berbagai prekursor bawah berbagai reaksi kimia, dan oleh karena itu memiliki struktur makromolekul didominasi heterogen yang sangat ikatan silang. Struktur molekul yang tetap masih kurang dipahami (Fakoussa dan Hofrichter, 1999 dalam Stefanova, 2004). Struktur ini tergantung pada peringkat dan itu telah dibuktikan bahwa tidak ada dua batubara serupa, hal ini dipengaruhi oleh letak geografis serta kondisi di mana diagenesis dan catagenesis terjadi (Fakoussa dan Hofrichter, 1999).

cara mensekresikan enzim-enzim hidrolitik yang sangat ampuh kedalam makanan tersebut. Enzim-enzim itu akan menguraikan molekul kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat diserap dan digunakan oleh fungi (Campbell, 2003).

Fungi dapat hidup dari benda organik mati yang terlarut, yang disebut dengan *saprophyt*. Saprophyt menghancurkan sisa-sisa tumbuhan dan hewan yang kompleks dan menguraikannya menjadi zat-zat kimia yang lebih sederhana, yang kemudian dikembalikan ke dalam tanah, dan selanjutnya meningkatkan kesuburan (Pelezar, 1986).

2.2.1 Jamur Selulolitik

Jamur atau cendawan merupakan organisme heterotrofik yang memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya. Apabila hidup dari benda organik mati yang terlarut, mereka disebut saprophyt. Saprophyt menghancurkan sisa-sisa tumbuhan dan hewan yang kompleks, menguraikannya menjadi zat-zat kimia yang lebih sederhana, kemudian mengembalikannya ke dalam tanah. Beberapa jamur meskipun saprophyt dapat juga menyerbu inang yang hidup, lalu tumbuh dengan subur pada inang tersebut sebagai parasit. Sebagai parasit, mereka menimbulkan penyakit pada tumbuhan dan hewan, termasuk manusia. Akan tetapi, di antara sekitar 500000 spesies jamur, hanya lebih kurang 100 yang patogenik terhadap manusia (Pelezar, 2008).

Sel jamur tidak mengandung klorofil sehingga tidak dapat berfotosintesis seperti tumbuhan. Jamur memperoleh makanan secara heterotrof dengan mengambil makanan dari bahan organik. Bahan-bahan organik yang ada di sekitar tempat

tumbuhnya diubah menjadi molekul-molekul sederhana dengan bantuan enzim yang dihasilkan hifa (Pelezar, 2008).

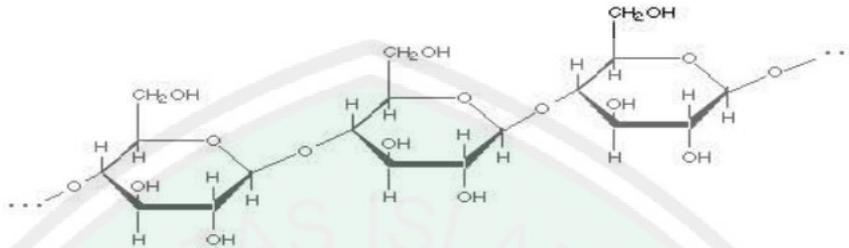
Jamur memiliki daya pemecahan selulosa lebih tinggi daripada bakteri, terutama di tanah asam. Jenis-jenis dari spesies *Fusarium* dan *Chaetomium* memegang peranan penting. Selebihnya jamur selulolitik yang terkenal adalah *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *trichoderma viride*, *Chaetomium globasum*, dan *Myrothecium verrucaria* (Schlegel dan Schmidt, 1994).

2.2.2 Selulosa

Selulosa merupakan senyawa organik yang paling melimpah di bumi dan merupakan komponen kayu yang terbesar. Selulosa terdapat pada kayu lunak maupun kayu keras, struktur kimianya berupa polimer dengan berat molekul tinggi yang seluruhnya tersusun atas β -D-Glukosa secara teratur yang disebut kristalin, atau tersusun kurang teratur yang disebut amorf. Zat-zat yang menetap di dalam tanah dan sisa-sisa tumbuhan yang dikembalikan ke tanah 40-70% terdiri dari selulosa (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Di dalam kayu, selulosa tidak berdiri sendiri, tetapi juga terikat dengan poliosa lain yaitu lignin. Fengel dan Weneger (1983), memperkirakan selulosa total dalam dunia nabati berjumlah sekitar $26,5 \times 10^{10}$ ton. Selulosa merupakan polimer β -glukosa dengan ikatan β -1,4. Degradasi selulosa menjadi glukosa memerlukan 3 enzim, yaitu endo β -1,4-glukanase yang memecah selulosa menjadi lebih pendek (oligosakarida), ekso β -1,4-glukanase memotong oligosakarida menjadi selobiosa

(disakarida) dari ujung non reduksi, dan β -glukosidase memecah selobiosa menjadi β -glukosa (Purwoko, 2007).



Gambar 2.6 Struktur Selulosa
Sumber: Ophardt, 2003

2.3 Media Pertumbuhan

Media adalah tempat di mana mikroorganisme dapat tumbuh dan didalamnya terdapat nutrisi makanan untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Media dikelompokkan menjadi dua, yaitu media biasa dan media khusus. Nutrisi dari suatu mikroorganisme amat beragam, namun kebutuhan akan nutrisi pada dasarnya sama yaitu air, sumber energi, zat hara sebagai karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, hidrogen, mineral dan faktor tumbuh yaitu berupa asam amino, pigmen atau nukleusida. Media umumnya berfungsi untuk mengisolasi mikroba, memperbanyak mikroba, pengujian sifat fisiologi, dan untuk perhitungan jumlah mikroba (Hardioetomo 1983).

2.3.1 *Potatoes Dextrosa Agar (PDA)*

PDA digunakan untuk menumbuhkan atau mengidentifikasi yeast dan kapang. Dapat juga digunakan untuk enumerasi yeast dan kapang dalam suatu sampel atau produk makanan. Media PDA (Potato Dextrosa agar) merupakan medium semi

sintetik. Media merupakan tempat dimana terjadi perkembangan organisme. Organisme menyerap karbohidrat dari kaldu kentang dan gula serta dari agar yang telah bercampur. Hal inilah yang menyebabkan mengapa kentang harus di potong dadu, agar karbohidrat di kentang dapat keluar dan menyatu dengan air sehingga menjadi kaldu. Semakin kecil permukaan, maka semakin besar daya osmosisnya.

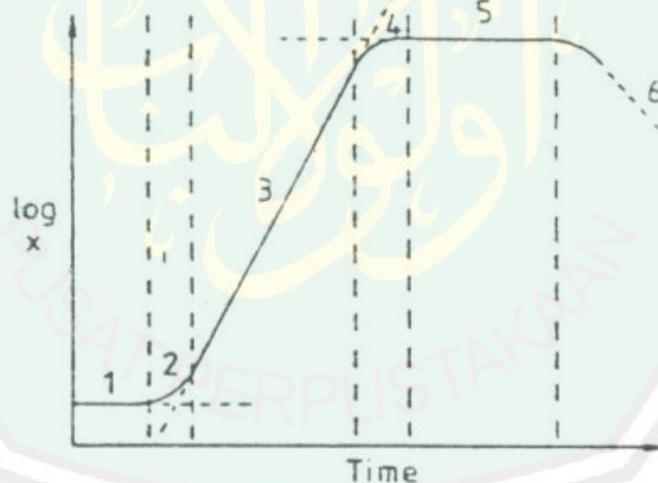
2.3.2 *Carboxil Methyl Cellulose (CMC)*

Carboxil Methyl Cellulose (CMC) merupakan turunan selulosa, kopolimer dua unit β -D-glukosa dan β -D-glukopiranos 2- *O*-(karboksilmetil)-garam monosodium yang terikat melalui ikatan β -1,4-glikosidik. CMC memiliki kelarutan lebih tinggi daripada selulosa, sehingga mudah dihidrolisis. Hidrolisis CMC menjadi gula-gula sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan katalis asam, enzim maupun mikroba selulolitik. Beberapa penelitian melaporkan bahwa proses hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan daripada menggunakan asam. Selain tidak menimbulkan masalah korosi dan berlangsung pada kondisi *mild* (pH 4,8 dan suhu 50°C), ternyata proses hidrolisis secara enzimatik menghasilkan *yield* lebih tinggi daripada hidrolisis yang dikatalisis asam (Duff dan Murray, 1996).

2.4 Kurva Pertumbuhan Jamur

Setiap mikroorganisme mempunyai kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan fungi mempunyai beberapa fase, antara lain : (1) fase lag, yaitu fase penyesuaian sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; (2) fase akselerasi, yaitu fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif; (3) fase eksponensial, merupakan fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak,

aktivitas sel sangat meningkat, dan fase ini merupakan fase yang penting bagi kehidupan fungi. Pada awal fase-fase ini kita dapat memanen enzim-enzim dan akhir pada fase ini atau (4) fase deselerasi, yaitu waktu sel-sel mulai kurang aktif membelah, kita dapat memanen biomassa sel atau senyawa-senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh sel; (5) fase stasioner, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang. Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang horizontal. Banyak senyawa metabolit sekunder yang dapat dipanen pada fase ini. Selanjutnya pada (6) fase kematian dipercepat, jumlah sel-sel yang mati lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup. Kurva pertumbuhan suatu fungi dapat dilihat pada gambar berikut (Gandjar dan Wellyzar, 2006) :



Gambar 2.7 Kurva Pertumbuhan Fungi. (1) Fase Lag; (2) Fase Akselerasi; (3) Fase Ekspensial; (4) Fase Deselerasi; (5) Fase Stasioner; (6) Fase Kematian. (Gandjar dan Wellyzar, 2006)

2.5 Identifikasi Jamur

Pada umumnya identifikasi jamur, dapat dilakukan sampai genus berdasarkan penampakan morfologi koloni dan morfologi mikroskopiknya. Sedangkan untuk

identifikasi sampai ke tingkat spesies, seringkali diperlukan data sifat fisiologi atau biokimianya. Apabila diperlukan informasi yang lebih cermat lagi gambar yang lebih rinci akan didapatkan melalui bantuan mikroskop elektron. Di dalam Gandjar . (1999), disebutkan beberapa hal yang perlu diperhatikan pada awal mempelajari jamur yang sudah ditanam pada media adalah sebagai berikut:

1. Medium yang dipakai, suhu inkubasi, umur pada waktu deskripsi dibuat.
2. Morfologi (halus, licin, kasar, rata, menggunung, dan lain-lain) dan warna koloni.
3. Warna sebalik koloni (*reverse side*).
4. Pengamatan mikroskopis, baik bentuk maupun ukuran bagian-bagian jamur (bentuk-bentuk sel reproduksi seksual dan aseksual, bentuk dan warna hifa, ada tidaknya rhizoid, ada tidaknya sel kaki).

Pengamatan Morfologi Koloni

1. Warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin, ada atau tidaknya tetes-tetes eksudat).
2. Ada atau tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni ke daerah tepi koloni.
3. Ada atau tidaknya lingkaran-lingkaran konsentris

Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan mikroskopik preparat yang diamati adalah sebagai berikut:

1. Hifa berseptata atau tidak

2. Hifa berpigmentasi hialin (tak berwarna, atau biru bila diberi cat) atau gelap (dematiaceous, yaitu coklat kehijauan atau kehitaman, hitam kelam, hitam keabu-abuan).
3. Hifa berbentuk spiral, atau bernodul, atau mempunyai rhizoid.
4. Spora aseksual berbentuk sederhana seperti arthospora, blastospora, klamidospora (terminal atau interkalar), atau sporangiospora.
5. Spora aseksual berbentuk lebih khusus, seperti konidia atau aleospora yang dibentuk pada hifa khusus yang disebut konidiofor.

2.6 Pembentukan Zona Bening

Coughlan dkk (1991) menyatakan bahwa analisis kualitatif aktivitas jamur selulolitik dapat dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Pembentukan zona bening menunjukkan bahwa selulosa yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi senyawa yang sederhana yaitu selobiosa yang kemudian disederhanakan menjadi dua molekul glukosa (Perez dkk, 2002).

Koloni isolat yang ditumbuhkan pada media agar-agar CMC berumur 6 hari disiram dengan larutan *congo red* 0.1 %, untuk memperjelas terbentuknya zona bening. *Congo red* memiliki interaksi yang kuat dengan polisakarida yang mengandung rantai ikatan β -(1,4)-D-glukopiranosil. Untuk memperjelas visualisasi zona bening yang terbentuk, media agar-agar disiram dengan larutan HCl 1M yang akan merubah warna menjadi biru serta menghentikan aktivitas enzim (Teather dkk, 1982).

Zona bening yang tidak ikut terwarnai menandakan bahwa selulosa telah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler, yaitu enzim yang dihasilkan di dalam sel dan dilepaskan ke dalam media sehingga dapat menghidrolisis makromolekul seperti selulosa, kemudian hasil hidrolisis diserap sel (Crueger dan Crueger, 1984).

Hidayat (2008) menyatakan bahwa selulosa merupakan senyawa yang mempunyai karakter hidrofilik serta mempunyai gugus alkohol primer dan sekunder yang keduanya mampu mengadakan reaksi dengan zat warna reaktif. Selulosa alam ataupun turunannya dapat berinteraksi dengan permukaan gugus fungsi secara fisik atau kimia.

Congo red memiliki struktur molekul yang kompleks. dengan struktur molekul tersebut menyebabkan besarnya gaya tarik molekul antara pelarut air dengan *congo red* (Namasivayam dkk,1996). Pada proses adsorpsi, bentuk molekul *congo red* memegang peranan yang sangat penting. Dalam air *congo red* akan terionisasi dalam bentuk anion (Najar dkk, 2005).

