



Uji Aktivitas Selulase Dari Jamur Selulolitik Asal Tanah Danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah

Cellulase Activity Of Cellulolytic Fungi On Soil From Lake Kalimpa'a Central Sulawesi

Vrillia Marannu Talantan^{*)}, Marina, Orryani Lambui, I Nengah Suwastika

Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tadulako, Palu 94111 Sulawesi Tengah

ABSTRACT

Cellulase (E.C.3.2.1) is an enzyme that plays a role in decomposing cellulose complex polymers into simple glucose monomers. This enzyme can be produced by cellulolytic fungi. The soil around Lake Kalimpa'a has high cellulose content so that the presence of cellulolytic fungi acts as a decomposing. Isolation of fungal from this area, obtained 13 isolates. Qualitative test based on cellulase activity through 0,1% *congored* staining method on CMC media showed that 7 isolates had the potential in produce cellulase namely, JIK3, JIK4, JIK5, JIK6, JIK9, JIK10, and JIK13 which were indicated by clear zone formed and the highest cellulose activity was produced by isolates JIK13 (0,57 mm). Quantitatively the cellulose activity was determined based on the production of reduction sugar using the DNS (3,5-*Dinitro Salisilic Acid*) method, that isolates JIK13 were able to produce the highest cellulase enzyme activity of 80,025 U/mL. Furthermore, based on both macroscopic and microscopic identification of isolates, it belonging to genus of *Aspergillus*.

Keywords: *Cellulolytic Fungi, Aspergillus, Cellulose, Lake Kalimpa'a*

ABSTRAK

Selulase (E.C.3.2.1) merupakan enzim yang berperan dalam menguraikan polimer kompleks selulosa menjadi monomer sederhana glukosa. Enzim ini dapat dihasilkan oleh jamur selulolitik. Tanah sekitar Danau Kalimpa'a memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi sehingga keberadaan jamur selulolitik berperan sebagai pengurai. Tahapan isolasi berhasil mendapatkan 13 isolat jamur. Uji kualitatif berdasarkan aktivitas selulase melalui metode pewarnaan *congored* 0,1% pada media CMC menunjukkan bahwa 7 isolat berpotensi menghasilkan selulase yaitu isolat JIK3, JIK4, JIK5, JIK6, JIK9, JIK10 dan JIK13 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni dengan indeks aktivitas selulase tertinggi dihasilkan oleh isolat JIK13 yaitu 0,57 mm. Uji Kuantitatif aktivitas selulase ditentukan dengan menghitung kadar gula reduksi melalui metode DNS (3,5-*Dinitro Salisilic Acid*) menunjukkan bahwa isolat JIK13 mampu menghasilkan aktivitas enzim selulase tertinggi yaitu 80,925 U/mL. Berdasarkan identifikasi baik secara makroskopis dan mikroskopis isolat yang berpotensi menghasilkan selulase merupakan anggota genus *Aspergillus*.

Kata kunci: *Jamur selulolitik, Aspergillus, Selulase, Danau Kalimpa'a*

LATAR BELAKANG

Selulase (E.C.3.2.1) adalah nama bagi semua enzim yang memutuskan ikatan glikosidik beta-1,4 di dalam selulosa, sedodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya (Volk and Wheeler, 1988). Selulosa dapat dirombak oleh mikroba selulolitik dengan bantuan selulase. Salah satu mikroba perombak selulosa adalah jamur selulolitik. Selulosa yang terdapat pada tumbuhan dan organisme lain, diurai oleh mikroba menjadi senyawa sederhana berupa glukosa, CO dan hidrogen sebagai zat hara yang berguna bagi tumbuhan dan organisme tanah lainnya (Oramahi *dkk.*, 2003).

Salah satu mikroorganisme yang dapat menghidrolisis selulosa adalah jamur. Jamur mikroskopis merupakan golongan organisme yang penting dalam tanah, karena tersebar secara luas. Jamur memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Jamur yang mampu menghasilkan komponen selulase diantaranya adalah jamur *Trichoderma*, sehingga jamur ini sering disebut sebagai selulolitik sejati (Salma dan Gunarto, 1999).

