

AKTIVITAS ENZIM SELULASE MIKROBA YANG DIISOLASI DARI JERAMI PADI DI PERSAWAHAN PASANG SURUT DI KALIMANTAN SELATAN

Enzyme Cellulase Activity Produced by Microbes Isolated from Rice Straw Grown on Tidal Swamp Rice Field South Kalimantan

Fakhrur Razie^{1)*}, Anas Iswandi²⁾, Atang Sutandi²⁾, Lukman Gunarto³⁾, dan Sugiyanta⁴⁾

¹⁾ Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70123

²⁾ Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

³⁾ Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu Bogor 16111

⁴⁾ Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

ABSTRACT

Cellulase enzyme consists of three extracellular enzymes that work synergistically to degrade cellulose, namely endoglucanase, exoglucanase and β -glucosidase. These enzymes play a role in transforming insoluble polymers into soluble glucose. The aim of this research were to isolate and purify cellulolytic microbes from tidal rice fields of South Kalimantan and know cellulolytic enzyme activity based on typology of tidal land. Ability of microbes to excrete endoglucanase enzymes based on cellulolytic index value in CMC media and the ability of microbes to excrete exoglucanase and β -glucosidase enzymes were measured using a modified method of Mandel. The results showed that the range of index values of microbial cellulolytic isolated from type A in tidal rice fields was 2.29-3.72, isolated from type B was 2.66-5.41, and isolated from type C was 1.84-3.34. Exoglucanase activity of cellulolytic microbial isolated from type A in tidal rice fields was 0.27-1.65 nkat mL⁻¹, isolated from type B was 0.37-1.85 nkat mL⁻¹, and isolated from type C ranged between 0.31 and 1.85 nkat mL⁻¹. Cellulolytic microbial were isolated from tidal rice fields of South Kalimantan had activity of β -glucosidase between 0.05 and 1.52 nkat mL⁻¹. Ultimately, Cellulolytic microbial isolates that have the highest cellulase activity were the cellulolytic bacterial isolates of J11, J42, R23, BK12, C52, TB41, B82 and SN123, and cellulolytic fungi isolates of ST33, ST22, TB31, B52, GA22, TD11, PI52 and P31.

Keywords: Cellulase, cellulolytic bacteria, cellulolytic fungi, tidal rice fields

ABSTRAK

Enzim *selulase* terdiri dari tiga enzim ekstraselular yang bekerja secara sinergis dalam mendegradasi selulosa, yakni *endoglukanase*, *eksoglukanase* dan β -*glukosidase*. Tiga enzim tersebut berperan dalam mendegradasi selulosa menjadi gula sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi mikroba (bakteri dan fungi) berdasarkan aktivitas enzim selulase dari mikroba tanah yang diisolasi dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan. Kemampuan mengekskresikan enzim *endoglukanase* dinilai berdasarkan nilai indeks selulolitik pada media CMC dan kemampuan mengekskresikan enzim *eksoglukanase* dan β -*glukosidase* diukur dari aktivitas kedua enzim tersebut menggunakan metode Mandel yang dimodifikasi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kisaran nilai indeks selulolitik dari mikroba selulolitik di persawahan pasang surut tipe A sebesar 2.29-3.72, di lahan tipe B sebesar 2.66-5.41, dan di lahan tipe C sebesar 1.84-3.34. Aktivitas *eksoglukanase* dari mikroba selulolitik di persawahan pasang surut tipe A sebesar 0.27-1.65 nkat mL⁻¹, lahan tipe B sebesar 0.37-1.85 nkat mL⁻¹, dan lahan tipe C sebesar 0.31-1.85 nkat mL⁻¹. Mikroba selulolitik dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan memiliki aktivitas β -*glukosidase* sebesar 0.05-1.52 nkat mL⁻¹. Isolat-isolat mikroba selulolitik yang memiliki aktivitas *selulase* tertinggi adalah isolat bakteri selulolitik J11, J42, R23, BK12, C52, TB41, B82 dan SN123, dan isolat fungi selulolitik ST33, ST22, TB31, B52, GA22, TD11, PI52 dan P31.