Pada penelitian sebelumnya, Kanti (2005) telah melakukan penelitian *Actinomyces* selulolitik dari tanah hutan taman nasional bukit duabelas, jambi. pengujian ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk pada medium CMC. Hal ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas enzim dari *Actinomyces*. Pengujian zona bening dilakukan dengan menggunakan larutan *congo red* 1 M sebagai larutan penguji dan NaCl 0,1 N sebagai larutan pencuci. Sebanyak 2 mL larutan *congo red* dituangkan ke dalam media yang berisi isolat, kemudian didiamkan selama 10 menit. Larutan dibuang kemudian dibilas dengan larutan NaCl 0,1 N,

setelah itu diamati keberadaan zona bening. Didapatkan dua isolat *Actinomycetes* dari genus *Streptomyces* yang berasal dari taman nasional bukit duabelas jambi.

Sedangkan pada penelitian Nurkanto (2007) telah melakukan identifikasi aktinomisetes tanah hutan pasca kebakaran bukit bangkirai kalimantan timur dan potensinya sebagai pendegradasi selulosa dan pelarut fosfat. Dengan menggunakan NaCl 1% untuk mencuci larutan *congo red* 0,1% dan diperoleh tujuh genus yaitu *Streptomyces*, *Nocardia*, *Microbiospora*, *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Microtetraspora* dan *Streptosporangium*. Dan berdasarkan metode Apun dkk (2000) isolat-isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media CMC agar. Visualisasi zona bening dilakukan dengan *congo red* (1 mg/ml) selama 15 menit kemudian dicuci dengan NaCl 1 M.

2.7 Aktifitas Enzim

Ada beberapa faktor untuk menentukan aktivitas enzim berdasarkan efek katalisnya yaitu persamaan reaksi yang dikatalisis, kebutuhan kofaktor, pengaruh konsentrasi substrat dan kofaktor, pH optimal, daerah temperatur, dan penentuan berkurangnya substrat atau bertambahnya hasil reaksi. Penentuan ini biasa dilakukan di pH optimal dengan konsentrasi substrat dan kofaktor berlebih, menjadikan laju reaksi yang terjadi merupakan tingkat ke 0 (*zero order reaction*) terhadap substrat. Pengamatan reaksinya dengan berbagai cara kimia atau spektrofotometri. Ada dua teori tentang mekanisme pengikatan substrat oleh enzim, yaitu teori kunci dan anak kunci (*lock and key*) dan teori *induced fit* (Wirahadikusumah, 1989). Sifat-sifat enzim antara lain:

1. Spesifitas

Aktivitas enzim sangat spesifik karena pada umumnya enzim tertentu hanya akan mengkatalisis reaksi saja. Sebagai contoh, laktase menghidrolisis gula laktosa tetapi tidak berpengaruh terhadap disakarida yang lain. Hanya molekul laktosa saja yang akan sesuai dalam sisi aktif molekul (Gaman dan Sherrington, 1994).

2. Pengaruh Suhu

Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh suhu. Untuk enzim hewan suhu optimal antara 35°C dan 40°C, yaitu suhu tubuh. Pada suhu diatas dan dibawah optimalnya, aktivitas enzim berkurang. Diatas suhu 50°C enzim secara bertahap menjadi inaktif karena protein terdenaturasi. Pada suhu 100°C semua enzim rusak. Pada suhu yang sangat rendah, enzim tidak benar-benar rusak tetapi aktivitasnya sangat banyak berkurang (Gaman dan Sherrington, 1994). Enzim memiliki suhu optimum yaitu sekitar 18-23°C atau maksimal 40°C karena pada suhu 45°C enzim akan terdenaturasi karena merupakan salah satu bentuk protein (Tranggono dan Setiaji, 1989).

Suhu yang tinggi akan menaikkan aktivitas enzim namun sebaliknya juga akan mendenaturasi enzim (Martoharsono, 1994). Peningkatan temperatur dapat meningkatkan kecepatan reaksi karena molekul atom mempunyai energi yang lebih besar dan mempunyai kecenderungan untuk berpindah. Ketika temperatur meningkat, proses denaturasi juga mulai berlangsung dan menghancurkan aktivitas molekul enzim. Hal ini dikarenakan adanya rantai protein yang tidak terlipat setelah pemutusan ikatan yang lemah sehingga secara keseluruhan kecepatan reaksi akan menurun (Lee, 1992).

3. Pengaruh pH

pH optimal enzim adalah sekitar pH 7 (netral) dan jika medium menjadi sangat asam atau sangat alkalis enzim mengalami inaktivasi. Akan tetapi beberapa enzim hanya beroperasi dalam keadaan asam atau alkalis. Sebagai contoh, pepsin, enzim yang dikeluarkan ke lambung hanya dapat berfungsi dalam kondisi asam, dengan pH optimal 2 (Gaman dan Sherrington, 1994).

Enzim memiliki konstanta disosiasi pada gugus asam ataupun gugus basa terutama pada residu terminal karboksil dan asam aminonya. Namun dalam suatu reaksi kimia, pH untuk suatu enzim tidak boleh terlalu asam maupun terlalu basa karena akan menurunkan kecepatan reaksi dengan terjadinya denaturasi. Sebenarnya enzim juga memiliki pH optimum tertentu, pada umumnya 4,5-8, dan pada kisaran pH tersebut enzim mempunyai kestabilan yang tinggi (Williamson dan Fieser, 1992).

4. Ko-enzim dan aktovator

Ko-enzim adalah substansi bukan protein yang mengaktifkan enzim. Beberapa ion anorganik, misalnya ion kalsium dan ion klorida, menaikkan aktivitas beberapa enzim dan dikenal sebagai aktivator (Gaman dan Sherrington, 1994).

2.8 Enzim Selulase

Enzim merupakan suatu biokatalisator dalam reaksi biokimia dan setiap enzim memiliki kemampuan spesifik untuk merubah molekul tertentu. Sebagai katalisator, enzim hanya meningkatkan kecepatan reaksi dan sangat spesifik untuk reaksi yang dikatalisnya (Rismijana, 2003).

Sekalipun semua enzim pada awalnya dihasilkan di dalam sel, akan tetapi beberapa enzim dapat diekskresikan melalui dinding sel dan dapat berfungsi di luar sel. Oleh karena itu dikenal dua tipe enzim, yaitu enzim ekstraseluler atau *eksoenzim* dan intraseluler atau *endoenzim*. Enzim bersifat tidak stabil, aktivitasnya dapat berkurang dengan nyata atau hancur oleh berbagai kondisi fisik atau kimiawi (Pelezar dan Chan, 2008). Adapun keadaan-keadaan yang mempengaruhi laju reaksi yang dikatalisis enzim dipengaruhi oleh (Murray, 1999):

1. Suhu

Suhu rendah yang mendekati titik beku biasanya tidak merusak enzim. Pada suhu dimana enzim masih aktif, kenaikan suhu sebanyak 10°C yang menyebabkan keaktifan menjadi 2 kali lebih besar sehingga akan meningkatkan laju reaksi sampai titik yang melebihi hambatan energi untuk merusak interaksi nonkovalen yang mempertahankan struktur tiga dimensi enzim, yang kemudian akan menguraikan rantai polipeptida enzim dan akhirnya mengalami denaturasi, disertai hilangnya kemampuan katalitik enzim. Enzim akan bekerja dengan baik pada suhu optimum. Di dalam tubuh manusia enzim akan bekerja optimum pada suhu sekitar 37°C .

2. Konsentrasi Ion Hidrogen (pH)

Aktivitas enzim sangat tergantung terhadap pH, oleh karena itu terdapat komponen asam dan basa dalam protein penyusun enzim. Sebagian besar enzim intrasel memperlihatkan aktivitas optimal pada nilai pH antara 5 dan 9. Hubungan aktivitas dengan konsentrasi ion hidrogen mencerminkan keseimbangan antara denaturasi enzim pada pH tinggi atau rendah.

3. Konsentrasi Substrat

Untuk suatu enzim tipikal, peningkatan konsentrasi substrat akan meningkatkan kecepatan awal, hingga tercapai nilai maksimal, jika peningkatan lebih lanjut, konsentrasi substrat tidak meningkatkan kecepatan awal, enzim dikatakan “jenuh” oleh substrat.

4. Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim. Makin besar jumlah enzim makin cepat reaksinya. Konsentrasi enzim tidak mempengaruhi harga K_{eq} (suatu rasio berbagai konstanta laju reaksi), dapat dihitung dari konsentrasi substrat dan produk pada keseimbangan.

5. Inhibitor

Inhibitor dapat bersifat reversibel maupun irreversibel, inhibitor reversibel akan membentuk suatu kompleks dinamik yang dapat terlepas dari enzimnya, sedangkan inhibitor yang irreversibel akan memodifikasi enzim secara kimiawi. Modifikasi ini umumnya melibatkan pembentukan atau pemutusan ikatan kovalen dengan residu aminoasil yang esensial untuk mengikat substrat, katalisis atau memperthankan konformasi fungsional enzim. Suatu enzim yang telah terikat oleh inhibitor irreversibel (misalkan atom logam berat atau reagen pengasil) biasanya tidak dapat kembali ke bentuk semula.

Enzim yang dapat digunakan untuk mendegradasi selulosa adalah enzim selulase. Selulase adalah enzim yang mampu menguraikan selulosa dalam menghidrolisis ikatan β (1,4) glikosida menjadi bentuk yang lebih sederhana yang kemudian menguraikan lebih lanjut hingga menjadi monomer glukosa. Penguraian

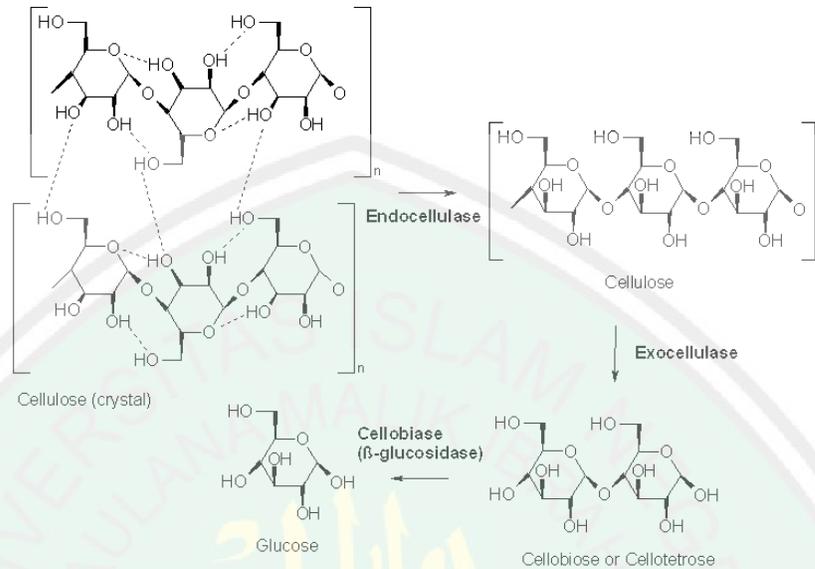
oleh enzim selulase penting sekali mengingat banyaknya selulosa yang terdapat di alam, yang perlu diuraikan kembali dimana selulosa merupakan pembentuk struktur dasar dari tumbuh-tumbuhan, komponen utama pada limbah pertanian dan banyak terdapat sebagai limbah perkotaan. Mikroorganisme tertentu mempunyai kesanggupan untuk tumbuh pada selulosa. Mikroorganisme yang digunakan untuk mendapatkan selulase diantaranya, *Myrotechium verucaria*, *Trichoderma viridae*, *penecillium pusillim*, *Streptomycetes sp.* (Murray, 1999).

Enzim selulase merupakan enzim yang memegang peranan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa (Chalal, 1983). Enzim selulase dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti tanaman, insekta (hewan) dan mikroorganisme (Maranatha, 2007). Pemanfaatan mikroorganisme sebagai sumber enzim mempunyai beberapa keuntungan antara lain produktivitas mikroba dalam menghasilkan enzim dapat ditingkatkan dengan mudah dibandingkan dengan tanaman dan hewan (Rachman, 1989). Sistem enzim selulase bakteri adalah lebih sulit dibandingkan dengan sistem enzim selulase fungi dan hanya sedikit yang baru diketahui dari sistem enzim selulase bakteri (Mattinen, 1998).

Pemecahan enzimatik selulosa dilakukan oleh enzim selulase. Sistem enzim selulase terdiri dari 3 enzim yaitu (Fengel dan wenger, 1983):

1. Enzim endo- β -1,4-glukanase, mempengaruhi secara serentak ikatan β -1,4 di dalam makromolekul dan menghasilkan potongan-potongan besar berbentuk rantai dengan ujung bebas.
2. Enzim ekso- β -1,4-glukanase, memotong mulai dari ujung-ujung rantai disakarida, selobiosa.

3. Enzim β -glukanase, memotong selobiosa menjadi glukosa.



Gambar 2.8 Mekanisme Kerja Enzim Selulase

2.9 Uji Selulolitik

Berbagai metode tersedia untuk menentukan kemampuan mikrobia menggunakan selulosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Dengan membandingkan hasil yang diperoleh dari penggunaan metode yang berbeda dapat dianalisis kemampuan setiap mikrobia dalam menghidrolisis selulosa. Menurut Basuki (1988), metode itu adalah:

1. Pertumbuhan pada kertas saring selulosa
2. Pembentukan daerah bening pada *Acid Swollen Cellulose Agar*
3. Pelepasan warna Remazol Brilliant Blue (RBB dye) dari selulosa.
4. Aktivitas selulase dalam filtrate kultur setelah pertumbuhan pada tepung selulosa:
 - a. Produksi gula terlarut dari CMC
 - b. Penurunan viskositas dari CMC

- c. Produksi glukosa dari selobiosa.

