

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. TINJAUAN UMUM TENTANG ENZIM

Pada hakikatnya sel hidup mampu melaksanakan proses metabolisme dengan perantara suatu protein yang disebut enzim. Enzim berfungsi sebagai katalisator yang mempercepat reaksi kimia dalam sistem biologis, tetapi dia sendiri tidak ikut bereaksi. Sebagai katalisator, Enzim bersifat sangat spesifik, sehingga meskipun jumlah enzim ribuan di dalam sel dan jenis substratpun sangat banyak, tidak akan terjadi kekeliruan. Substrat adalah substansi yang mengalami perubahan kimia setelah bercampur dengan enzim, sedangkan produk adalah substansi baru yang terbentuk setelah reaksi (Shahib, 1992).

#### A.1. Klasifikasi dan Tatanama Enzim

Terdapat beberapa cara dan sistem dalam penamaan suatu enzim yaitu : sistematik resmi, nama dagang, maupun nama berdasarkan spesifikasi enzim tersebut. Pada akhir abad 19 digunakan akhiran "ase" yang mengakhiri nama substrat, misalnya protease, peptidase, pektinase, amilase dan selulase. Enzim-enzim tersebut berturut-turut bekerja pada protein, peptida, pektin, amilum dan selulosa (Winarno, 1983).

Selanjutnya pada tahun 1961 IUB (International Union of Biochemistry) telah membagi enzim menjadi 6 klas yaitu :

oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase dan ligase. (Lyndal , 1993).

#### A.2. Struktur Enzim

Telah diketahui bahwa enzim adalah suatu protein. Selain komponen protein, banyak enzim memerlukan pula penyusun non protein guna berfungsi sebagai katalisator. (Montgomery, Dryer, Conway dan Spector , 1993).

Komponen-komponen utama lain dari suatu enzim dapat dipisahkan dengan proses dialisis. Melalui proses ini, enzim dapat dipisahkan menjadi 2 bagian, yaitu : koenzim dan apoenzim. Bagian koenzim mampu melewati membran dialisator, bersifat non protein dan tahan terhadap panas. Komponen ini pada enzim berupa ion logam atau molekul organik, misalnya vitamin. Bagian apoenzim tidak dapat melewati membran dialisator. Apoenzim berupa koloid protein dan bersifat tidak tahan panas. Masing-masing bagian enzim tersebut bila berdiri sendiri tidak aktif, jika digabungkan akan dapat bekerja sebagai enzim yang aktif. Gabungan antara kedua bagian tersebut disebut holoenzim (Winarno, 1983).

#### A.3. Mekanisme Katalisis Enzim

Menurut Montgomery et al. (1993) reaksi enzimatik terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

1. Pembentukan kompleks enzim substrat (ES), dimana E adalah enzim dan S adalah substrat.

2. Modifikasi dari substrat membentuk produk (P) yang masih terikat dengan enzim (EP).

3. Pelepasan produk dari molekul enzim.

Selanjutnya, Shahib (1992) menyatakan bahwa kemampuan aktifitas suatu enzim sangat dipengaruhi oleh : suhu, PH, kadar substrat, kadar enzim dan inhibitor.

#### A.4. Pengaturan Jumlah Enzim Pada Organisme

Jumlah molekul enzim pada organisme bergantung pada kecepatan sintesis dan kecepatan degradasinya.

Enzim  $\rightleftharpoons$  Asam amino

Dalam semua bentuk kehidupan, enzim disintesis dari asam amino dan didegradasi menjadi asam amino. Seperti protein lainnya, sintesis enzim diatur oleh DNA. Dengan perantaraan RNA, DNA mensintesis enzim. Enzim seluler dapat dikelompokkan dalam dua kelompok yaitu : enzim konstitutif dan enzim induksibel. Enzim konstitutif merupakan enzim yang terdapat pada jumlah yang konstan selama masa hidup sel, hal ini disebabkan adanya hubungan yang kurang lebih konstan antara proses sintesis dan degradasi enzim. Enzim induksibel adalah enzim yang jumlahnya pada sel pada waktu tertentu tidak tetap, meningkatnya kebutuhan enzim akan meningkatkan sintesis yang lebih besar dibanding laju degradasinya (Montgomery et al., 1993).