Kata kunci: *Selulase*, bakteri selulolitik, fungi selulolitik, persawahan pasang surut

PENDAHULUAN

Pengomposan jerami padi secara alami di persawahan pasang surut Kalimantan membutuhkan waktu 2-3 bulan. Sisa jerami padi ditebas dan dibiarkan

terhampar selama 1-1.5 bulan, saat mulai membusuk dikumpulkan dan dibentuk seperti bola (*dipuntal*) berdiameter 40-50 cm dan membusuk kira-kira 2 minggu. Setelah itu dibalik dan dibiarkan kira-kira 2 minggu untuk selanjutnya dihamparkan dan bagian jerami yang belum

* Penulis Korespondensi: Telp. +6281348343793; Email. fakhrurrazie@yahoo.com

terlapuk dipotong-potong atau dikumpulkan membentuk galangan. Proses ini dikenal dengan sistem *tepulikampar*, yaitu dengan cara ditebas, *dipuntal*, dibalik dan *diampar* (Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2007).

Proses pengomposan jerami padi yang lama disebabkan jerami mengandung senyawa-senyawa sukar lapuk, yaitu 35-45% selulosa, 18-25% hemiselulosa dan 10-25% lignin (Galletti dan Antonetti, 2011; Lynd *et al.*, 2002). Chew *et al.* (2001) menunjukkan bahwa degradasi bahan kapas (mengandung 96% selulosa) mencapai 75% setelah 25 hari dimasukkan tanah yang subur dan mencapai 18.4-41.9% pada tanah yang terkontaminasi logam-logam berat. Pengomposan bahan jerami membutuhkan teknologi yang mampu mempercepat degradasi selulosa.

Selulosa adalah polimer glukosa rantai lurus dengan ikatan β -1.4 glukosida dari suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa (Shuangqi *et al.*, 2011). Rantai lurus tersebut berhubungan melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals (Perez *et al.*, 2002). Selulosa mengandung sekitar 50-90% bagian berkrystal dan sisanya bagian amorf. Ikatan β -1.4 glukosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis asam atau enzimatis.

Selulosa dapat didegradasi oleh enzim *selulase* yang dapat dihasilkan oleh mikroba. Enzim tersebut mendegradasi molekul selulosa yang tidak larut menjadi mono atau disakarida sederhana larut sehingga dapat digunakan oleh mikroba sebagai sumber energi. Degradasi selulosa merupakan hasil kerja tiga komponen enzim secara sinergis, yaitu *endoglukanase*, *eksoglukanase*, dan β -*glukosidase* (Lymar *et al.*, 1995). Beberapa mikroba yang berperan dalam proses dekomposisi seperti *Achromo bacteria*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cytophaga*, *Vibrio Pseudomonas*, dan *Sporocytophaga* merupakan kelompok bakteri selulolitik, dan *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Pencillium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus* dan *Trichoderma* merupakan kelompok fungi selulolitik.

Persawahan di daerah pasang surut dipengaruhi intrusi dan endapan dari laut atau sungai yang bercampur dengan bahan endapan dari hulu lebih tinggi, menjadikan daerah ini memiliki kekhasan, yakni adanya unsur-unsur logam yang dapat meracuni tanaman (Fe dan Al), rendahnya kesuburan tanah, adanya pasang surut air dan adanya akumulasi bahan organik dari bahan jerami akan mempengaruhi keberadaan mikroba selulolitik dan kemampuannya dalam mendekomposisikan bahan organik. Tujuan penelitian adalah mengisolasi dan menyeleksi mikroba selulolitik berdasarkan kemampuannya menghasilkan enzim *selulase*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor dan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat.