2.10 Karakteristik Jamur

Jamur merupakan fungi multiseluler, terdiri dari banyak sel. Tubuh jamur terdiri atas jalinan hifa yang membentuk miselium (Buckle, 1985). Sel jamur bersifat eukariot, dinding sel tersusun atas kitin dan selulosa, tidak mempunyai klorofil, bersifat heterotof. Jamur bereproduksi secara aseksual dan seksual dengan menghasilkan spora (Alexopoulos, 1996).

Jamur tumbuh dengan cara memperpanjang hifa pada ujungnya, yang dikenal dengan sebagai pertumbuhan apical, atau pada bagian tengah hifa yang disebut pertumbuhan interkalar. Pada sebagian besar jamur tiap bagian pada miseliumnya memiliki potensi untuk tumbuh. Hifa pada beberapa jamur mempunyai penyekat melintang atau septa. Adanya septa ini dapat digunakan untuk identifikasi jenis jamur. Beberapa bagian hifa terlibat dalam pembentukan spora, baik secara seksual maupun aseksual. Satu hifa dapat menghasilkan beribu-ribu spora aseksual yang tahan akan perubahan cuaca yang berlawanan dengan hifa (Buckle, 1985 dalam Schlegel dan Schmidt, 1994).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia, Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, dan Laboratorium Genetik Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah inkubator, timbangan analitik, seperangkat alat gelas, *hot plate*, oven, *autoclave*, kawat ose, shaker inkubator, *vortex*, kuvet, *spektrofotometer*, cawan petri, kertas sampul, plastik WRAP, kantong plastik tahan panas, bunsen dan korek api, *bluetip*, mikropipet, laminar.

3.5.2 Bahan Penelitian

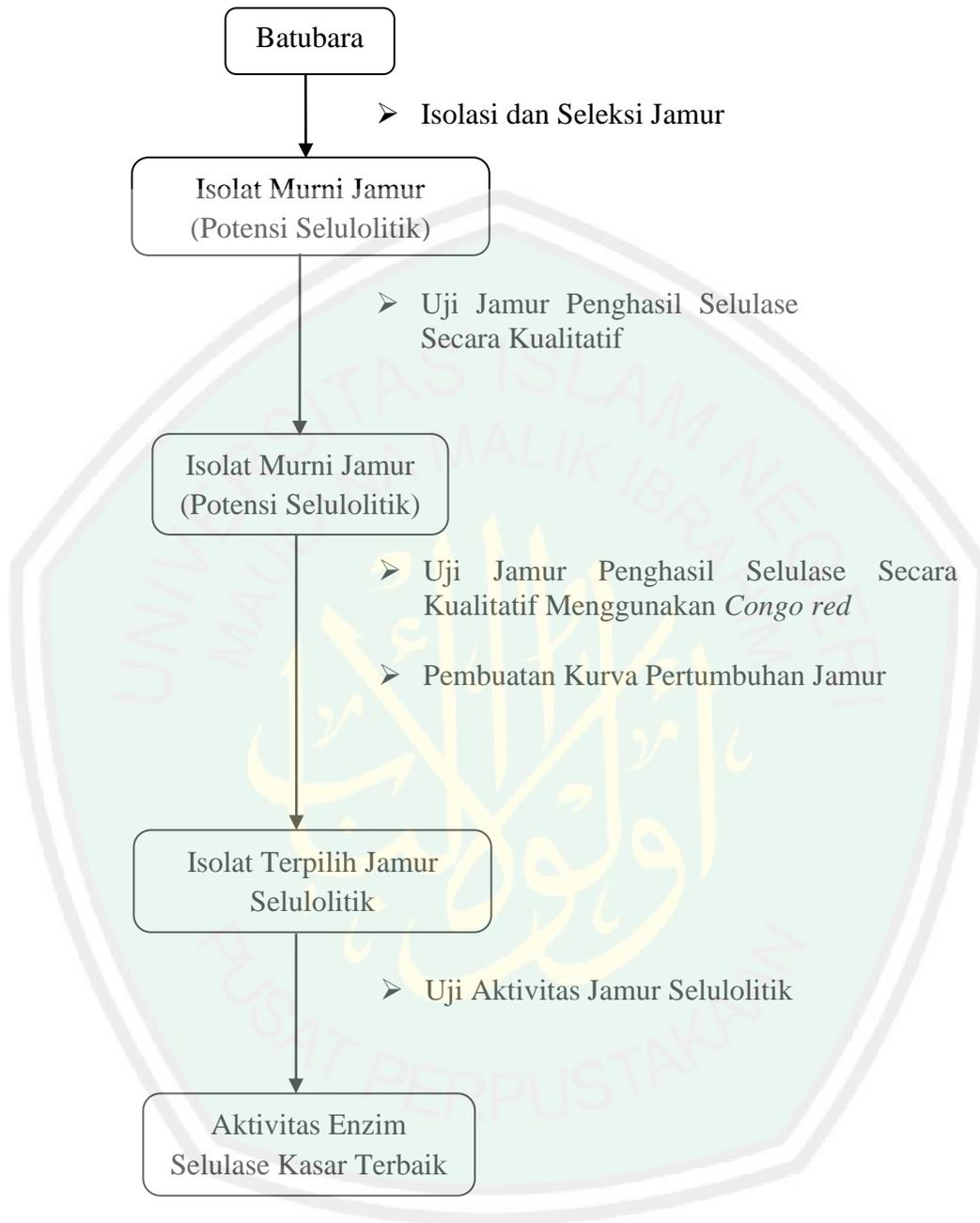
Sampel yang digunakan untuk isolasi jamur selulolitik adalah Batubara. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Potatoes Dextrose Agar* (PDA), *Carboxil Methil Cellulosa* (CMC) agar (1 g CMC; 0,04 g MgSO₄; 0,15 g KNO₃; 0,1 g K₂HPOH; 0,004 g CaCl₂; 0,4 g *Yeast Extract*; 3,4 g Agar), *Congo red* 1 %, CMC *broth* (CMC tanpa agar dan KNO₃), NaCl, aquades, alkohol 70 % untuk desinfektan, spirtus, alumunium foil, kertas label, tissue dan kapas secukupnya, kertas saring

Whatman No. 1, buffer asetat pH 5, 6, 7, dan 8, 3,5-dinitrosalisilat, NaOH, Na-K Tartat, fenol, Na-Metasulfit.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 2 model penelitian, yakni kualitatif dan kuantitatif. Penelitian tahap pertama dilakukan secara diskriptif kualitatif yaitu melakukan isolasi jamur selulolitik dari batubara. Isolasi dilakukan dengan menggunakan media selektif selulolitik kemudian jamur yang didapatkan dilakukan pengamatan secara makroskopis dan dilakukan uji aktivitas enzim selulase secara kualitatif.

Penelitian tahapan kedua dilakukan secara diskriptif kuantitatif untuk mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh isolat jamur selulolitik yaitu JM2.



3.4 Tahapan Penelitian

1. Tahap Preparasi Alat dan Bahan.
2. Pembuatan Media.
 - a. Media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA).
 - b. Media *Carboxil Methyl Cellulose* (CMC) *Agar* (untuk uji kemampuan selulolitik jamur).
 - c. Media *Carboxil Methyl Cellulose* (CMC) *Broth* (untuk kurva pertumbuhan jamur dan produksi enzim).
3. Isolasi Jamur dari Batubara.
4. Uji Jamur Penghasil Selulase Secara Kualitatif
5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Jamur.
6. Penentuan Total Gula Pereduksi dengan Metode DNS.
 - a. Penyiapan Pereaksi DNS
 - b. Pembuatan Kurva Standar
 - c. Penetapan Total Gula Pereduksi
 - d. Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Berbagai Variasi pH
7. Analisis Data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Tahap Preparasi Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam isolasi jamur (bluetip, tabung reaksi dan cawan petri) dicuci bersih kemudian dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan menggunakan kertas sampul kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik yang tahan panas. *Bluetip* dibungkus dengan kertas alumunium kemudian dimasukkan ke

dalam kantong plastik tahan panas dan erlemenyer juga dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas. Selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm.

Adapun bahan yang digunakan adalah batubara. Batubara yang didapat disimpan di tempat yang kering untuk proses selanjutnya (isolasi jamur).

3.5.2 Pembuatan Media

3.5.2.1 Media *Potato Dextrose Agar*

Kentang yang telah dikupas, dicuci dengan air, dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 50 gram menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya dimasukkan ke dalam beaker glass yang berisi 250 mL aquades dan dididihkan di atas hot plate sampai semua kentang hancur dan biarkan mendidih selama 15 menit. Larutan disaring dan filtrat ditambahkan dengan 7,5 gram agar dan dekstrosa sebanyak 2,5 gram kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Buat volume media tetap menjadi 250 mL dengan menambahkan sedikit demi sedikit aquades. Masukkan ke dalam Erlenmeyer masing-masing PDA sebanyak 50 mL dan ditutup dengan kapas, penutupan kapas tidak boleh terlalu ketat dan juga tidak terlalu longgar, kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2.2 Media *Carboxil Methyl Cellulose (CMC) Agar*

Media yang digunakan untuk uji kualitatif *Congo red* bakteri selulolitik adalah media CMC agar. CMC agar terdiri dari 1 gram CMC, 0,04 gram MgSO₄, 0,15 gram KNO₃, 0,1 gram K₂HPOH, 0,004 gram CaCl₂, 0,4 gram *Yeast extract* dan 3,4 gram agar. Semua bahan dicampur dengan aquades sebanyak 100 mL, dipanaskan

sampai mendidih sambil diaduk hingga larut, kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup kapas, kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2.3 Media *Carboxil Methyl Cellulose (CMC) Broth*

Media yang digunakan untuk kurva pertumbuhan jamur selulolitik adalah media *Carboxil Methyl Cellulose (CMC) Broth* (atau CMC tanpa agar) yang terdiri dari 1 gram CMC; 0,04 gram MgSO₄; 0,15 gram KNO₃; 0,1 gram K₂HPO₄; 0,004 gram CaCl₂ dan 0,4 gram *Yeast extract*. Semua bahan dicampur dan ditambahkan dengan 50 mL aquades kemudian ditepatkan sampai 100 mL, selanjutnya dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga larut, kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup kapas, kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.3 Isolasi Jamur dari Batubara

Batubara diletakkan kedalam wadah terbuka untuk proses penjamuran, setelah tumbuh bulu-bulu berwarna putih, batubara diambil sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi aquades steril 45 mL dan dikocok (pengenceran 10⁻¹), kemudian dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻¹⁰ dengan mengambil 1 mL dari pengenceran sebelumnya lalu diencerkan dengan 9 mL aquadest steril. Setiap pengenceran dilakukan *pour plate* ke dalam cawan petri dengan menggunakan media tanam *Potato Dextrose Agar*, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (setiap hari diamati). Pengenceran dilakukan untuk mengurangi kepadatan koloni yang tumbuh pada media isolasi sehingga memudahkan proses isolasi.

3.5.4 Uji Jamur Penghasil Selulase Secara Kualitatif (Apun *et al*, 2000)

Semua isolat murni yang diperoleh diuji kemampuannya untuk menghasilkan enzim selulase. Pengujian pembentukan zona bening dari isolat hasil pemurnian dilakukan dengan penginokulasian isolat jamur ke dalam media CMC agar. Kultur kemudian diinkubasi selama 7 hari (setiap hari diamati) pada suhu ruang. Visualisasi zona bening dilakukan dengan *congo red* (1 mg/mL) selama 15 menit kemudian dicuci dengan NaCl 1 M. indeks zona bening yang tinggi menunjukkan bahwa koloni tersebut diduga memiliki aktivitas enzim selulase yang tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat yang lain.

3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Jamur

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan cara menginkubasi kultur pada suhu kamar, diatas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Setelah 7 hari kemudian, miselium jamur yang tumbuh pada media cair disaring menggunakan kertas saring Whatman No 1, kemudian dikering-oven selama 24 jam pada suhu 80°C (Garraway dan Evans, 1991). Setelah itu miselium ditimbang, yaitu selisih berat antara kertas saring kosong dan kertas saring dengan miselium.

Isolat jamur yang menghasilkan bobot miselium paling besar kemungkinan mempunyai aktivitas enzim paling besar pula. Isolat ini dipilih untuk diamati pola pertumbuhannya. Isolat terpilih ditumbuhkan pada media cair dan setiap hari ditentukan bobot miseliumnya sampai hari ke 7.

3.5.6 Pengukuran Aktivitas Enzim dengan Metode Penetapan Total Gula Pereduksi dengan Metode Dinitrosalicylic Acid (DNS).

3.5.6.1 Penyiapan Perekasi DNS

Sebanyak 0,1 gram DNS, 0,1 gram NaOH, 0,005 gram Na₂SO₃, dan 0,02 gram fenol dilarutkan dalam 10 ml aquades, diaduk dengan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*). Setelah larut dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Larutan disimpan dalam botol gelap pada suhu dingin.

Sebanyak 4 gram K-Na-Tartrat ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL akuades, diaduk dengan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*). Setelah larut dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Larutan disimpan dalam botol gelap pada suhu dingin.

3.5.6.2 Pembuatan Kurva Standar (Apriyanto, dkk (1989))

Larutan standar glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 mg/mL. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara diambil 1 mL masing-masing larutan standar glukosa kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 1 mL pereaksi DNS. Larutan tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 15 menit, kemudian ditambahkan 1 mL K-Na Tartrat. Dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang, dan ditambahkan aquades hingga volume 10 mL, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

3.5.6.3 Penetapan Total Gula Pereduksi

Pengujian gula pereduksi menggunakan kurva standar *DNS* dengan cara: 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL pereaksi DNS. Larutan tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 15 menit, kemudian

ditambahkan 1 mL K-Na Tartrat. Dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang, dan ditambahkan aquades hingga volume 10 mL, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. DNS akan menjaga kestabilan hasil hidrolisis enzim dan mengikat gula pereduksi sebagai indikator terjadinya aktivitas enzim.