Beberapa genus dari jamur yang mampu menghasilkan selulase antara lain *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Mucor* dan *Penicillium* (Kusnadi *dkk.*, 2007). Jamur

selulolitik menghasilkan selulase yang dapat dimanfaatkan untuk menghidrolisis bahan berserat selulosa menjadi glukosa. Selulase banyak digunakan pada industri detergent, makanan ternak, tekstil, dan pabrik kertas. Sebelumnya, Yuniar (2013), telah melakukan skrining dan identifikasi jamur selulolitik dari tandan kosong kelapa sawit yang menunjukkan aktivitas selulase pada substrat CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*). Selain itu, Hardianty *dkk.*, (2013), juga melakukan isolasi dan seleksi jamur selulolitik pada tanah yang berasal dari Hutan Arboretum Universitas Riau yang menunjukkan aktivitas selulase dengan adanya zona bening pada media pertumbuhan. Penelitian yang sama dilakukan oleh Roza *dkk.*, (2013), yang melakukan isolasi dan seleksi jamur selulolitik dari tanah gambut di Perkebunan Karet di Riau.

Danau Kalimpa'a atau sering disebut Danau Tambing, merupakan salah satu kawasan Taman Nasional Lore Lindu yang terletak di Kecamatan Lore Utara Kabupaten Poso Sulawesi Tengah. Danau Kalimpa'a mempunyai luas ± 6 ha yang dikelilingi oleh hutan dengan ekosistem yang masih sangat alami (Balai Besar TNLL, 2015). Mengingat pentingnya keberadaan jamur pendegradasi selulosa dan potensi yang dimiliki area Danau Kalimpa'a serta kurangnya penelitian mengenai jamur selulolitik, maka perlu

dilakukan penelitian untuk mengetahui dan mengisolasi jamur selulolitik sehingga diperoleh isolat jamur yang mempunyai kemampuan tinggi menguraikan senyawa selulosa yang tumbuh disekitar kawasan tanah Danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian mengenai karakterisasi jamur penghasil enzim selulase yang terdapat di kawasan Danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter jamur selulolitik dan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur selulolitik tersebut.

BAHAN DAN METODE

Sampel tanah diambil dari lokasi pada bulan April 2017. Lokasi pengambilan sampel tanah di kawasan sekitar Kawasan Danau Kalimpa'a, Provinsi Sulawesi Tengah. Tahapan isolasi, identifikasi dan uji aktivitas jamur selulolitik dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Pengambilan sampel tanah

Tanah diambil di pada satu titik lokasi. Lokasi pengambilan sampel tanah diukur terlebih dahulu pH tanah dan suhunya. Pengambilan sampel tanah pada kedalaman 10 cm. Sampel tanah yang diambil kemudian dimasukkan dalam wadah plastik gelap dan diberi label.

Isolasi Jamur

Isolasi Jamur dilakukan dengan metode Pengenceran bertingkat mengacu pada cara kerja Yosmar *dkk*, (2013), dengan sampel awal sebanyak 10 g. Pengenceran bertingkat dilakukan dengan larutan NaCl fisiologis pengenceran dilakukan hingga 10^{-8} . Selanjutnya dari pengenceran ke 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} diambil 0,1 ml dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang telah berisi media PDA dengan ditambah antibiotik klorampenikol sebagai antibakteri. Penanaman menggunakan metode *pourplate*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5×24 jam. Koloni yang tumbuh dengan morfologi berbeda kemudian dipilih untuk digunakan pada tahap pemurnian.

Isolat yang tumbuh dimurnikan dengan cara memisahkan koloni yang berlainan dan ditumbuhkan kembali pada medium PDA baru. Perlakuan ini bertujuan agar bisa memperoleh koloni yang terpisah. Isolat yang sudah murni diinokulasikan ke PDA miring sebagai stok kultur, lalu disimpan pada suhu 4°C .

Uji Aktivitas Selulase Secara Kualitatif

Isolat jamur yang sudah dimurnikan pada media PDA kemudian ditumbuhkan kembali pada media CMC, untuk melihat kemampuan jamur mendegradasi selulosa, dan diinkubasi pada suhu selama 3 hari. Agar pembentukan zona bening menjadi

lebih jelas dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *congo red* 0,1 % (Teather and Wood, 1981) selama 20 menit kemudian dibilas dengan NaCl 1 M.