Bahan dan Alat

Kompos jerami yang sedang melapuk sebagai sumber isolat diambil dari persawahan pasang surut di Kalimantan Selatan, yaitu di Kabupaten Barito Kuala (desa Barambai, Beringin Kencana, Cerbon, Gambah Asahi, Jelapat, Koanda, Marabahan, Purwosari I, Rumpiang, Simpang Nungki, Sungai Bamban) dan di Kabupaten Banjar (desa Penggalaman, Sungai Rangas dan Sungai tabuk). Kompos jerami tersebut umumnya berasal dari jerami padi varitas lokal, yaitu varietas Siam Unus dan Siam Pandak. Media yang dipergunakan pada penelitian ini adalah Medium Pengayaan (*Enrichment culture medium*) dengan komposisi KH_2PO_4 1 g L^{-1} , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g L^{-1} , NaCl 1 g L^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.4 g L^{-1} , CaCl_2 0.1 g L^{-1} dan substrat serbuk jerami (sebagai sumber C) 100 g L^{-1} dan pH media ditetapkan dengan NaOH 0.01 M hingga pH 7, serta medium mengandung selulosa dengan komposisi *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 10 g L^{-1} , KH_2PO_4 1 g L^{-1} , K_2SO_4 0.5 g L^{-1} , NaCl 0.5 g L^{-1} , FeSO_4 0.01 g L^{-1} , MnSO_4 0.01 g L^{-1} , NH_4NO_3 1 g L^{-1} , MgSO_4 0.2 g L^{-1} dan Agar 20 g L^{-1} (Susilowati *et al.*, 2003).

Metode

Sumber isolat bahan jerami yang terdekomposisi alami diambil dari persawahan pasang surut di wilayah Kabupaten Barito Kuala dan Banjar Kalimantan Selatan. Sumber isolat dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan disimpan dalam termos es saat di lapangan dan selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin sebelum dilakukan kegiatan isolasi dan pemurnian bakteri dan jamur selulolitik.

Isolasi dan Pemurnian Mikroba Selulolitik

Sumber isolat yang belum terdekomposisi secara sempurna dipotong-potong (\pm 2-5 cm) masing-masing sebanyak 10 g disuspensikan ke dalam 90 mL medium pengayaan. Suspensi tersebut digoyang di atas *shaker* berkecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 3 hari. Selanjutnya 10 mL suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam 90 mL medium mineral yang telah ditambah substrat serbuk jerami dan digoyang di atas *shaker* lagi. Setelah itu, 10 mL suspensi yang baru dimasukan ke dalam 90 mL medium mineral, ditambah substrat serbuk gergaji dan kembali digoyang. Kemudian 0.1 mL suspensi hasil biakan disebar pada cawan petri berisi medium CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) padat.

Pertumbuhan dan kemampuan bakteri merombak bahan organik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada medium CMC. Zona bening yang timbul menunjukkan terjadinya hidrolisis bahan organik dalam substrat yang diakibatkan oleh enzim *selulase* dari mikroba. Isolat-isolat yang diperoleh dimurnikan, diperbanyak dan disimpan pada lemari pendingin yang suhunya berkisar 4 $^{\circ}\text{C}$ menggunakan media agar miring CMC. Dalam mengisolasi dipisahkan antara bakteri dan jamur. Selanjutnya dilakukan pengujian isolat perombak bahan organik berdasarkan kemampuannya 1) mengekskresikan enzim *selulase*, 2) ketahanan terhadap kondisi lingkungan tanah (berdasarkan kemasaman tanah) yang diberi bahan organik, dan 3) mempercepat proses pengomposan.

Penetapan Aktivitas *Endoglukanase*

Isolat yang telah dimurnikan ditumbuhkan pada cawan petri dengan menggunakan media CMC, selanjutnya diinkubasi selama 4 hari pada suhu 27 °C dalam inkubator. Pada akhir inkubasi diukur diameter koloninya, kemudian inkubasi dilanjutkan hingga berumur satu minggu dan dilakukan pewarnaan dengan *congo red* pada kedua media tersebut. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter koloni dan diameter zona bening. Kemampuan mengekspresikan *selulase* dihitung dari nisbah antara diameter zona bening dibagi diameter koloni. Pengukuran setiap isolat akan diulang sebanyak 4 kali.