3.5.6.4 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Berbagai Variasi pH

Media pertumbuhan CMC broth digunakan dalam uji aktivitas jamur selulolitik pada pH 5, 6, 7, dan 8. Sebanyak 1 mL substrat dilarutkan dalam 10 mL buffer asetat dengan menggunakan variasi pH, kemudian 1 mL dari campuran diatas dan ditambahkan 1 mL enzim selanjutnya diukur aktivitas enzimnya dengan menggunakan metode *DNS*. Satu unit aktivitas selulase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μmol glukosa per menit pada kondisi tertentu.

3.5.7 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dalam penelitian ini meliputi data kualitatif dan kuantitatif. Data penelitian kualitatif yang diperoleh disajikan secara deskriptif meliputi ciri-ciri makroskopis isolat jamur selulolitik yang didapatkan. Selanjutnya data kuantitatif yang diperoleh yaitu aktivitas enzim selulase disajikan dalam bentuk tabel kemudian diinterpretasikan sesuai data yang didapatkan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Jamur dari Batubara

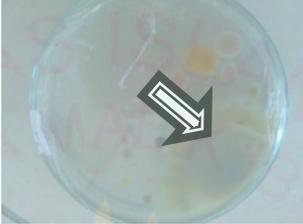
Isolasi jamur dari batubara dilakukan untuk mendapatkan jamur yang memiliki potensi untuk mendegradasi selulosa. Isolasi jamur selulolitik pada batubara dilakukan dengan proses penjamuran batubara terlebih dahulu. Batubara yang mampu menghasilkan isolat jamur selulolitik dibuktikan dengan adanya bulu-bulu berwarna putih yang terdapat pada batubara.

Selanjutnya dilakukan pengenceran pada batubara hasil proses penjamuran mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-10} . Pengenceran dilakukan untuk mengurangi kepadatan koloni yang tumbuh pada media isolasi sehingga memudahkan proses isolasi. Kemudian hasil pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-10} ditanam ke dalam media PDA dengan metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Kemudian dilakukan pengamatan morfologi koloni masing-masing isolat jamur yang diamati yaitu meliputi ciri-ciri warna spora yang tumbuh. Koloni murni yang diperoleh ditumbuhkan pada media PDA miring dan dipakai sebagai stok isolat untuk uji selanjutnya.

Hasil isolasi dari batubara diperoleh sebanyak 3 isolat yang mampu tumbuh pada media selektif agar dengan karakter morfologi koloni seperti ditunjukkan pada Tabel 4.1, yaitu pada kode isolat JM1 diketahui warna sporanya yaitu berwarna agak putih kecoklatan dan bulu-bulunya agak padat, pada kode isolat JM2 diketahui warna sporanya yaitu berwarna putih dan bulu-bulunya

halus, pada kode isolat JM3 diketahui warna sporanya yaitu berwarna putih kekuningan dan bulu-bulunya sedikit.

Tabel 4.1 Bentuk isolat jamur hasil isolasi dari batubara

No.	Kode Isolat	Bentuk	Warna
1.	JM1		Putih Kecoklatan
2.	JM2		Putih
3.	JM3		Putih Kekuningan

Keterangan :
JM = Jamur

Pembiakan dilakukan pada medium PDA (*Potato Dextrose Agar*). Medium merupakan tempat dimana terjadi perkembangan organisme. Medium PDA menurut konsistensinya termasuk medium padat, berdasarkan susunan kimianya termasuk non sintetik atau semi alamiah. Medium PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari ekstrak kentang dan glukosa serta aquades sebagai pelarut sekaligus sumber oksigen.

4.2 Uji Jamur Penghasil Selulase secara Kualitatif

Uji jamur selulolitik (penghasil selulase) secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat jamur dalam menghasilkan enzim selulase dari 3 isolat yang telah berhasil diisolasi sebelumnya. Untuk pengujian adanya enzim selulase pada isolat jamur selulolitik dilakukan pada media CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*).

Media CMC (CMC terdiri dari 1 gram CMC, 0,04 gram $MgSO_4$, 0,15 gram KNO_3 , 0,1 gram K_2HPO_4 , 0,004 gram $CaCl_2$, 0,4 gram *Yeast extract* dan 3,4 gram agar) dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian dipanaskan, diaduk, disterilisasi dan dituang ke cawan petri. Isolat jamur selulolitik digoreskan pada cawan petri dan dibiarkan untuk ditumbuhkan selama 7 hari. Setelah terlihat jamur tumbuh pada media CMC agar, ditambahkan indikator *Congo red* dengan cara diberi sedikit indikator *Congo red* kedalam media agar yang telah ditumbuhi jamur sampai merata kemudian didiamkan 15 menit, kemudian dicuci dengan $NaCl$ 1 M dengan cara memberi larutan $NaCl$ kedalam media yang telah diberi indikator *Congo red*, apabila jamur mampu menghidrolisis selulosa maka terbentuk zona bening di sekitar isolat.

Fungsi dari penambahan indikator *Congo red* adalah untuk mengikat selulosa, sehingga medium pertumbuhan jamur yang mengandung selulosa akan terwarnai oleh *Congo red* dan membentuk zona bening, sedangkan fungsi dari $NaCl$ adalah untuk memperjelas zona bening yang terbentuk (Steensma, 2001).

Semua perlakuan dilakukan di dalam *Laminar Flow Cabinet*. Maka akan terbentuk zona bening yang menandakan adanya aktivitas selulolitik isolat jamur

selulolitik, yaitu kemampuan enzim selulase yang dihasilkan menghidrolisis media CMC yang terdapat pada medium pertumbuhan.

Tabel 4.2 Zona bening jamur selulolitik

Kode Isolat	Gambar	Keterangan
JM1		Tidak terbentuk zona bening
JM2		Terbentuk zona bening
JM3		Tidak terbentuk zona bening

Pada tabel 4.2 dapat diketahui bahwa pada JM1 tidak dihasilkan zona bening, dibuktikan dengan tidak adanya zona bening disekitar isolat, pada JM2 dihasilkan zona bening paada sekitar isolat yang dijelaskan dengan tanda panah pada gambar di dalam tabel 4.2, pada JM3 tidak dihasilkan zona bening, dibuktikan dengan tidak adanya zona bening disekitar isolat hanya saja warna merah hasil pewarnaan dari indikator *Congo red* tidak merata menjadikan warna merah pada gambar kurang jelas dan terlihat bening. Zona bening terbentuk hanya pada isolat JM2 saja.

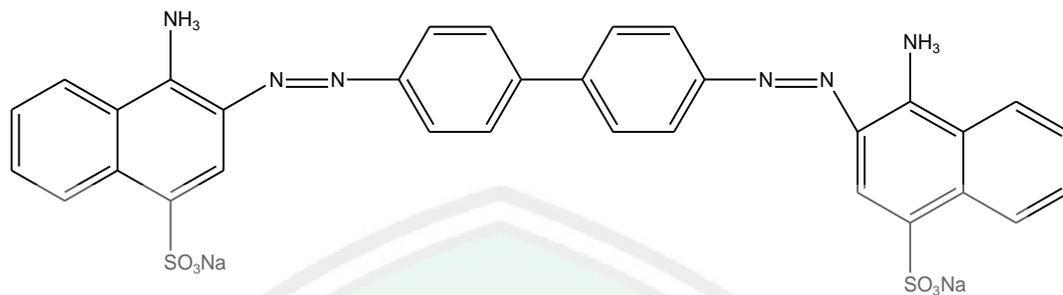
Menurut Apun dkk (2000), semakin besar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni isolat, maka semakin besar aktivitas selulolitik yang dihasilkan.

Kesulitan metode ini apabila bentuk koloni atau zona bening yang dihasilkan tidak benar-benar berbentuk bulat, atau bahkan tidak bulat sama sekali, oleh karena itu ratio zona bening dalam penelitian ini tidak diukur dikarenakan pada isolat JM2 bentuk koloni tidak bulat sehingga tidak memungkinkan diukur ratio zona beningnya.

Coughlan dkk (1991), menyatakan bahwa analisis kualitatif aktivitas jamur selulolitik dapat dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Perez dkk (2002), menyatakan pembentukan zona bening menunjukkan bahwa selulosa yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi senyawa yang sederhana yaitu selobiosa yang kemudian disederhanakan menjadi dua molekul glukosa.

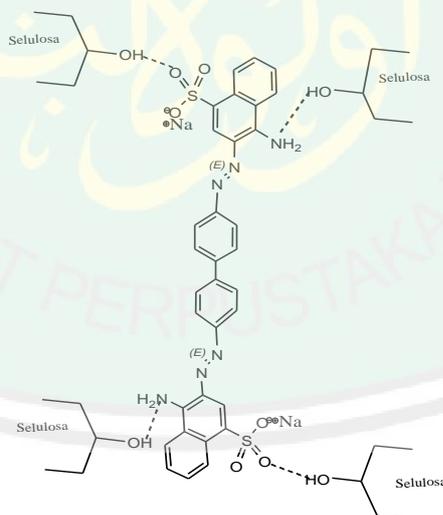
Zona bening yang terbentuk disekitar isolat menunjukkan adanya aktivitas selulolitik isolat, yaitu kemampuan enzim selulase dalam menghidrolisis media CMC yang terdapat pada medium pertumbuhan dengan menghasilkan glukosa.

Visualisasi bentuk zona bening pada gambar yang disebabkan oleh adanya hidrolisis CMC yang terdapat di dalam medium pertumbuhan jamur. Media CMC yang terhidrolisis pada medium jika digenangi oleh pewarna *Congo red* tidak akan terwarnai. Koloni isolat yang ditumbuhkan pada media agar-agar CMC berumur 6 hari diberi larutan *congo red*, setelah 15 menit dicuci dengan NaCl untuk memperjelas terbentuknya zona bening. *Congo red* memiliki interaksi yang kuat dengan polisakarida yang mengandung rantai ikatan β -(1,4)-D-glukopiranosil (selulosa) (Teather dkk, 1982).



Gambar 4.1 Struktur *Congo Red*

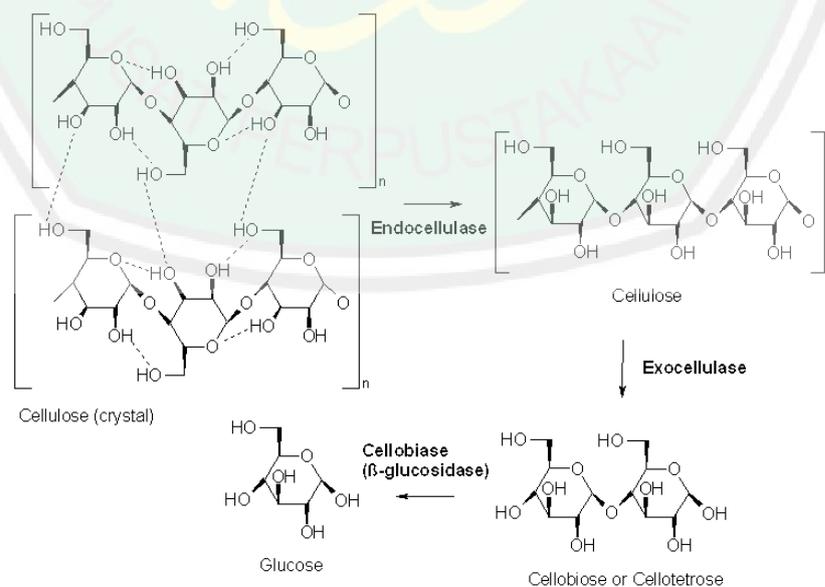
Dugaan interaksi kimia antara *congo red* dengan selulosa (Gambar 4.3) dapat diprediksikan dalam bentuk ikatan hidrogen, dibuktikan dari pengamatan dalam penelitian yaitu media selulosa yang telah ditambahkan dengan *congo red* apabila dipanaskan media selulosa akan tetap berwarna merah seperti setelah ditambahkan dengan *congo red*.



Gambar 4.2 Dugaan ikatan hidrogen antara *congo red* dengan selulosa.

Teori adsorpsi menjelaskan pengikatan atau penggabungan molekul terlarut pada permukaan adsorben oleh gaya tarik yang lemah yang dikenal dengan ikatan *Van Der Waals*. Adsorpsi akan terkonsentrasi pada sisi permukaan

yang memiliki energi yang lebih tinggi. Fase pengadsorpsi disebut adsorben (selulosa), sedangkan zat yang diadsorpsi disebut adsorbat (*congo red*). Selulosa terdiri atas beberapa *microfibril* yang diikat oleh *lamellae*, dimana *lamellae* tersebut tersusun atas beberapa fibril. Molekul-molekul selulosa, yang termasuk polimer linear dan bersifat hidrofilik, berikatan satu sama lain membentuk *elementary fibril* (atau photofibril), dengan lebar 40 Å, tebal 30 Å, dan panjang 100 Å. Polimer linear pada *elementary fibril* tersusun secara paralel dan diikat oleh ikatan hidrogen untuk membentuk struktur kristalin, yang dikelilingi dengan struktur amorphuous atau parakristalin (Lee, 1992). Struktur ini menyebabkan selulosa dapat mengadsorp zat warna. Sedangkan *congo red* menurut Sudarmaji dkk (1997), merupakan indikator pada rentang pH 3-5,2. Dengan penambahan NaCl 1M (pH 7) akan mengubah warna *congo red* yang tidak teradsorp oleh selulosa. Sehingga semakin memperjelas visualisasi zona bening yang terbentuk.