Zona bening yang terbentuk disekitar koloni diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong. Selanjutnya dihitung nilai antara diameter zona bening medium terhadap diameter koloni jamur, yang dinyatakan sebagai Indeks Aktivitas Enzim (IAE). Menurut Kader dan Omar (1998), secara kualitatif besarnya aktivitas selulase yang dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$IAE = \frac{A \text{ (mm)} - B \text{ (mm)}}{B \text{ (mm)}}$$

Ket: A (Diameter Zona Bening)
B (Diameter Koloni)

Identifikasi Jamur Selulolitik

Terdapat 2 tahapan untuk mengidentifikasi jamur selulolitik, yaitu:

a. Identifikasi makroskopis

Isolat jamur selulolitik terpilih diidentifikasi secara makroskopis dengan menginokulasikan sebanyak satu ose koloni jamur pada media PDA yang baru secara aseptis. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Kemudian diamati struktur makroskopisnya meliputi bentuk koloni, tepi koloni dan warna koloni.

b. Identifikasi mikroskopis

Isolat jamur selulolitik tersebut diidentifikasi secara mikroskopis dengan pembuatan preparat hidup di atas *object*

glass. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Pertumbuhan miselium dan spora diamati di bawah mikroskop.

Ekstraksi Selulase

Isolat-isolat jamur yang telah didapatkan, ditumbuhkan kembali media CMC cair dan diinkubasi pada suhu ruang selama 120 jam (Yosmar *dkk.*, 2013). Ekstrak kasar selulase, diperoleh dengan melakukan sentrifugasi pada sampel dengan kecepatan 10000 rpm, selama 10 menit, pada suhu 4°C. Hal ini dilakukan untuk memisahkan sel-sel yang ada pada mikroorganisme yang mengendap dan supernatan yang merupakan cairan berisi enzim. Supernatan tersebut, selanjutnya difiltrasi dengan menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat jernih yang merupakan ekstrak kasar selulase. Filtrat tersebut selanjutnya digunakan untuk menganalisis aktivitas enzim selulase (Miller, 1959).

Pembuatan Kurva Standar Glukosa menggunakan metode DNS

Sebelum dilakukan analisis kadar gula pereduksi pada sampel, maka terlebih dahulu dibuat kurva standar glukosa. Kurva baku glukosa menyatakan hubungan antara konsentrasi glukosa dengan kerapatan optik pada panjang gelombang 540 nm. Larutan standar glukosa dibuat dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100

ppm. Satu ml sampel digunakan untuk uji menggunakan 1 ml reagen DNS dan dihomogenkan. Sampel dalam tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit hingga larutan berwarna merah-coklat. Absorbansi tiap larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Setelah diperoleh kurva standar glukosa, persamaan garis $y = ax + b$ digunakan untuk mengetahui konsentrasi glukosa (x) dari sampel yang akan diukur absorbansinya (Rosyada, 2015).

Uji Aktivitas Selulase Secara Kuantitatif dengan Metode DNS

Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan reagen 3,5-Di Nitro Salissilic Acid (DNS). Sebanyak 1,8 ml substrat (1% selulosa CMC) ditambah dengan 0,2 ml enzim ekstrak kasar kemudian di vortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C, aktivitas enzim dihentikan pada air mendidih selama 15 menit. Setelah itu, absorbansi diukur pada λ 540 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV Vis (Wood and Saddler, 1988)

Kontrol dan blanko dilakukan secara bersamaan dengan metode dan tahapan yang sama pada pengujian sampel, dimana kontrol merupakan enzim yang telah diinaktivasi terlebih dahulu sedangkan blanko tidak menggunakan enzim,

melainkan menggunakan buffer fosfat pH 7 yang direaksikan dengan substrat. Aktivitas selulase dinyatakan dalam satuan internasional yaitu U/ml. Aktivitas enzim dihitung dengan menggunakan rumus (Anggarawati, 2012):

Aktivitas Selulase (U/mL) =

$$\left[\text{Konsentrasi glukosa sampel} \times \frac{1000}{v \times t \times BM} \right]$$