## B. ENZIM SELULASE

Selulase merupakan nama umum atau nama trivial. Istilah selulase mula-mula hanya digunakan khusus untuk enzim yang dapat memecah selulosa kapas saja. Kini digunakan dalam arti yang lebih luas, untuk semua enzim yang dapat memecah ikatan glukosidik beta-1,4 (Winarno, 1983).

Selulase merupakan enzim yang mengkatalisis pemecahan selulosa menjadi glukosa. Enzim ini sangat penting dalam proses biokonversi atau perubahan secara biologis limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa (Yani dan Djajasukma, 1991).

Menurut Berka, Coleman dan Ward (1992) sedikitnya ada tiga aktivitas dasar enzim yang termasuk kompleks enzim selulase pada kebanyakan organisme selulolitik, yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$  glukosidase. Aksi sinergis diantara ketiga aktifitas tersebut diperlukan untuk hidrolisis selulosa secara sempurna.

Gold (1968 dalam Rahman, 1992) menyatakan bahwa, untuk hidrolisis selulosa kristalin menjadi glukosa melibatkan tiga komponen enzim yaitu :

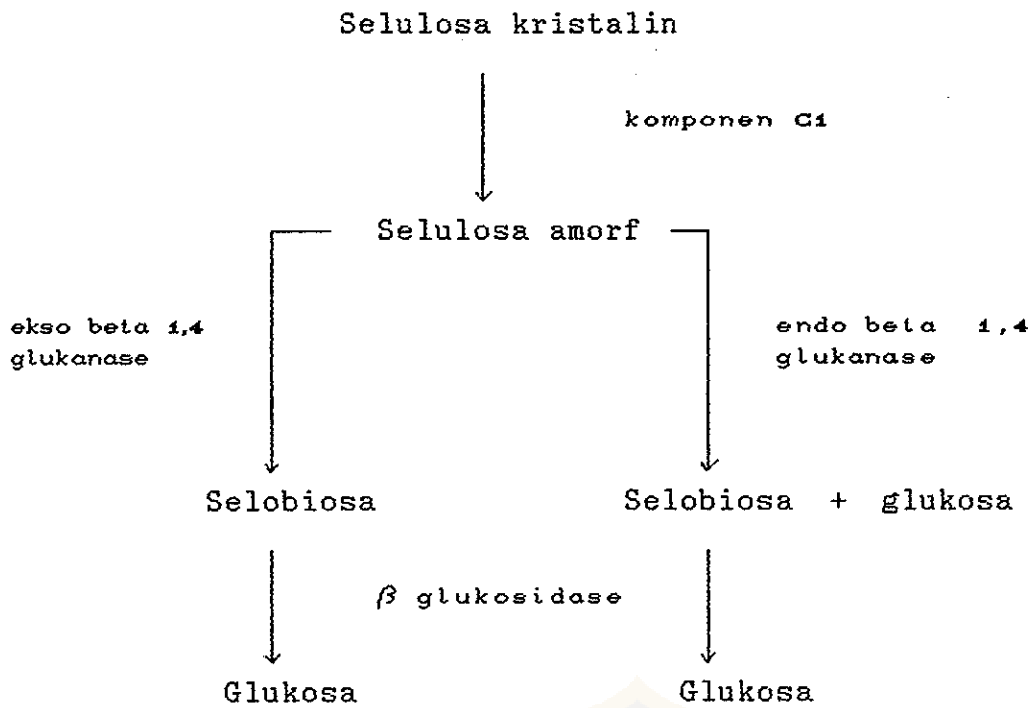
1. Komponen C1, merupakan komponen yang mengubah struktur selulosa kristalin sehingga dapat dicerna oleh komponen selulase yang lain.
2. Komponen Cx ( $\beta$  glukukanase) terdiri dari endo  $\beta$  1,4 glukukanase dan ekso  $\beta$  1,4 glukukanase. Produk utama hasil aktivitas komponen Cx adalah selobiosa.

3.  $\beta$  glukosidase, merupakan komponen yang menghidrolisa selobiosa menjadi glukosa.