Penetapan Aktivitas *Eksoglukanase* dan β -glukosidase

Enzim *selulase* diperoleh dengan cara pembuatan *starter* dari mikroba selulolitik seperti dijelaskan oleh Susilowati *et al.* (2003) yaitu menumbuhkan isolat tersebut dalam 150 mL media produksi Mandels (14% (NH₄)₂SO₄, 20% KH₂PO₄, 3% MgSO₄.7H₂O, 3% Urea, 30% CaCl₂, 0.5% FeSO₄, 1.6% MnSO₄, 1.4% ZnSO₄, dan 2% CoCl₂) yang dimodifikasi dengan penambahan serbuk jerami sebagai sumber karbonnya, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 5 x 24 jam dengan digoyang pada *shaker* berkecepatan 150 rpm. Enzim *selulase* kasar dipanen dengan cara mensentrifuse dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit dan supernatannya diambil. Selanjutnya pengukuran aktivitas *selulase* dilakukan dengan cara berikut: aktivitas enzim *eksoglukanase* digunakan 1 mL filtrat enzim, 1 mL bufer fosfat pH 7.00, 1% substrat mikrokristalin (*Avicel*) dan aktivitas enzim β -glukosidase digunakan kertas saring Whatman No.1. Pra-inkubasi campuran filtrat enzim, bufer fosfat, dan substrat dilakukan dalam tabung berisi air di atas penangas api selama 5 menit, lalu divortik masing-masing campuran. Inkubasi pada pengujian aktivitas β -glukosidase dilakukan selama 30 menit pada suhu 45 °C, sedangkan pada pengujian aktivitas *eksoglukanase* selama 1 jam pada suhu 60 °C. Setelah itu, dilakukan penambahan 3 mL larutan DNS (*Dinitro Salicylic Acid*), divorteks, dan dimasukkan ke dalam air mendidih selama 15 menit. Kontrol disiapkan dengan menambahkan 1 mL filtrat enzim setelah penambahan 3 mL DNS, sedangkan blanko berisi campuran 2 mL akuades, 1 mL bufer, dan 3 mL DNS. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 540 nm. Satu unit aktivitas enzim ialah banyaknya enzim yang dapat memproduksi 1 μ mol glukosa dalam 1 menit pada kondisi pengukuran enzim. Satu unit aktivitas setara dengan 16.7 nkat (Dybkaer, 2001).

Metode Seleksi Isolat

Penentuan isolat-isolat selulolitik terseleksi pada setiap pengujian dilakukan dengan cara skoring dari tiap peubah yang diukur. Data hasil pengukuran indeks selulolitik, enzim *eksoglukanase* dan β -glukosidase pada setiap ulangan pengukuran diurut dari yang terendah hingga tertinggi dan diberi nilai skor mulai dari 1 untuk nilai terendah hingga n untuk nilai tertinggi sesuai jumlah isolat yang diuji. Nilai skor dari ulangan setiap isolat dijumlahkan untuk mendapatkan skor akhir dari isolat tersebut. Seleksi berdasarkan kemampuan dalam

mengekspresikan enzim *endoglukanase* tidak dibedakan antara isolat bakteri dan fungi selulolitik. Pada seleksi awal ini selain isolat yang memiliki total nilai skor tinggi (20 isolat), juga diseleksi yang memiliki total nilai skor sedang dan rendah (masing-masing 10 isolat) sebagai pembandingan untuk seleksi selanjutnya. Pada seleksi berdasarkan aktivitas enzim *eksoglukanase* dan β -glukosidasenya dipilih isolat bakteri dan fungi selulolitik yang memiliki total nilai skor tinggi (masing-masing delapan isolat) dan dua isolat bakteri dan fungi selulolitik yang memiliki total nilai rendah sebagai pembandingan untuk seleksi selanjutnya, sehingga ada 20 isolat selulolitik yang terseleksi.