Absorbansi glukosa sampel:

$$[(As - Ab) - (Ak - Ab)]$$

Ket: As = Absorbansi sampel

Ab = Absorbansi blanko

Ak = Absorbansi kontrol

t = waktu inkubasi

V = volume enzim

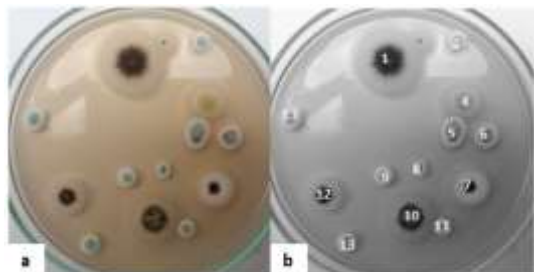
BM= berat molekul glukosa= 180

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur

Isolat jamur yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari sampel tanah yang diperoleh dari kawasan hutan sekitar danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah. Tanah merupakan komposisi kompleks yang terdiri dari hasil pelapukan batuan mineral dan bahan organik yang berasal dari tanaman dan hewan mati, beserta makhluk hidup seperti bakteri, fungi, protozoa, nematoda, mikroartropoda tanah, dan hewan kecil lain yang tinggal di dalamnya. Pengambilan sampel tanah dilakukan hingga kedalaman 10 cm dari permukaan tanah. Hal ini dilakukan karena pada kedalaman tersebut material-material sisa tanaman dan hewan yang telah mati sudah

tersebar merata di dalam tanah yang digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisinya sehingga mikroorganisme banyak terdapat pada permukaan tanah (Lay, 1994)



Gambar 1. Hasil isolasi jamur (a) Beragam jamur asal tanah disekitar Danau Kalimpa'a tumbuh dalam cawan berisi media PDA (*Potato Dextose Agar*). (b) Pada proses isolasi ini diperoleh 13 isolat jamur.

Tahapan isolasi yang telah dilakukan, diperoleh 13 isolat jamur yang mampu tumbuh dan membentuk koloni pada media PDA (Gambar 1). Setiap koloni jamur yang tumbuh pada media diamati morfologi dan warnanya.

Tabel 1. Hasil pengamatan koloni isolat jamur dilihat dari warna koloni

NO	Kode Isolat	Warna Koloni
1	JIK1	Cokelat
2	JIK2	Hijau
3	JIK3	Hijau
4	JIK4	Hijau
5	JIK5	Hijau
6	JIK6	Hijau
7	JIK7	Cokelat
8	JIK8	Hijau
9	JIK9	Hijau
10	JIK10	Hitam
11	JIK11	Hijau
12	JIK12	Cokelat
13	JIK13	Hijau

Ke 13 isolat dilakukan tahap pemurnian kemudian diremajakan dengan

diinokulasikan ke media PDA miring sebagai stok kultur, yang dapat disimpan pada dalam lemari pendingin, isolat ini akan digunakan pada tahap pengujian selanjutnya. Teknik pewarnaan dilakukan menggunakan pewarna *congo red* 0,1% sesuai dengan Teather & Wood (1981). *Congo red* berinteraksi kuat dengan ikatan β -1,4-glikosidik dalam CMC. Pewarnaan media menggunakan *congo red* 0,1% dilakukan selama 20 menit. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan pencucian menggunakan NaCl fisiologis 1%. *Congo red* merupakan garam natrium dari *benzimidiazobis-naphthylamine-4a* asam sulfonat ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) sehingga pewarna ini akan larut dan tercuci oleh garam natrium lain, seperti NaCl.

Uji Aktivitas Selulase Secara Kualitatif

Tahapan selanjutnya bertujuan untuk mengetahui aktivitas selulolitik isolat jamur. Pengujian untuk melihat adanya aktivitas selulase isolat jamur, dilakukan pada media CMC dan diinkubasi selama 3 hari. Pewarnaan *congo red* 0,1% dilakukan pada setiap isolat jamur yang tumbuh hal ini berguna untuk memperjelas zona bening yang terbentuk atau dihasilkan (Gambar 2). Teknik pewarnaan dilakukan menggunakan pewarna *congo red* 0,1%. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan pencucian menggunakan NaCl 1 M.



Gambar 2. Isolat JIK3 diinkubasi 3 hari pada media CMC. (a) Karakter morfologi isolat jamur. (b) Diameter isolat jamur sebelum ditetesi *Congored* 0,1%, (c) Diameter Zona Bening setelah ditetesi *Congored* 0,1%.

Aktivitas selulase diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk disekitar koloni menggunakan jangka sorong dan dihitung menggunakan rumus indeks aktivitas selulase. Hasil pengukuran aktivitas enzim selulase secara kualitatif disajikan pada tabel 2.