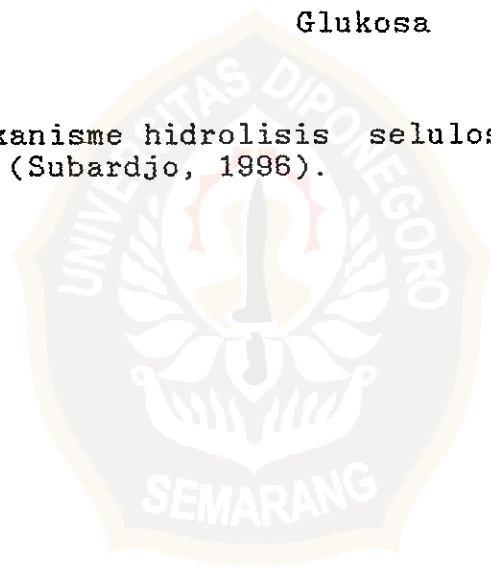
Siu (1951 dalam Rahman, 1992) dan Coughlan (1985) mengemukakan bahwa, C1 merupakan komponen enzim selulase yang memecah ikatan hidrogen antar molekul selulosa. Pemecahan ikatan ini sangat diperlukan sebelum komponen Cx mampu menghidrolisis selulosa menjadi senyawa dengan derajat polimerasi yang lebih rendah. Jika komponen-komponen selulase dipisahkan, maka baik C1 maupun Cx tidak memiliki aktivitas hidrolitik sama sekali terhadap selulosa kristalin. Komponen Cx sendiri mampu menghidrolisis selulosa amorf dan turunan-turunan selulosa.

Proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa yang dikatalisis oleh selulase sangat menarik, karena glukosa yang dihasilkan dapat diubah menjadi bahan kimia yang berharga seperti etanol, sumber energi untuk produksi sel tunggal, maupun sumber energi bagi pertumbuhan ternak (Subardjo, 1996). Mekanisme hidrolisis selulosa oleh sistem enzim selulase disajikan pada Gambar 01.

Mandels, Weber dan Parizek (1971) menyatakan bahwa proses yang sederhana, efisien dan ekonomis pada konversi selulosa menjadi glukosa secara hidrolisis enzimatis akan membantu memecahkan masalah polusi dan pengembangan makanan baru.



Gambar 01. Bagan mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase (Subardjo, 1996).



## C. BIOLOGI *Aspergillus*

### C.1. Sistematik :

Kedudukan *Aspergillus* dalam sistematika adalah sebagai berikut:

Divisio : Eumycota  
Sub divisio : Ascomycotina  
Klass : Plectomycetes  
Ordo : Eurotiales  
Familia : Eurotiaceae  
Genus : *Aspergillus*  
Spesies : *Aspergillus sp.*

( Sharma, 1992 ).

### D.2. Diskripsi dan Morfologi :

*Aspergillus* mempunyai miselium yang terdiri dari hifa yang bercabang-cabang dan bersekat. Sebagian hifanya terdapat di atas permukaan, lainnya berpenetrasi ke dalam substrat untuk mengabsorbsi zat makanan (Sharma, 1992).

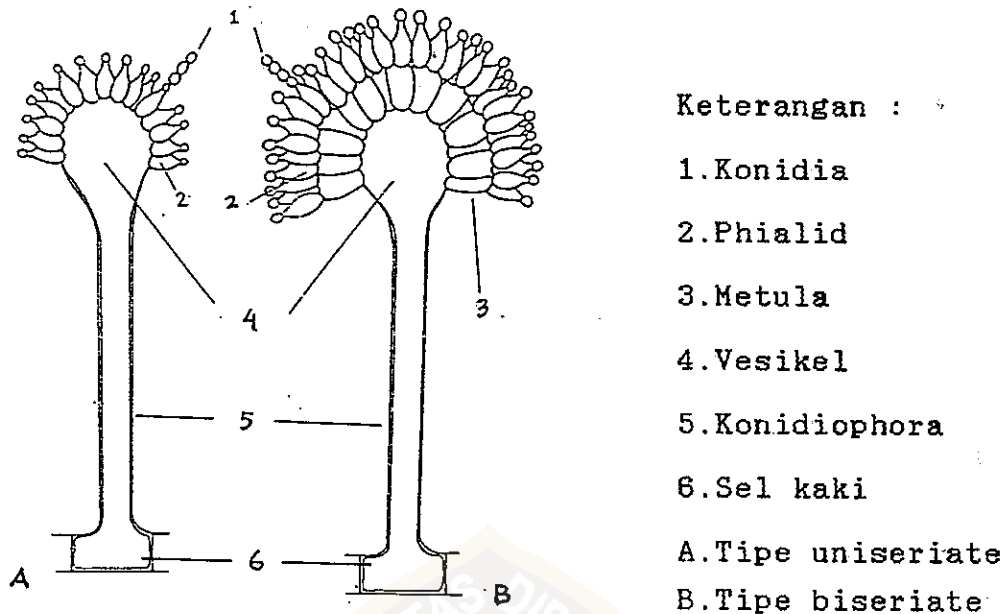
Dari miselium akan terlihat tumbuh tegak hifa yang panjang, tidak bersekat dan tidak bercabang yang disebut konidiophora. Sel hifa yang menghasilkan konidiophora disebut sel kaki atau "foot cell". Ujung konidiophora mengalami pembengkakan yang disebut vesikel. Vesikel ini bersifat multinukleus dan dari permukaan luarnya tumbuh sel