Gambar 4.3 Mekanisme kerja enzim selulase.

Mekanisme kerja enzim selulase gambar 4.3 merupakan proses hidrolisis selulosa oleh jamur yang dilakukan dengan bantuan enzim ekstraseluler yaitu Endo β -1,4-glukanase, Ekso β -1,4-glukanase dan β -glukosidase. Hal ini dijelaskan pada Whithers (1995) dalam Andamari (2003), enzim Endo β -1,4-glukanase menghidrolisis polimer secara acak dan menghasilkan molekul selulosa sederhana. Sedangkan Ekso β -1,4-glukanase menghidrolisis dua subunit glukosa pada bagian ujung sehingga menghasilkan selobiosa disakarida. Enzim β -glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.

Enzim memiliki kekhasan dalam mengenali dan mengikat substrat, karena enzim memiliki sisi aktif yang digunakan untuk mengikat substrat, sisi aktif yang dimiliki enzim sangat spesifik. Enzim selulase memiliki gugus aktif $-\text{COOH}$ yang merupakan gugus aktif dari asam amino jenis asam aspartat dan gugus $-\text{COOH}$ yang merupakan gugus aktif dari asam glutamat (Andamari, 2003). Kedua gugus aktif yang terdapat dalam enzim selulase bekerja secara sinergi dalam memutuskan ikatan glikosida dalam selulosa. Mekanisme pemutusan ikatan glikosida dalam selulase ditunjukkan oleh Gambar 4.3.

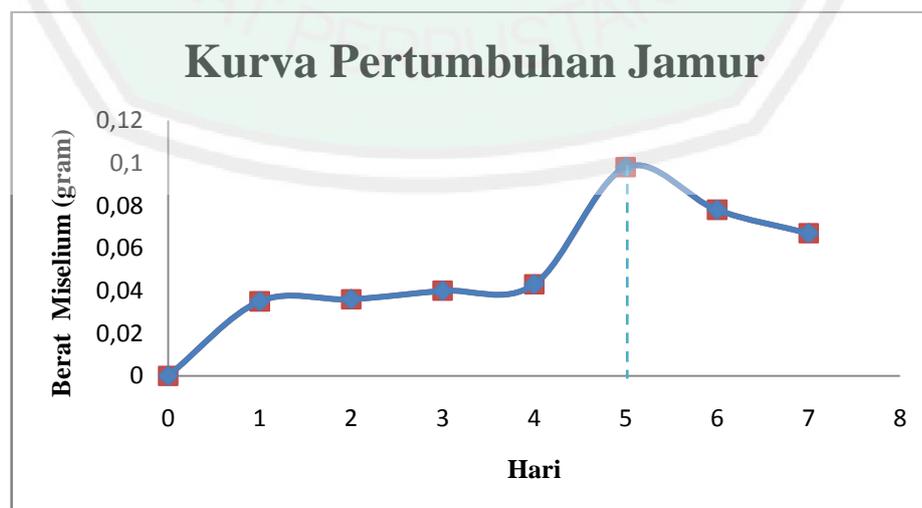
Proses hidrolisis selulosa oleh jamur selulolitik dilakukan dengan bantuan enzim ekstraseluler yaitu Endo β -1,4-glukanase, Ekso β -1,4-glukanase dan β -glukosidase. Enzim Endo β -1,4-glukanase menghidrolisis polimer secara acak dan menghasilkan molekul selulosa sederhana. Sedangkan Ekso β -1,4-glukanase menghidrolisis dua subunit glukosa pada bagian ujung sehingga menghasilkan selobiosa disakarida. Enzim β -glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Glukosa yang dihasilkan dapat dimanfaatkan untuk metabolisme dan

pertumbuhan mikroba tersebut. Adanya produk hidrolisis terutama glukosa akan menghambat kerja enzim selulase.

Mekanisme kerja enzim selulase gambar 4.3 menjelaskan kemungkinan saat ditemukan sisi yang sesuai pada sisi aktif enzim, maka terjadi protonasi glikosidik pada substrat oleh asam amino yang melibatkan baik gugus $-\text{COOH}$ dari asam aspartat maupun gugus $-\text{COOH}$ dari asam glutamat pada sisi aktif enzim. Selanjutnya terjadi pemindahan dari gugus pergi pada ikatan glikosidik yang mengawali pembentukan kovalen intermediet enzim glikosil. Kemudian molekul H_2O yang berperan sebagai nukleofil masuk kedalam senyawa intermediet dalam larutan yang menyebabkan ikatan enzimintermediet lepas dan terbentuk glukosa sebagai produk akhir hidrolisis.

4.3 Kurva Pertumbuhan Jamur Selulolitik

Kurva pertumbuhan menentukan waktu inkubasi yang tepat untuk jamur dalam memproduksi enzim selulase secara maksimal.



Grafik 4.1 Kurva pertumbuhan jamur isolat JM2

Berdasarkan Grafik 4.1 diketahui beberapa fase kurva pertumbuhan Jamur Isolat JM2. Fase lag diduga terjadi antara hari ke-0 sampai hari ke-4. Fase log/ fase eksponensial diduga terjadi pada hari ke-4 hingga hari ke-5 dibuktikan dengan adanya meningkatnya berat miselium dari hari ke-4 sampai hari ke-5 secara tajam. Fase stasioner dalam hal ini tidak terlihat. Fase kematian dipercepat diduga terjadi pada hari ke-5 hingga hari ke-7 dibuktikan dengan adanya berat miselium yang semakin menurun (Gandjar dan Wellyzar, 2006).

Menurut Garraway dan Evans(1991), Isolat jamur yang menghasilkan bobot miselium paling besar, memungkinkan mempunyai aktivitas enzim paling besar pula. Berdasarkan Grafik 4.1 didapatkan berat miselium paling besar pada hari ke 5 yaitu 0,098 gram pada rentang eksponensial.

4.4 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Variasi pH menggunakan Analisa Metode *Dinitrosalicylic Acid* (DNS)

DNS merupakan senyawa aromatis yang akan bereaksi dengan gula reduksi maupun komponen pereduksi lainnya untuk membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, suatu senyawa yang mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada 510 nm. Semakin banyak komponen pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka akan semakin banyak pula molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk dan mengakibatkan serapan semakin tinggi. Reaksi ini berjalan dalam suasana basa. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan (Anonymous, 2012).

Prinsip dari metode ini yaitu didasarkan pada peristiwa tereduksinya DNS menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat oleh senyawa gula pereduksi (glukosa) yang akan memberikan warna merah kecoklatan. Menurut Apriyanto dkk (1989), dalam suasana alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm.

Gula reduksi hasil hidrolisis dapat dianalisis secara kualitatif untuk mengidentifikasi apakah sampel mengandung gula reduksi atau tidak dan secara kuantitatif untuk menentukan kadar gula reduksi yang terbentuk. Metode DNS merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk menentukan kadar gulareduksi. Dalam metode DNS digunakan reagen dinitro salisilat (DNS). Bahan-bahan kimia yang diperlukan untuk membuat reagen DNS adalah asam 3,5-dinitrosalisilat, NaOH, Na₂SO₃, Na-K-tartarat, fenol, dan akuades. DNS merupakan senyawa aromatis yang dapat bereaksi dengan gula reduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, suatu senyawa yang mampu menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang maksimum (Adney and Baker, 2008).

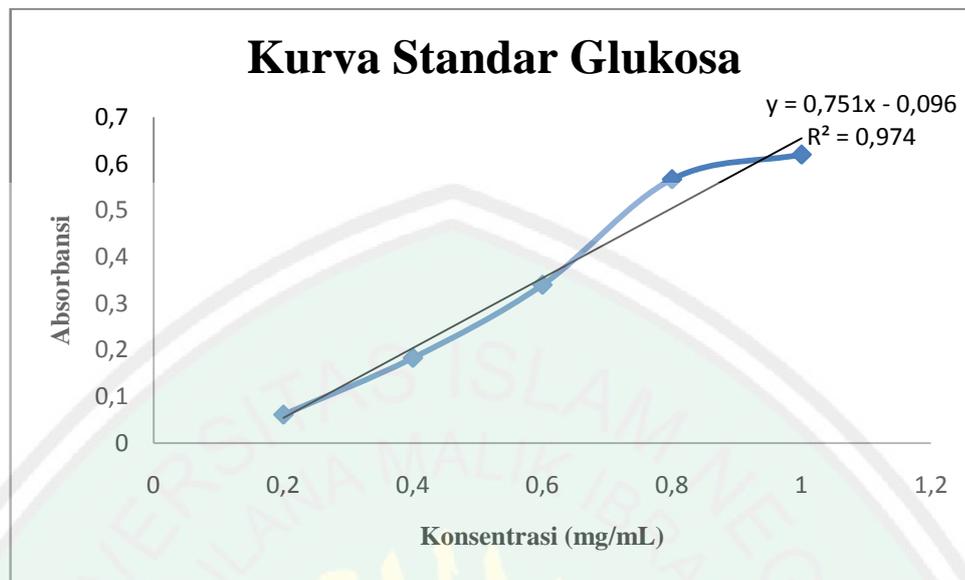
Pada pembuatan kurva standar glukosa ini digunakan larutan glukosa dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mg/mL. Semua larutan glukosa tersebut diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing konsentrasi.

Glukosa yang dihasilkan direaksikan dengan pereaksi DNS sebanyak 1 mL dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5-15 menit untuk

menyempurnakan reaksi yang terjadi. Untuk menstabilkan warna yang terbentuk, KNa-Tartrat 40 % ditambahkan kedalam campuran enzim dan DNS sebanyak 1 mL sesegera mungkin sebelum campuran dingin. Setelah itu ditambahkan aquades sampai volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm untuk menentukan kadar glukosa yang terbentuk. Kadar glukosa yang diperoleh inilah yang menunjukkan aktivitas ekstrak kasar selulase dalam menghasilkan glukosa.

Besar kecilnya aktivitas enzim selulase ini akan mempengaruhi kadar gula pereduksi (glukosa) yang dihasilkan. Komponen pereaksi DNS adalah asam dinitrosalisilat, KNa-Tartrat, fenol, sodium bisulfit, dan natrium hidroksida. Menurut Miller (1959), komponen-komponen tersebut memiliki fungsi, yaitu asam 3,5-dinitrosalisilat untuk mereduksi glukosa dalam keadaan basa yang dibantu oleh natrium hidroksida, KNa-Tartrat untuk menghilangkan pengaruh senyawa yang mengganggu sehingga kompleks warna tetap stabil, fenol berfungsi untuk stabilisasi warna yang terbentuk, dan sodium bisulfit untuk menghilangkan pengaruh oksigen terlarut yang dapat mengoksidasi glukosa produk. Reaksi antara reagen DNS dengan glukosa dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Nilai absorbansi mengalami kenaikan, hal ini dibuktikan dengan semakin besarnya konsentrasi larutan glukosa sehingga diperoleh persamaan garis antara konsentrasi dan absorbansi yaitu $y = 0,751x - 0,096$. Grafik antara konsentrasi dengan absorbansi ditunjukkan pada Grafik 4.3:

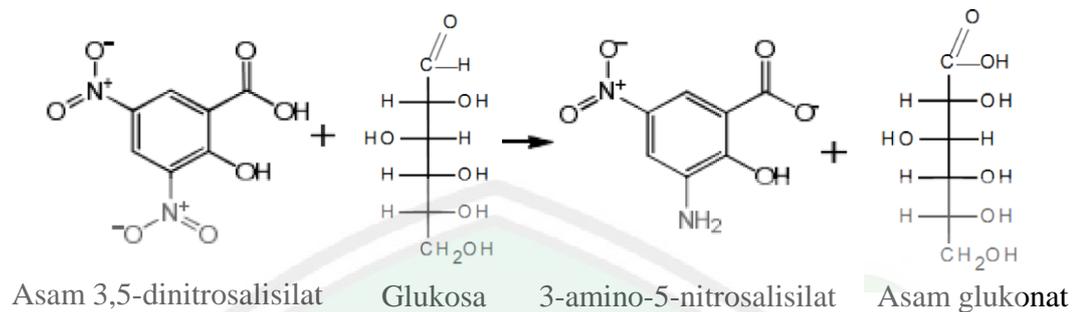


Grafik 4.3 Kurva standar glukosa

Semakin tinggi kadar gula reduksi yang terdapat dalam sampel, maka akan semakin banyak pula molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk, sehingga absorbansi sampel akan semakin tinggi. Nilai absorbansi sampel uji sebesar 0,459 sehingga apabila dimasukkan dalam persamaan $y = 0,751x - 0,096$ didapatkan kadar gula reduksi sebesar 0,74 mg/mL.

Reaksi antara gula reduksi dengan DNS merupakan reaksi redoks pada gugus aldehyd gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Sementara itu, DNS sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino dan 5- nitrosalisilat.

Reaksi ini berlangsung dalam suasana basa dan suhu tinggi sekitar 90-100°C. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan (Kusmiati dan Agustini, 2010).



Gambar 4.4 Reaksi Glukosa dengan DNS (Kusmiati dan Agustini, 2010)

Secara umum aktivitas enzim dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yaitu temperatur, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, pH, adanya inhibitor dan aktivator berupa kofaktor atau koenzim jika berupa molekul organik (Lehninger, 1997). Menurut Murray (1999), pengaruh pH pada aktivitas selulase disebabkan oleh terjadinya perubahan muatan pada residu yang berfungsi sebagai sisi aktif dalam pengikatan substrat atau katalis.