Dari tiga belas isolat jamur yang diperoleh, hanya 7 isolat yaitu JIK 3, JIK 4, JIK 5, JIK 6, JIK 9, JIK 10, dan JIK 13 yang mampu membentuk dan menghasilkan selulase dengan baik, terlihat dari indikasi terbentuknya zona bening disekitar koloni. Sebagian besar dari jumlah isolat jamur yang membentuk zona bening diantaranya, 4 isolat membentuk zona bening yang lebar (>0,2 mm), 3 isolat membentuk zona bening kecil (<0,2 mm), dan 6 isolat tidak membentuk zona bening.

Tabel 2. Aktivitas enzim selulase secara kualitatif

No	Kode Isolat	Pembentukan Zona Bening	Diameter zona bening (DZ) (mm)	Diameter koloni (DK) (mm)	Indeks Aktivitas Enzim (IAE)
1	JIK1	-	-	45,2	-
2	JIK2	-	-	23	-
3	JIK3	++	32,8	22,2	0,48
4	JIK4	+	58	56,8	0,02
5	JIK5	++	36,5	29,6	0,23
6	JIK6	+	33,9	29,5	0,15
7	JIK7	-	-	54,7	-
8	JIK8	-	-	20,5	-
9	JIK9	++	36,1	25,1	0,44
10	JIK10	+	65,4	58,1	0,13
11	JIK11	-	-	25,8	-
12	JIK12	-	-	48,1	-
13	JIK13	++	27,4	17,4	0,57

Ket: (-) Tidak terbentuk zona bening,
 (+) Terbentuk zona bening kecil (<0,2 mm),
 (++) Terbentuk zona bening lebar (>0,2mm).

Berdasarkan hasil dari tahapan ini dapat diketahui nilai aktivitas enzim secara kualitatif. Aktivitas selulolitik dapat dinyatakan sebagai perbandingan antara

diameter zona bening dengan diameter koloni. Berdasarkan hasil uji kualitatif (Tabel 2), diketahui bahwa isolat JIK13 memiliki aktivitas enzim tertinggi (0,57 mm) sedangkan isolat JIK4 memiliki aktivitas terendah (0,02 mm). Sedangkan

lima isolat lain memiliki aktivitas enzim yaitu 0,1-0,4 mm.

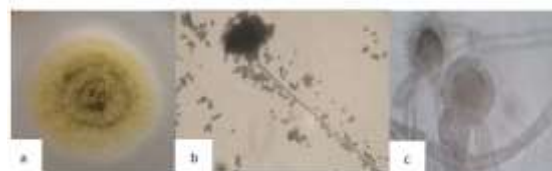
Besar kecilnya zona bening juga merupakan indikasi awal banyak sedikitnya selulase yang dihasilkan, semakin besar zona bening yang dihasilkan kemungkinan selulase yang dihasilkan semakin besar pula atau aktivitas enzimnya yang lebih tinggi. Isolat yang memiliki aktivitas selulase yang tertinggi bukanlah terdapat pada isolat yang memiliki zona bening terbesar. Hasil penelitian ini diperoleh 7 isolat jamur yang menghasilkan zona bening, maka isolat-isolat ini berpotensi sebagai jamur penghasil selulase. Isolat tersebut dipilih untuk dilakukan seleksi lebih lanjut

Identifikasi Jamur Selulolitik

Berdasarkan uji aktivitas selulase secara kualitatif telah diperoleh 7 isolat yang memiliki aktivitas selulase ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni jamur. Tujuh isolat inilah yang akan diidentifikasi lebih lanjut melalui pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, hasil identifikasi, isolat jamur selulolitik yang berhasil diisolasi tergolong dalam genus *Aspergillus* (Tabel 3). Menurut Gandjar dkk, (2000), data tersebut terdapat beberapa kesamaan makroskopis koloni genus *Aspergillus* yaitu, pertumbuhan koloni

umumnya cepat, bertekstur kasar dan seperti tepung, warna atas permukaan: putih, hitam, hijau muda dan hijau kecoklatan. Hasil pengamatan isolat jamur pinggiran berwarna putih, sesuai dengan hasil pengamatan yang dilakukan oleh Hartana (2014), bahwa koloni berwarna terang dengan miselium seperti kapas. Tahap awal pengamatan, koloni muncul sebagai filamen putih dan berubah warna tergantung spesiesnya. Hasil pengamatan mikroskopis jamur yang terlihat pada Tabel 3, ditemukan adalah sebagai berikut, hifa secara keseluruhan bersepta, spora (konidia): semua berbentuk bulat.