konidiogenous yang disebut sterigma atau phialid (Sharma, 1992). Phialid dapat muncul secara langsung pada vesikel (tipe uniseriate) atau pada metula (tipe biseriate). (Samson, Hoekstra, Fristad dan Filternberg, 1995).

Pada ujung phialid yang telah masak, tumbuh sel yang berukuran kecil, berbentuk globose, uniseluler yang dikenal sebagai konidia. Perkembangan konidia bersifat suksesi basipetal, yaitu konidia termuda terletak pada pangkal rantai konidia, dan semakin ke ujung semakin tua (Sharma, 1992). Rantai konidia berbentuk kolumnar atau radiate (Samson et al., 1995).

Vesikel, phialid, metula (jika ada) dan konidia membentuk kepala konidia atau "conidial head". Warna, bentuk, dan ukuran dari "conidial head" ini sifatnya karakteristik untuk tiap spesies. Konidia diproduksi dalam jumlah melimpah, yang akan menentukan warna permukaan koloni *Aspergillus*. Koloni *Aspergillus* dapat berwarna putih, kuning, coklat, hijau atau hitam tergantung species dan medium tempat tumbuhnya (Alexopoulos dan Mims, 1979). Struktur umum morfologi *Aspergillus* dilukiskan pada Gambar 02.





Gambar 02. Struktur umum morfologi *Aspergillus*.  
(Samson et al., 1995)

### C.3. Nilai Ekonomi

*Aspergillus* memiliki daerah penyebaran yang luas mulai dari kutub sampai daerah tropik. Spora *Aspergillus* dapat dijumpai dimana-mana baik di udara maupun di dalam tanah. *Aspergillus* dikenal mampu menggunakan bermacam-macam substansi yang terdapat dalam bahan makanan, karena mampu memproduksi sejumlah enzim. Hanya dengan beberapa materi organik dan sedikit air saja, *Aspergillus* telah dapat tumbuh. Beberapa spesies *Aspergillus* sering dijumpai pada bahan mentah makanan dan menyebabkan pembusukan (Alexopoulos dan Mims, 1979). Samson et al. (1995) menyatakan bahwa *Aspergillus* merupakan kontaminan yang umum pada berbagai

substrat. *Aspergillus* juga menyebabkan masalah serius sebagai kontaminan pada kultur bakteriologi dan mikologi di laboratorium. Beberapa spesies dapat tumbuh pada kulit dan kain buatan, sehingga menurunkan nilai komersial (Alexopoulos dan Mims, 1979).

Meskipun sebagian *Aspergillus* bersifat merugikan, sebagian yang lain bermanfaat bagi manusia, karena aktifitas enzimatisnya yang besar. Beberapa spesies *Aspergillus* digunakan dalam berbagai industri komersial seperti asam sitrat dan glukonat (Frazier dan Westhoff, 1988).

*Aspergillus* telah dikenal sebagai salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan tinggi untuk menghasilkan berbagai enzim, yang dapat digunakan dalam berbagai macam industri. Beberapa enzim yang dapat diproduksi *Aspergillus* antara lain : alpha amilase (*A. niger*, *A. awamori*, *A. oryzae*), pektinase (*A. niger*), selulase (*A. niger*, *A. aculeatus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. nidulans*, *A. wentii*, *A. terreus*), hemiselulase (*A. foetidus*, *A. ochraceus*), proteinase (*A. niger*, *A. awamori*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. sajae*), lipase (*A. niger*, *A. awamori*), katalase (*A. niger*), glukosa oksidase (*A. niger*) dan phitase (*A. ficuum*, *A. niger*). (Berka et al., 1992).