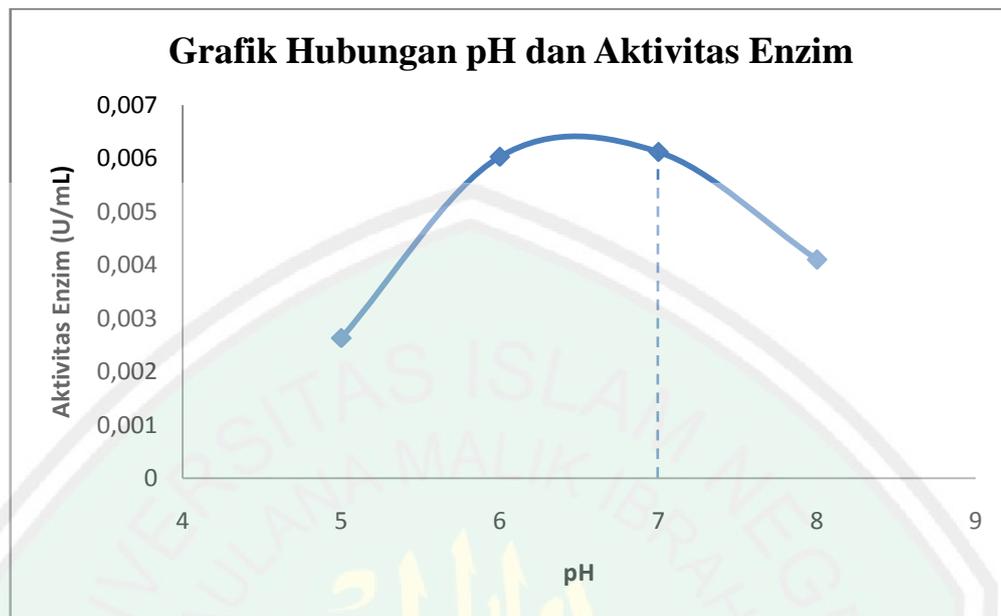
Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimia sebagai katalis suatu reaksi. Kerja enzim sebagai protein dipengaruhi oleh tingkat kondisi pH nya. Aktivitas optimal suatu enzim bergantung pada kondisi pH nya, kondisi pH yang optimum akan membantu enzim dalam mengkatalis suatu reaksi dengan baik. Masing-masing enzim memiliki pH optimum yang berbeda. Enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah (asam) atau pH yang terlalu tinggi (basa). Pada pH yang terlalu asam atau basa enzim akan terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim akan terganggu (Safaria, 2013).

Enzim selulase memiliki gugus aktif $-\text{COOH}$ yang merupakan gugus aktif dari asam amino jenis asam aspartat dan gugus $-\text{COOH}$ yang merupakan gugus aktif dari asam glutamat. Kedua gugus aktif yang terdapat dalam enzim selulase

bekerja secara sinergi dalam memutus ikatan glikosida dalam selulosa (Andamari,2003).

Menurut Monica (2007) aktivitas enzim ditentukan oleh gugus aktif pada rantai samping enzim. Proses hidrolisis selulosa oleh selulase terjadi pada sisi aktif asam amino glutamat. Fraksi gugus (-COOH) dari asam amino glutamat akan bermuatan negatif membentuk (-COO⁻). Apabila jumlah gugus karboksil dari enzim meningkat maka protonasi oksigen glikosidik yang mengawali pembentukan kompleks glikosil enzim akan semakin mudah terjadi karena jumlah dari gugus karboksil dari enzim yang meningkat. Hal ini mempengaruhi aktivitas enzim menjadi meningkat.

Enzim dapat pula mengalami perubahan konformasi bila pH bervariasi. Dengan berubahnya muatan pada gugus yang jauh dari daerah terikatnya substrat, protein dapat terbuka menjadi lebih berdisosiasi yang mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim. Pada proses fermentasi dengan variasi pH, didapatkan pH optimum terletak pada pH 7 dengan aktivitas enzim sebesar 0,00612 U/mL.



Grafik 4.2 Grafik hubungan pH dan aktivitas enzim

Berdasarkan Grafik 4.2 dapat diketahui bahwa aktivitas enzim tertinggi terdapat pada pH 7. Berdasarkan Grafik 4.2 dapat diketahui bahwa aktivitas enzim terendah terdapat pada pH 8. Menurut Gaman dan Sherrington (1994), pH optimal enzim adalah sekitar pH 7 (netral) dan jika medium menjadi sangat asam atau sangat alkalis enzim mengalami inaktivasi.

Pada penelitian sebelumnya, Sinaga (2013) telah melakukan penelitian karakterisasi enzim selulase dan aplikasinya pada substrat didapatkan aktivitas enzim tertinggi pada pH 7 sebesar 0,037 U/mL kemudian pada pH 7.5 menurun menjadi 0.015 U/mL dan pada pH 8 sebesar 0.005 U/mL. Pada pH 4, 4.5, 5, dan 5.5 aktivitas enzim berturut-turut sebesar 0.005 U/mL, 0.011 U/mL, 0.012 U/mL, 0.014 U/mL, dan 0.019 U/mL.

Nilai pH optimum ini termasuk pH netral. pH optimum dapat menghasilkan aktivitas yang maksimal dalam mengkatalisis suatu reaksi. Hasil

penelitian yang lain menyatakan bahwa salah satu enzim selulase yaitu enzim endo- β -1,4- glukukanase mempunyai aktivitas tertinggi pada pH 7. Enzim tersebut secara aktif mendegradasi CMC pada kisaran pH netral sampai dengan asam (pH 7 sampai dengan pH 4) (Hidayat 2005).

Enzim memiliki konstanta disosiasi pada gugus asam ataupun gugus basa terutama pada residu terminal karboksil dan asam aminonya. Namun dalam suatu reaksi kimia, pH untuk suatu enzim tidak boleh terlalu asam maupun terlalu basa karena akan menurunkan kecepatan reaksi dengan terjadinya denaturasi. Sebenarnya enzim juga memiliki pH optimum tertentu, pada umumnya 4,5-8, dan pada kisaran pH tersebut enzim mempunyai kestabilan yang tinggi (Williamson dan Fieser, 1992).

Umumnya enzim bekerja optimum pada rentang pH 6-8, tetapi beberapa jenis organisme dapat hidup pada pH yang lebih rendah yang dikenal dengan istilah asidofil ataupun pH yang lebih tinggi yang dikenal dengan istilah alkalifil. Disekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi (Winarno, 1986).

4.5 Pemanfaatan Batubara dalam Perspektif Islam

Indonesia memiliki banyak barang tambang salah satunya adalah batubara. Batubara adalah bahan bakar hidrokarbon padat yang terbentuk dari tumbuh-tumbuhan dalam lingkungan bebas oksigen dan terkena pengaruh temperatur serta tekanan yang berlangsung sangat lama.

Islam sebagai agama yang sempurna yang telah diberikan Allah SWT kepada umat manusia sebagai *rahmatan lil 'alamin*. Sedangkan Al Quran sebagai kitab yang sempurna mengatur dan menceritakan segala sesuatu yang

berhubungan dengan hidup manusia baik saat sekarang, yang telah lalu dan yang akan datang. Al Quran membahas proses kejadian manusia hingga apa yang akan menjadi rezeki bagi manusia agar dapat menjalani hidupnya di dunia yang salah satunya adalah mengenai dunia pertambangan.

Al Quran sangat banyak memuat ayat-ayat yang berhubungan dengan ilmu pertambangan, memuat masalah bahan-bahan galian ataupun kandungan dalam bumi yang manusia pijak ini. Bahan-bahan galian yang berupa mineral dan batuan merupakan objek utama dalam dunia pertambangan yang memiliki nilai ekonomis dibutuhkan manusia dalam menjalani hidupnya di dunia sebagai perhiasan, sebagaimana firman Allah SWT dalam Quran Surat Ali ‘Imran Ayat 14 yang berbunyi:

زُيِّنَ لِلنَّاسِ حُبُّ الشَّهَوَاتِ مِنَ النِّسَاءِ وَالْبَنِينَ وَالْقَنَاطِيرِ الْمُقَنْطَرَةِ مِنَ
الذَّهَبِ وَالْفِضَّةِ وَالْخَيْلِ الْمُسَوَّمَةِ وَالْأَنْعَامِ وَالْحَرْثِ ۗ ذَٰلِكَ مَتَعُ الْحَيَاةِ
الدُّنْيَا ۗ وَاللَّهُ عِنْدَهُ حُسْبُ الْمَآبِ ﴿١٤﴾

Artinya: “Dijadikan indah pada (pandangan) manusia kecintaan kepada apa-apa yang diingini, yaitu: wanita-wanita, anak-anak, harta yang banyak dari jenis emas, perak, kuda pilihan, binatang-binatang ternak dan sawah ladang. Itulah kesenangan hidup di dunia, dan di sisi Allah-lah tempat kembali yang baik (surga)”.

Pada ayat ini, Allah memberikan gambaran bahwa emas dan perak merupakan salah satu keindahan dalam hidup manusia yang dicintai keberadaannya karena nilainya yang tinggi. Emas dan perak merupakan salah satu bahan galian yang menjadi objek dalam dunia pertambangan. Ini semua Allah

ciptakan sebagai kesenangan hidup di dunia bagi manusia. Dalam ayat lainnya seperti surat al A'raaf, Ayat 148:

وَاتَّخَذَ قَوْمُ مُوسَىٰ مِنْ بَعْدِهِۦ مِنْ حُلِيِّهِمْ عِجَلًا جَسَدًا لَهُ خُورٌ أَلْمَ يَرَوْنَ أَنَّهُ لَا يُكَلِّمُهُمْ وَلَا يَهْدِيهِمْ سَبِيلًا اتَّخَذُوهُ وَكَانُوا ظَالِمِينَ ﴿١٤٨﴾

Artinya: “Dan kaum Musa, setelah kepergian Musa ke gunung Thur membuat dari perhiasan-perhiasan (emas) mereka anak lembu yang bertubuh dan bersuara. Apakah mereka tidak mengetahui bahwa anak lembu itu tidak dapat berbicara dengan mereka dan tidak dapat (pula) menunjukkan jalan kepada mereka? Mereka menjadikannya (sebagai sembah) dan mereka adalah orang-orang yang zalim”

Demikianlah Allah membuat perumpamaan-perumpamaan. Dari semua ini, sudah sangat jelas hubungan Al Quran dengan pertambangan. Ilmu pertambangan didapatkan dari Al Quran dan saat menambang, penambangan menjadikan quran sebagai panutan agar tidak salah dalam melakukan tindakan saat mengambil hasil bumi sehingga tidak terjadi Bencana.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ciri jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara, yaitu berwarna putih dan membentuk zona terhidrolisis (zona bening) seperti pada isolat JM2.
2. Aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh jamur selulolitik hasil isolasi dari batubara sangat dipengaruhi oleh pH. Pada kisaran pH 5 sampai dengan 8, ketika pH dinaikkan maka aktivitas enzim selulase juga naik hingga mencapai pH 7 sebesar 0,00612 U/mL kemudian turun pada pH 8 sebesar 0,0041 U/mL.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu adanya penelitian lanjutan tentang identifikasi jamur selulolitik secara mikroskopis, dan dilakukan uji statistik untuk mendapatkan data yang lebih signifikan, sehingga diketahui lebih jelas tentang jamur selulolitik yang terkandung dalam batubara dan sifat-sifat yang mempengaruhi aktivitas enzim yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, M., Ni' matuzahroh, dan Supriyanto, A. 2001. *Diversitas dan Karakter Jamur yang Berasosiasi dengan Proses Degradasi Serasah di Lingkungan Mangrove*. Jurnal. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, and M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. Fourth Edition. USA: John Willey and Sons Inc.
- Aklyosov. 2004. *Principles of The Enzymatic Degradation of Cellulose*. <http://aklyosov.home.comlast.net/volume.2.htm>. Diakses tanggal 6 Juli 2013.
- Andamari, Y.P. 2003. Biokonversi Selulosa dalam Limbah Jerami Padi menjadi Glukosa menggunakan *Aspergillus niger*. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Anggayana, K. 2002. Ganesa Batubara. Bandung: Departemen Teknik Pertambangan, FIKTM, ITB.
- Anonymous. 2012. <http://bisakimia.com>. Diakses tanggal 10 Oktober 2013.
- Apriyanto, A., Dedi, F., Ni Luh, P., Sedarnawati, dan Slamet, B. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Apun, K., Jong, B. C. dan Salleh, M. A. 2000. Screening and Isolation of a Cellulolytic and Amylolytic Bacillus From Sagu Pith Waste. *General Application Microbial* 46: 263-267.
- Basuki, T. 1988. *Isolasi Kapang-kapang Khusus: Kapang Selulolitik*. Bogor: PAU Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Buckel, K. A., R. A. Edward, G. H. Fleet, M. Wooten. 1985. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Mitchell, L., G. 2003. *Biologi: Jilid ke-2*. Jakarta: Erlangga.
- Catcheside, D. E. A. dan Ralph, J. P. 1999. *Biological Processing of Coal*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 52: 16-24.
- CDIEMR. 2008. *Handbook of energy and economic statistic of Indonesia 2008*. Jakarta: Center for data on information on energy and mineral resources, Ministry Energy and Mineral Resources.