Menurut Adlini (2014), jenis jamur *Aspergillus* merupakan jenis jamur yang dapat tumbuh pada media yang mengandung selulosa, bahkan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pada tanah gambut karena membantu menyediakan unsur hara bagi tanaman dengan cara mendegradasi sisa bahan organik (termasuk senyawa selulosa) pada tanah gambut. Bentuk mikroskopis dan makroskopis isolat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. isolat jamur JIK4. (a) Pengamatan Karakter makroskopis, (b) Pengamatan karakter mikroskopis dengan perbesaran 100X, (c) Pengamatan karakter mikroskopis dengan perbesaran 400X

Aspergillus secara mikroskopis ditunjukkan dengan adanya tangkai konidia (konidiofora), vesikel dan spora/konidia berbentuk bulat. Hal ini sesuai dengan yang telah dilaporkan oleh Gholib dan Tarmudji (2005) pemeriksaan mikroskopis menunjukkan adanya tangkai konidia (konidiofora) pendek halus berwarna kehijauan, kepala konidia berbentuk seperti gada (clavate) dan bulat, dan menjadi lonjong (columnar) dengan bertambahnya umur koloni. Sterigma tampak menutupi setengah bagian atas dari vesikel. Spora/konidia berbentuk bulat, berwarna kehijauan dan permukaan bergerigi (echinulate). Berdasarkan pengamatan makroskopik menurut Dwidjoseputro (1987), genus *Aspergillus* mula-mula berwarna putih dan hanya terbentuk kumpulan hifa-hifa kemudian mengalami sporulasi berwarna hijau, coklat kekuning-kuningan atau kehitaman-hitaman. Permukaan koloni jamur seperti tepung halus atau kering serbuk.

Pembuatan Kurva Standar Glukosa menggunakan metode DNS

Pengukuran aktivitas selulase dilakukan dengan menggunakan metode DNS berdasarkan estimasi jumlah glukosa (gula reduksi) sebagai hasil hidrolisis selulosa. DNS merupakan senyawa aromatis yang akan bereaksi dengan gula reduksi membentuk asam 3-amino-5-

dinitrosalisilat, dimana senyawa ini mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm (Sastrohamidjojo, 2005). Metode DNS dipilih dalam pengujian ini karena merupakan metode yang umum digunakan untuk pengukuran aktivitas selulase dengan mengukur jumlah gula pereduksi yang terbentuk. Gula pereduksi yang terbentuk erat kaitannya dengan aktivitas enzim. Semakin tinggi aktivitas enzim maka semakin banyak pula gula pereduksi yang dihasilkan, itu berarti semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terukur pada spektrofotometer.

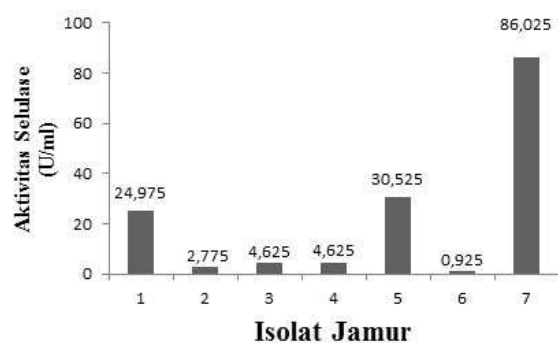
Kadar gula reduksi ditentukan dengan membuat kurva standar glukosa yang berfungsi untuk mengetahui konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya. Kurva standar dibuat dengan variasi konsentrasi glukosa 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90 dan 100 (ppm). Hasil kurva standar glukosa memiliki persamaan linier $y = 0,0005x + 0,0085$ dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0,9798. Persamaan ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi glukosa pada sampel yang diuji.

Uji Aktivitas Selulase Secara Kuantitatif

Setelah mengukur aktivitas selulase secara kualitatif, aktivitas selulolitik diuji aktivitasnya secara kuantitatif. Pengukuran aktivitas selulase dilakukan menggunakan metode DNS.

Menurut Jalil (2004), genus *Aspergillus* mampu mendegradasi selulosa dan menghasilkan selulase yang diekskresi pada bagian ujung hifa untuk mendegradasi nutrien polimer secara optimal.