## D. PRODUKSI ENZIM SELULASE

### D.1. Organisme Penghasil

Gascoigne (1960 dalam Coughlan, 1985) menyatakan bahwa molusca, echinodermata, nematoda, arthropoda, anelida, fungi dan bakteri termasuk organisme yang dapat menghasilkan enzim selulase. Mikroorganisme dapat menghasilkan enzim selulase yang lebih baik karena selain mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi serta pertumbuhannya mudah dikendalikan (Ingold, 1984 dalam Yani, 1991).

Banyak fungi mampu mendegradasi selulosa, tetapi hanya sedikit yang menghasilkan selulase dengan potensi dan stabilitas yang tinggi (Mandels et al., 1971). Beberapa spesies yang mempunyai potensi selulolitik yang baik antara lain *Trichoderma viridae*, *T. reesei*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii*, *Penicillium funiculosum*, *P. jathinellum* dan beberapa spesies *Aspergillus* (Coughland, 1985).

Diantara spesies *Aspergillus* yang memiliki aktivitas selulolitik yang baik antara lain *A. aculeatus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. tereus*, *A. ornatus*, *A. oryzae*, *A. phoenicis*, dan *A. wentii* (Berka et al., 1992).

### D.2. Media Pertumbuhan

Media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme harus mengandung elemen-elemen untuk sintesis substansi sel dan untuk menghasilkan produk metabolik (Crueger dan Crueger, 1984).

Komposisi media merupakan faktor yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisme, sekaligus produksi enzim. Komponen media yang diperlukan adalah unsur karbon, nitrogen dan mineral. Kapang memerlukan karbon dengan dua tujuan utama yaitu untuk bahan pembentuk sel dan sebagai sumber energi (Darwis dan Sukara, 1990).

Menurut Crueger dan Crueger (1984), karbohidrat merupakan sumber energi, sekaligus sumber karbon yang telah lama dikenal, misalnya selulosa. Selulosa merupakan sumber C yang tersedia sangat banyak di alam dan harganya murah, hal ini menjadikan selulosa sangat potensial sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme penghasil enzim selulase. Selulosa terdapat pada limbah pertanian seperti : jerami, kayu, bagas dan limbah kertas.

Unsur nitrogen diketahui merupakan unsur pembentuk protoplasma. Sumber nitrogen yang biasa digunakan adalah garam amonium dan asam amino (nitrogen organik) (Schleigel dan Schmid, 1994). Jenis sumber nitrogen juga mempengaruhi produktifitas enzim. Selama pertumbuhan, kapang menggunakan senyawa nitrogen dengan cepat, dan pada saat tersebut enzim mulai terdapat pada media.

Untuk mensintesis enzim, fungi dapat mengambil karbon dari karbohidrat, nitrogen dan mineral dari media. Menurut Nilasari dkk (1995), sumber nitrogen organik dapat berasal dari asam amino dan protein. Penambahan sumber nitrogen akan meningkatkan proses biosintesis protein termasuk enzim. Reid

(1982) menunjukkan penambahan unsur nitrogen dapat mempercepat degradasi selulosa, yang berarti meningkatkan produksi enzim selulase.

Selain karbon dan nitrogen, kapang juga membutuhkan mineral untuk pertumbuhannya. Garam-garam magnesium dan kalsium selain dipergunakan sebagai nutrisi, juga sering digunakan untuk mengendapkan senyawa-senyawa pengganggu (Darwis, 1990). Vitamin juga diperlukan oleh kapang, karena vitamin merupakan bagian dari koenzim (Schlegel dan Schmid, 1994).

#### D.3. Jerami dan Bekatul Sebagai Media Produksi Enzim

Pertumbuhan mikroorganisme sangat dipengaruhi lingkungan tumbuhnya. Kelimpahan substrat akan diimbangi dengan kelimpahan produksi enzim oleh mikroorganisme, untuk memanfaatkan substrat tersebut. Dengan demikian produksi enzim tertentu dari suatu mikroorganisme dapat ditingkatkan dengan menyediakan substrat dalam lingkungannya, dengan harapan enzim tersebut akan diproduksi dalam jumlah melimpah (Saskiawan dan Sastraatmadja, 1991). Coughlan (1985) menyatakan bahwa, sintesis selulase diinduksi oleh ketersediaan selulosa dalam medium tumbuh.

Jerami yang merupakan salah satu limbah pertanian diketahui mempunyai kandungan selulosa yang tinggi, sehingga sangat potensial sebagai substrat untuk produksi

enzim selulase. Kandungan nutrisi jerami tertera pada Tabel 01 di bawah ini.