- CDIEMR. 2009. *Handbook of energy and economic statistic of Indonesia 2009*. Jakarta: Center for data on information on energy and mineral resources, Ministry Energy and Mineral Resources.
- Chalal, D. S. 1983. *Growth Characteristic of Microorganism in Solid State Fermentation for Upgrading of Protein Values of Lignocelulose and Cellulose Production*. American Chemical Society.
- Cohen, M. S. dan Gabriele, P. D. 1982. *Degradation of Coal by The Fungi Polyporus versicolor and Poria monticola*. Applied and Environmental Microbiology 44: 23-27.
- Crueger, W., dan Crueger, A. 1984. *Biotechnology: A Textbook of Industry Microbiology*. Brock TD, editor. Sunderland: Minauer Associates.
- Doran, J. 2004. *Final Report for Screening of Aspergillus niger Strain for Enzymes Production in Sugar Beet Pulp Fermentation to Produce Fuel Ethanol*. USA: Central Michigan University.
- Driyo, A. 2005. *Prospek Komoditas Batubara*. Economic Review Journal No.200.
- Duff, S. J. B., dan Murray, W. D. 1996. *Biconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review*. Bioresour. Technol. 55, 1-33.
- ESDM. 2011. *Hand Book of Energy and Economic Statistics of Indonesia 2011*.
- Fadilah, D., S., Dwiningsih, S., R., dan Ma'rifah, D., S. 2008. *Biodelignifikasi Batang Jagung Dengan Jamur Pelapuk Putih Phanerochaete chrysosporium*. *E K U I L I B R I U M*, Vol. 7. No. 1 : 7 – 11.
- Farisyawan. 2009. *Sumber Daya Alam Energi*. <http://www.id.shvoong.com/exact.../earth.../2058665-sumber-daya-alam-energi/>. Diakses tanggal 29 Juni 2012.
- Fakoussa, R. M., dan Frost, P. J. 1999. *In Vivo-Decolorization of Coal-Derived Humic Acids by Laccase-Excreting Fungus Trametes versicolor*. Applied Microbiology and Biotechnology 52: 60-65.
- Fakoussa, R. M., dan Hofrichter, M. 1999. *Biotechnology and Microbiology of Coal Degradation*. Applied Microbiology and Biotechnology 52: 25-40.
- Fengel, D. G., dan Weneger. 1983. *Kayu: Kimia, Ultra Struktur, Reaksi-reaksi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Fessenden, R. J., dan J. S. Fessenden. 1999. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Fried, G. 1999. *Schaum's Outline of Theory and Problems of Biology*. Jakarta: Airlangga.

- Gandjar, I. R. A., Sampson, K. V., Tweelvermeulen, A., dan Oetari, I. S. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gaman, P. M., dan Sherrington. 1994. *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Gandjar, I. Wellyzar, S, dan Ariyanti, O. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Garraway, M. O., dan R. C. Evans. 1991. *Fungal Nutrition and Physiology*. Florida: Krieger Publishing Company. Hal: 231.
- Hardioetomo, R. S. 1983. *Mikrobiologi dalam Praktek*. Bogor: IPB Press.
- Hawab, H. M. 2004. *Pengantar Biokimia*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Hidayat, N., M. C. Padaga, dan S. Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Hodek, W. 1994. *The Chemical Structure of Coal in Regard of Microbiological Degradation*. Fuel Process Technology 40: 369-378.
- Hofrichter, M., Bublitz, F., and Fritsche, W. 1997^a. *Fungal Attack on Coal I: Modification of Hardcoal by Fungi*. Fuel Processing Technology 52:43-53.
- Hofrichter, M., Bublitz, F., and Fritsche, W. 1997^b. *Fungal Attack on Coal II: Solubilization of Low rank coal by Filamentous Fungi*. Fuel Processing Technology 52: 55-64.
- Holker, U., Fakoussa, R. M., and Hofer, M. 1995. *Growth Substrates Control The Ability of Fusarium oxysporum to Solubilize Low-rank Coal*. Applied Microbiology and Biotechnology 44: 351-355.
- IEA. 2011. *International Energy Outlook. Coal*,: www.ieo.org. Diakses pada 22 Juni 2012.
- Klein, J. 1998. *Technological and Economic Aspects of Coal Biodesulfurisation*. Biodegradation 9: 293-300.
- Kusmiati dan Agustini N.W.S. 2010. *Pemanfaatan Limbah Onggok untuk Produksi Asam Sitrat dengan Penambahan Mineral Fe dan Mg pada Substrat Menggunakan Kapang Trichoderma Sp dan Aspergillus Niger*. Seminar Nasional Biologi. 856-866.
- Laborda, F. 1999. *Processes of Liquefaction/ Solubilization of Spanish Coals by Microorganisms*. Applied Microbiology and Biotechnology 52: 49-56.

- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Gradindo Persada.
- Lee, J. M. 1992. *Biochemical Engineering*. New Jersey: Prentice Hall.
- Lehninger, A. L. 1997. *Biochemistry*. New York: Worth Publisher Inc.
- Malloch, D. 1997. *Moulds Isolation, Cultivation, Identification*. University of Toronto: Departemen of Botany.
- Maranatha, B. 2007. *Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian*. Bogor: Institut pertanian Bogor.
- Martoharsono, S. 1994. *Biokimia Jilid 1*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Masfufatun. 2009. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase*. Surabaya: Universitas Wijaya Kusuma.
- Mattinen, M. L. 1998. *Structural and Functional studies of Fungal Cellulose Bindind Domain by NMR Spectroscopy*. Finland: Academic Dissertation From University of Helsinki.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., dan Satria, H. 2009. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakteristik Enzimnya*. *Makara sains*. Vol. 13, No. 1. Hal: 33-38.
- Miller GL, 1959. *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. *Anal. Chem.*, 31: 426-428.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., dan Rodwell, V. W. 1999. *Biokimia Harper (terj.). edisi ke-24*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, E. G. C.
- Mutambanengwe, C. C. Z. 2009. *The Biotechnology of Hard Coal Utilization as a Bioprocess Substrate*. Environmental Biotechnology. Rhodes University
- Olson, G. J. dan Brinckman, F. E. 1986. *Bioprocessing of Coal*. *Fuel* 65: 1638-1646.
- Oncu, S., Tari, C., dan Unluturk, S. 2007. *Effect of Various Process Parameters on Morphology, Rheology, and Polygalacturonase Production by Aspergillus sojae in a Batch Bioreactor*. *Biotechnology Progress* 23: 836-845.
- Onions, A. H. S., Allosp, D., dan Eggins, H. O. W. 1981. *Smith's Introduction to Industrial Mycology (7th ed)*. London: Edward Arnold (Publisher) Ltd.

- Opaprakasit, P. 2003. *Interaction and Structure of Coal*. PhD Thesis. Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University.
- Ophardt. 2003. *Cellulose*. New York, USA: John Willey and sons Inc.
- Pelezar, M. J., E. C. S., dan Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Pelezar, M. J., and Chan, E. C. S. 2007. *Elements of Microbiology*. New York: Mc Graw Hill.
- Pelezar, J. M. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Perez, J., Dorado, J. M., Rubia, T., dan Martinez, J. 2002. *Biodegradation and biochemical treatments of cellulose, hemicellulose, and lignin: an overview*. *Int Microbiol* 5: 53-63.
- Prijono, A. 1992. *Pengertian Batubara*. <http://www.ptba.co.id/id/library/detail/1>. Diakses tanggal 2 April 2013.
- Purwanto, A. 2008. *Ayat-ayat Semesta: Sisi-sisi Al-Qur' an yang terlupakan*. Bandung: PT. Mizan Pustaka.
- Putra, B. S. 2011. *Pencairan Batubara Dengan Bioteknologi Enzyme Selulase Jamur Phanerochaeta chrysosporium*.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Rachman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Bogor: IPB.
- Rinawan, R. 1992. *Pengantar Kuliah Geologi Batubara*. Bandung: Sekolah Tinggi Teknologi Mineral Indonesia.
- Rismijana, J., Indriani, I. N., dan Pitriyani, T. 2003. *Penggunaan enzim selulase-hemiselulase pada proses deinking kertas bekas koran*. *J. Matematika dan Sains* 8 (2): 62-71.
- Schlegel, H. G., dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum: edisi ke enam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sinatari, H. M., Aminin, A. L. N., dan Sarjono, P. R. 2013. *Pemurnian Selulase Dari Isolat KB Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat*. *Chem Info*. Vol 1, No. 1, Hal: 130-140.
- Stefanova, M., Maman, O., Guillet, B., dan Disnar, J. 2004. *Preserved Lignin Structures in Miocene-aged Lignite Lithotypes*. *Bulgaria. Fuel* 83: 123-128.

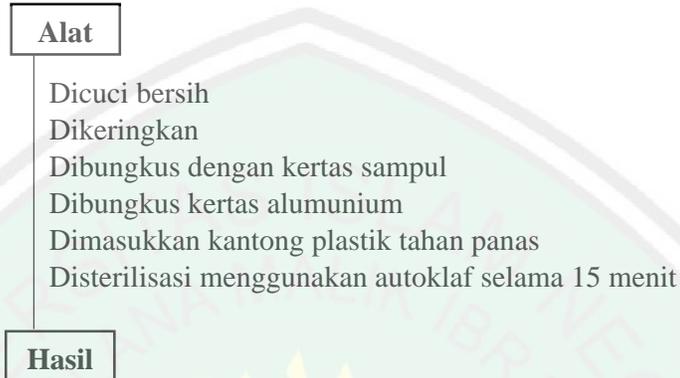
- Sukandarrumidi. 2004. *Batubara dan Gambut*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sukandarrumidi. 2006. *Batubara dan Pemanfaatannya: Pengantar Teknologi Batubara Menuju Lingkungan Bersih*. Yogyakarta: UGM Press.
- Teather, R. M., dan Wood, P. J. 1982. *Use of congo red polysacharide interactions in enumeration and characterization of cellulotics bacteria from the bovine rumen*. Appl Environ Microbiol 43: 777-780.
- Tranggono, B., dan Setiaji. 1989. *Biokimia Pangan*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan Gizi Universitas Gajah Mada.
- Volk, W. A., dan Wheeler, M. F. 1984. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1 Edisi Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Williamson, K. L., dan L. F. Fieser. 1992. *Organic Experiment 7th Edition*. United State of America: D. C. Health ang Company.
- Winarno. F.G. 1986. *Enzim Pangan*. Jakarta: PT Gramedia.
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia*. Bandung: ITB Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir

- **Preparasi Alat dan Bahan**

- a. **Preparasi Alat**

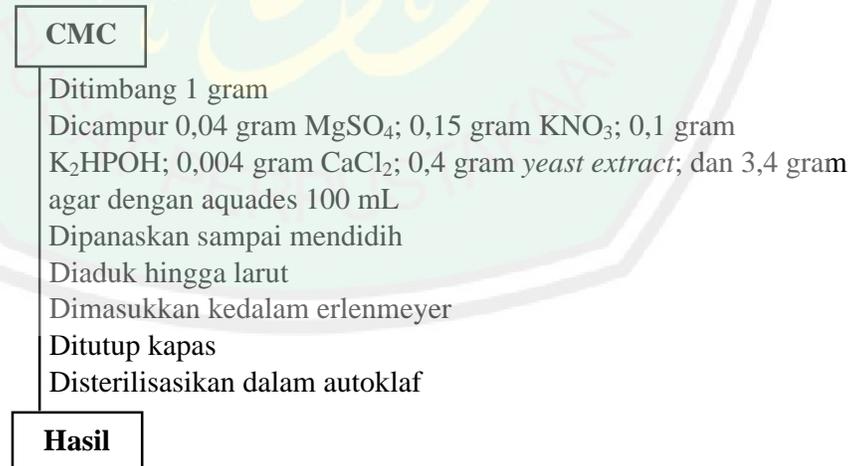


- b. **Preparasi Bahan**



- **Pembuatan Media**

- a. **Media *Carboxil Methyl Cellulose (CMC) Agar***



b. Media *Potatoes Dextrose Agar (PDA)*

Kentang

Dicuci dengan air bersih
 Dipotong kecil-kecil
 Ditimbang sebanyak 50 gram
 Dimasukkan kedalam beaker glass yang berisi 250 mL aquades
 Dididihkan diatas hot plate sampai semua kentang hancur
 Dibiarkan mendidih selama 15 menit
 Disaring

Residu

Filtrat

Ditambahkan 7,5 gram agar dan dekstroza 2,5 gram
 Dipanaskan sambil diaduk hingga homogen
 Dibuat volume media tetap menjadi 250 mL dengan menambahkan sedikit demi sedikit aquades
 Dimasukkan kedalam erlenmeyer masing-masing PDA sebanyak 50 mL
 Ditutup dengan kapas
 Disterilisasi dengan autoklaf

Hasil

c. Media *Carboxil Methyl Cellulose (CMC) Broth*

CMC

Ditimbang 1 gram
 Dicampur 0,04 gram $MgSO_4$; 0,15 gram KNO_3 ; 0,1 gram K_2HPOH ; 0,004 gram $CaCl_2$; 0,4 gram *yeast extract*
 Ditambahkan 50 mL aquades
 Ditepatkan sampai 100 mL
 Dipanaskan sampai mendidih
 Diaduk hingga larut
 Dimasukkan kedalam erlenmeyer
 Ditutup kapas
 Disterilisasi dengan autoklaf

Hasil

- **Isolasi Jamur dari Batubara**

Batubara

Ditimbang 5 gram
Dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi aquades steril 45 mL
Dikocok (pengenceran 10^{-1})
Dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-5} dengan mengambil 1 mL dari pengenceran sebelumnya lalu diencerkan dengan 9 mL aquades steril
Diambil hasil pengenceran 1 mL
Dimasukkan kedalam cawan petri untuk ditumbuhkan secara pour plate yang sebelumnya telah diberi media PDA
Di inkubasi pada suhu ruang selama 72 jam
Dilakukan pengamatan setiap hari