Berdasarkan hasil uji aktivitas selulase secara kuantitatif, diketahui bahwa isolat JIK13 memiliki aktivitas enzim tertinggi yaitu 86,025 U/ml dan isolat JIK10 memiliki aktivitas enzim terendah yaitu 0,925 U/ml. Hal ini sesuai dengan nilai aktivitas enzim secara kualitatif, melalui pengukuran diameter zona bening dengan diameter koloni (isolat JIK 13 memiliki aktivitas tertinggi sedangkan isolat JIK4 memiliki aktivitas terendah). Isolat yang diperoleh mempunyai kemampuan untuk menghasilkan selulase dengan nilai aktivitas yang berbeda.



Gambar 5. Grafik uji aktivitas selulase secara kuantitatif

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Ibu Sami Bukang S.P (Laboran di laboratorium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako) yang telah membantu selama penelitian di Lab

DAFTAR PUSTAKA

- Adlini, N. I. (2014). Seleksi mikroba selulolitik dalam mendegradasi lignin asal tanah gambut Desa Rimbo Panjang Kampar Riau. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Riau.
- Anggarawati, D. (2012). Aktivitas Enzim Selulase Isolat SGS 2609 BBP4B-KP Menggunakan Substrat Limbah Pengolahan Rumput Laut yang di Pretreatment dengan Asam. Universitas Indonesia.
- Dwijoseputro, D. (1987). Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.
- Gandjar, I., Robert A. S., Karin, V. D. T., Ariyanti, O., dan Iman, S. (2000). Pengenalan Kapang Tropik Umum. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gholib, D. dan Termudji. (2005). Kasus aspergillosis granuloma pada paru-paru Burung Emu (*Dromacius novaehollandies*). *Jurnal Mikologi Kedokteran Indonesia*, 6 (1-2): 38-40.
- Hardianty, D. I., Roza, R. M., dan Martina, A. (2013). Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Hutan Arboretum Universitas Riau. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Riau.
- Hartana, S. N. (2014). Keanekaragaman Cendawan yang Diisolasi di Lokasi Perkandangan Ayam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jalil, A. A. K. (2004). Enzim Mikroba dan Bahan Penguraian Berselulosa. Departemen Biologi. Jakarta.
- Kader, A. J., and Omar, O. (1988). Isolation of Cellulotic Fungi from Sayap Kinabalu Park, Sabah,

- Serawak. *Journal Biodiversity and conservation (ARBEC)*, pp.1-6.
- Kusnadi., Saefudin., dan Astri, E. (2007). Keanekaragaman Jamur Selulolitik dan Amilolitik Pengurai Sampah Organik dari Berbagai Substrat. Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung
- Lay, B. W. (1994). Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31 : 426-428.
- Oramahi, H. A., Darmadji, P., dan Haryadi. (2003). Optimasi Kadar Asam dalam Asap Cair dari Kayu Karet dengan RSM. *Agrosains*, XVI (1)
- Rosyada, N. (2015). Isolasi Bakteri Asam Laktat dengan Aktivitas Selulolitik pada Saluran Pencernaan Mentok (*Cairina moschata*). Skripsi. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Roza, R. M., Martina, A., Fibrianti, B. L., Zul D., dan Ramadhan, N. (2013). Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Tanah Gambut di Perkebunan Karet Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Salma, S., dan Gunarto, L. (1999). Enzim selulase dari *Trichoderma* sp. *Agro Biology*, 2: 9-16
- Sastrohamidjojo, H. (2005). Kimia Organik, Sterokimia, Lemak dan Protein. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Teather, RM., and Wood, PJ. (1981). Use of congored-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied Environmental Microbiology*, 43: 777-780.
- Volk W. A., and Wheeler M. F. (1988). Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima. Erlangga. Jakarta
- Wood, T.M and Saddler, J.N. (1988). Increasing the Availability of Cellulose in Biomass Materials. *Methods Enzymology Cellulose and Hemicellulose*, 160:3-11
- Yosmar, R., Suharti, N., dan Rasyid, R. (2013). Isolasi dan Uji Kualitatif Hidrolisat Jamur Penghasil Enzim Selulase Dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang
- Yuniar, W. (2013). Skrining dan Identifikasi Kapang Selulolitik Pada Proses Vermikomposting Pada Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Jember.