Tabel 01. Kandungan nutrisi jerami

Komposisi	Kandungan ( % )
Protein	3,66
Lemak	1,52
Serat kasar	41,53
Selulosa	36,08
Abu	25,27

Sumber : Sutrisno (1992)

Bekatul merupakan hasil samping penggilingan padi yang masih memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi. Bekatul dipilih sebagai media pertumbuhan karena mengandung karbohidrat, sumber vitamin dan mineral. Kandungan nutrisi bekatul disajikan pada Tabel 02.

Tabel 02. Kandungan nutrisi bekatul.

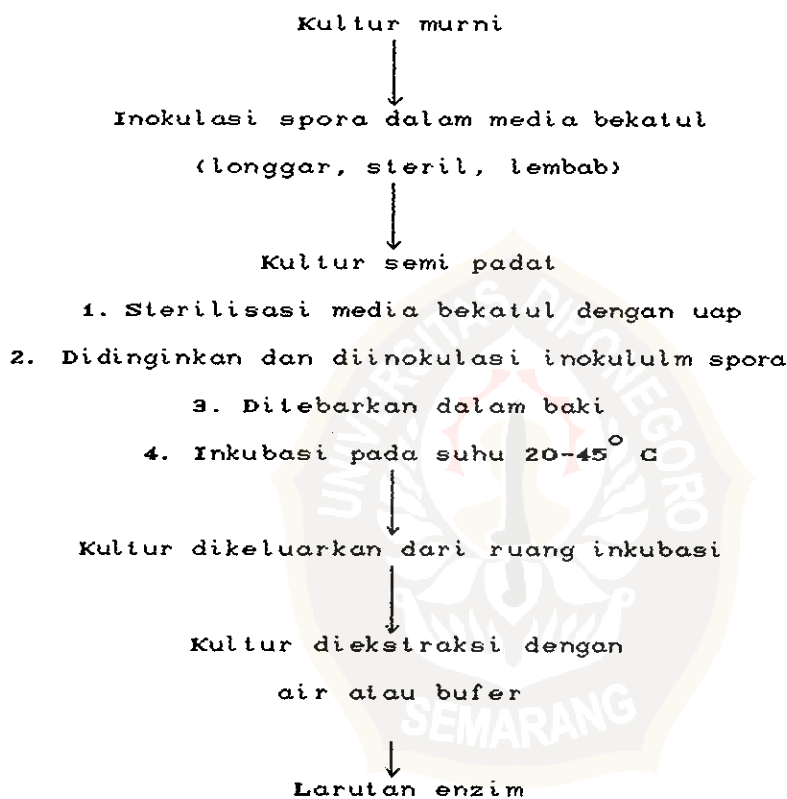
Komposisi	Kandungan
Protein	13,5 %
Lemak	0,6 %
Serat kasar	13,0 %
Kalsium	0,1 %
Pospor	1,7 %
Metionin	0,17 %
Cystine	0,1 %
Lysin	0,5 %
Triptopan	0,1 %
Threonin	0,4 %
Isoleusin	0,39 %
Histidin	0,25 %
Valin	0,6 %
Leusin	1,2 %
Arginin	0,45 %
Phenilalanin	0,41 %
Glisin	1,0 %
Thiamin	22,8 mg/kg
Riboflavin	3,0 mg/kg
Asam pantotenat	22,0 mg/kg
Biotin	4200,0 mg/kg
Cholin	303,0 mg/kg
Magnesium	0,95 %
Sulfur	0,18 %
Mangan	1,37 ppm
Besi	190,0 ppm
Cuprum	13,0 ppm
Zink	29,8 ppm

Sumber : Rasyaf (1993).

#### D.4. Proses Produksi Enzim

Keberhasilan memproduksi enzim dari mikroorganisme tergantung pada : kultur yang digunakan, komposisi medium dan kondisi lingkungan fermentasi yang diberikan. Salah satu kultur yang dapat digunakan adalah kultur permukaan (semi

padat). Kultur ini telah diterapkan secara luas dalam memproduksi enzim secara komersial seperti amilase (*A. oryzae*), protease (*A. oryzae*) dan selulase (*A. niger* dan *T. viridae*). Diagram alir kultur semipadat (semisolid) dalam memproduksi enzim mikroorganismenya terlihat pada Gambar 03 di bawah ini.



Gambar 03. Diagram alir produksi enzim kultur semipadat (Rahman, 1992).