Hasil

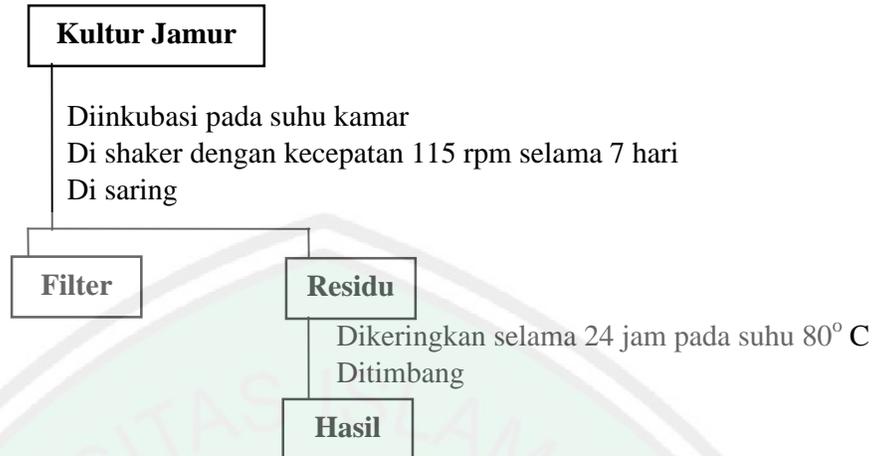
- **Uji Jamur Penghasil Selulase Secara Kualitatif**

Isolat Jamur

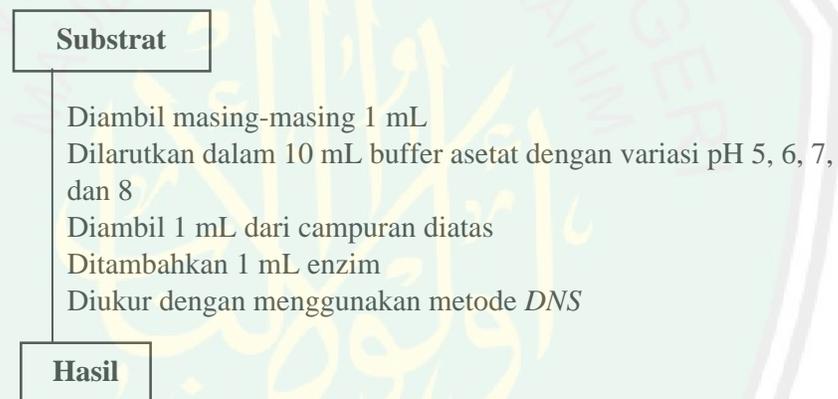
Di inokulasikan pada 1 tempat pada bagian tengah medium CMC agar sebanyak 1 osse pada cawan petri
Diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang
Diuji zona bening dengan menggunakan *congo red* selama 15 menit
Dicuci dengan menggunakan NaCl 1 M
Diamati dengan mengukur zona hidrolisis yang terbentuk

Hasil

- **Pembuatan Kurva Pertumbuhan Jamur**



- **Produksi Enzim Selulase pada Media Pertumbuhan dengan Berbagai Variasi pH**



- **Penetapan Total Gula Pereduksi dengan Metode Dinitrosalicylic Acid (DNS) (Miller, 1959 dalam Subekti, 2006)**

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Glukosa 0,2 mg / mL

Dipipet sebanyak 1 mL
 Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
 Ditambahkan 1 mL asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS)
 Dikocok dengan vortex
 Ditutup mulut tabung dengan aluminium foil
 Dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit
 Ditambahkan K-Na Tartrat 40 %
 Didinginkan pada suhu ruang
 Ditambahkan aquades hingga volume 10 mL
 Dihomogenkan
 Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 - 560 nm dengan interval 5 nm

Hasil

b. Pembuatan Kurva Standar

Larutan glukosa 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 mg / mL

Dipipet masing-masing sebanyak 1 mL
 Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
 Ditambahkan 1 mL asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS)
 Dikocok dengan vortex
 Ditutup mulut tabung dengan aluminium foil
 Dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit
 Ditambahkan K-Na Tartrat 40 %
 Didinginkan pada suhu ruang
 Ditambahkan aquades hingga volume 10 mL
 Dihomogenkan
 Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum

Hasil

c. Penetapan Total Gula Pereduksi**Sampel**

Dipipet masing-masing sebanyak 1 mL
Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
Ditambahkan 1 mL asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS)
Dikocok dengan vortex
Ditutup mulut tabung dengan aluminium foil
Dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit
Ditambahkan K-Na Tartrat 40 %
Didinginkan pada suhu ruang
Ditambahkan aquades hingga volume 10 mL
Dihomogenkan
Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum

Hasil

Lampiran 2 Perhitungan dan Pembuatan Larutan

1. Perhitungan Pembuatan Reagen DNS

- **Pembuatan Reagen DNS**

Sebanyak 0,1 gram DNS, 0,1 gram NaOH, 0,005 Na₂SO₃, dan 0,02 fenol dilarutkan dalam 10 ml aquades, diaduk dengan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*). Setelah larut dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Larutan disimpan dalam botol gelap pada suhu dingin.

- **Pembuatan reagen K-Na-Tartrat 40 %**

Sebanyak 4 gram ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL akuades, diaduk dengan pengaduk bermagnet (*magnetic stirrer*). Setelah larut dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Larutan disimpan dalam botol gelap pada suhu dingin.

2. Pembuatan Konsentrasi Glukosa Standart 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1 mg/mL

Pembuatan stok glukosa baku dengan konsentrasi 5 mg/mL dapat dilakukan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{stok glukosa baku} &= \frac{0,5 \text{ g glukosa}}{100 \text{ mL akuades}} \\ &= 5 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Untuk membuat larutan glukosa 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 dan 1 mg/mL dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok glukosa baku. Pembuatan larutan glukosa tersebut dapat dilakukan sebagai berikut:

- **Pembuatan Lartan Glukosa 0,2 mg/mL**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

- **Pembuatan Larutan Glukosa 0,4 mg/mL**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mL} \times 0,4 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL}$$

- **Pembuatan Larutan Glukosa 0,6 mg/mL**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mL} \times 0,6 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 12 \text{ mL}$$

- **Pembuatn Larutan Glukosa 0,8 mg/mL**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mL} \times 0,8 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 16 \text{ mL}$$

- **Pembuatn Larutan Glukosa 1 mg/mL**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

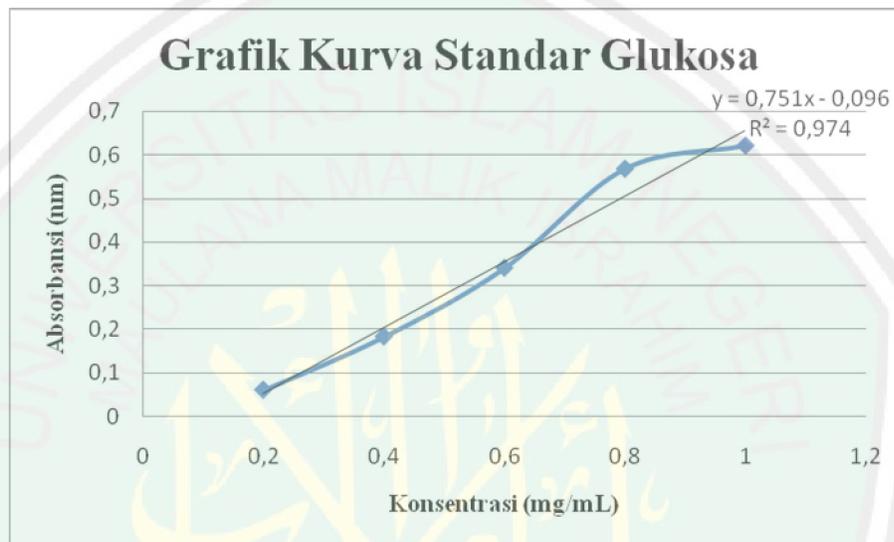
$$V_1 \times 5 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mL} \times 1 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 20 \text{ mL}$$

3. Kurva Standar Glukosa

Tabel L2.1 Data Absorbansi Glukosa

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
0,2	0,061
0,4	0,183
0,6	0,34
0,8	0,567
1	0,62



Grafik L2.1. Kurva Standar Glukosa

4. Analisis Gula Reduksi Metode DNS

a. Analisis Gula Reduksi Sampel

Analisis kadar total gula bahan baku dianalisis menggunakan metode DNS dan diukur absorbansinya dengan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 510 nm. Data absorbansi bahan baku dapat dilihat pada Tabel L2.2:

Tabel L2.1 Absorbansi Sampel

Nama	Absorbansi			Rata-Rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
Sampel	0,455	0,421	0,501	0,459

Perolehan absorbansi selanjutnya diplotkan ke dalam persamaan linier kurva standar glukosa yaitu $y = 0,751x - 0,096$ dengan ($y =$ absorbansi) dan x merupakan variabel yang dicari yakni total gula reduksi:

$$y = 0,751x - 0,096$$

$$0,459 = 0,751x - 0,096$$

$$x = \frac{0,459 + 0,096}{0,751}$$

$$x = 0,74 \text{ mg/mL}$$

5. Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Berbagai Variasi pH

Tabel L2.2 Absorbansi Uji Aktivitas Enzim

Nama	Absorbansi			Rata-Rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
pH 5	0,113	0,389	0,090	0,197
pH 6	0,434	0,467	0,454	0,452
pH 7	0,455	0,421	0,501	0,459
pH 8	0,286	0,346	0,293	0,308

Perhitungan Uji Aktivitas Enzim:

- pH 5

$$AE = \frac{C}{BM \times t} \times \frac{(S+E)}{E}$$

$$= \frac{0,197 \text{ mg/mL} \times 12 \text{ mL}}{180 \text{ g/mol} \times 5 \text{ menit} \times 1 \text{ mL}}$$

$$= 0,00263 \text{ U/mL}$$

- pH 6

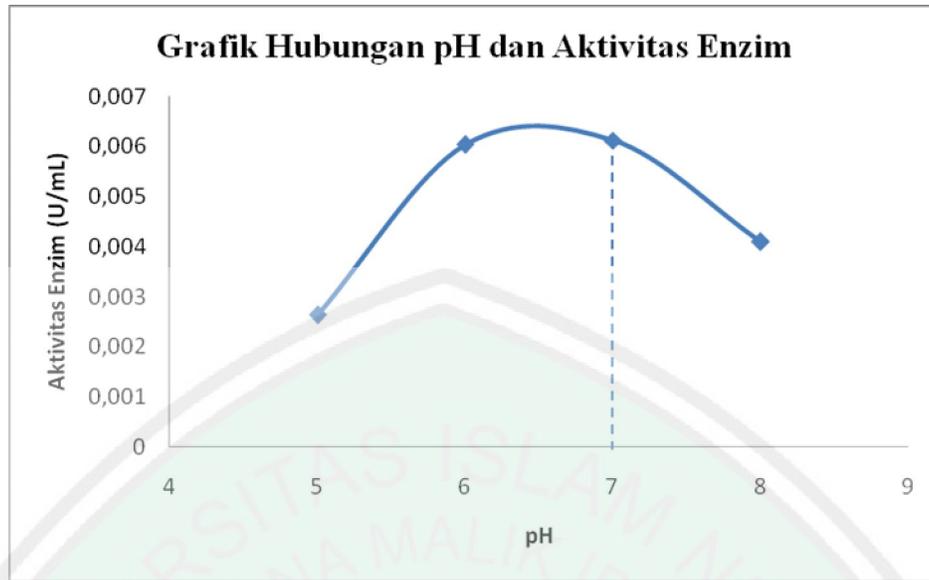
$$\begin{aligned}
 AE &= \frac{C}{BM \times t} \times \frac{(S+E)}{E} \\
 &= \frac{0,452 \text{ mg/mL}}{180 \text{ g/mol} \times 5 \text{ menit}} \times \frac{12 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \\
 &= 0,00603 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

- pH 7

$$\begin{aligned}
 AE &= \frac{C}{BM \times t} \times \frac{(S+E)}{E} \\
 &= \frac{0,459 \text{ mg/mL}}{180 \text{ g/mol} \times 5 \text{ menit}} \times \frac{12 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \\
 &= 0,00612 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

- pH 8

$$\begin{aligned}
 AE &= \frac{C}{BM \times t} \times \frac{(S+E)}{E} \\
 &= \frac{0,308 \text{ mg/mL}}{180 \text{ g/mol} \times 5 \text{ menit}} \times \frac{12 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \\
 &= 0,0041 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$



Grafik L2. Grafik Hubungan pH dan Aktivitas Enzim

6. Perhitungan gram NaCl 1M yang dibutuhkan dalam 100 mL (0.1 L) Aquades

Diketahui: Mr NaCl=58,5 gr/mol

Jawab:

$$M = \frac{n}{V(L)}$$

$$M = \frac{\frac{gr}{Mr}}{V(L)}$$

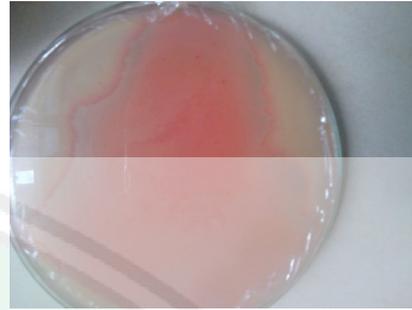
$$1M = \frac{\frac{a}{58,5 \text{ gr/mol}}}{0,1 L}$$

$$1 \frac{mol}{L} = \frac{a \text{ mol}}{58,5 \text{ gr} \times 0,1 L}$$

$$a = 5,85 \text{ gr NaCl}$$

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

Gambar 1. Isolasi jamur (pour plate)



Gambar 2. Zona Bening JM2



Gambar 3. Bahan baku batubara

Gambar4. *Shaker Inkubator*Gambar 5. *Autoclave*

Gambar 6. Spektrofotometer



Gambar7. Analisis Total Gula reduksi (DNS) Gambar8. Analisa Total Gula Reduksi (DNS)