Analisis Data

Hasil pengukuran indeks selulolitik dan aktivitas enzim *eksoglukanase* dan β -glukosidase dilakukan analisis ragam untuk mengetahui pengaruh perbedaan dari isolat-isolat tersebut berdasarkan lokasi pengambilan sampel. Jika menunjukkan pengaruhnya dilakukan uji beda nilai tengah untuk mengetahui perbedaan antar lokasi pengambilan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Mikroba Selulolitik

Seratus sumber isolat yang dikoleksi dari persawahan pasang surut di Kabupaten Barito Kuala dan Banjar Kalimantan Selatan diisolasi sebanyak 3 kali ulangan dan diperoleh sebanyak 143 isolat selulolitik murni. Rekapitulasi daftar sumber isolat dan isolat mikroba selulolitik yang diperoleh berdasarkan lokasi dan tipologi lahan pasang surut isolat tersebut disajikan pada Tabel 1.

Lahan pasang surut terdiri dari 4 tipe lahan, yaitu lahan tipe A adalah lahan yang terluapi pada pasang besar maupun pasang kecil, tipe B adalah lahan yang hanya terluapi ketika pasang besar, tipe C adalah lahan yang tidak terluapi pada pasang besar dan kecil, dan kedalaman air tanah kurang dari 50 cm, dan tipe D adalah lahan yang tidak terluapi pada pasang besar maupun kecil dan kedalaman muka air tanah lebih dari 50 cm (Widjaja-Adhi *et al.*, 1997). Isolasi dan pemurnian mikroba selulolitik dari 45 sumber isolat dari lahan tipe A diperoleh 43 isolat fungi dan 25 isolat bakteri selulolitik, dari 42 sumber isolat yang dikoleksi dari lahan tipe B diperoleh sebanyak 28 isolat fungi dan 31 isolat bakteri selulolitik, dan dari 13 sumber isolat yang dikoleksi dari lahan tipe C diperoleh 4 isolat fungi dan 12 isolat bakteri selulolitik. Jumlah isolat fungi selulolitik yang ditemukan dari semua lokasi sumber isolat lahan tipe A lebih banyak dibandingkan dengan bakteri selulolitik. Kondisi lahan tipe A yang selalu terluapi sehingga kekurangan oksigen. Hal tersebut lebih membatasi keberadaan bakteri selulolitik jika dibandingkan dengan fungi selulolitik. Sebaliknya pada lahan tipe C dengan kondisi lingkungan yang lebih aerob jika dibandingkan dengan tipe A, ditemukan bakteri selulolitik pada semua lokasi sumber isolat di lahan tipe C lebih tinggi dibandingkan dengan fungi selulolitik. Singh *et al.* (2010) menjelaskan bahwa keberadaan mikroba selulolitik dalam tanah berhubungan dengan sistem pengelolaan lahan yang berhubungan dengan pengaruh

kondisi lingkungan terhadap kelimpahan dan aktivitas dekomposisinya.

Tabel 1. Sumber isolat dan mikroba selulolitik yang diperoleh dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan

No	Lokasi (tipologi lahan)	Lokasi Sumber Isolat	Jumlah isolat yang dimurnikan		Total
			Fungi	Bakteri	
1.	Berambai (tipe B)	8	8	3	11
2.	Beringin Kencana (tipe A)	5	4	1	5
3.	Cerbon (tipe B)	5	3	6	9
4.	Gambah Asahi (tipe B)	5	1	9	10
5.	Jelapat (tipe A)	5	7	0	7
6.	Koanda (tipe A)	10	9	0	9
7.	Marabahan (tipe B)	8	0	14	14
8.	Penggalaman (tipe B)	4	3	1	4
9.	Purwosari I (tipe A)	5	5	1	6
10.	Rumpiang (tipe A)	4	7	1	8
11.	Simpang Nungki (tipe A)	12	14	3	17
12.	Sungai Bamban (tipe B)	5	1	5	6
13.	Sungai Rangas (tipe C)	9	4	5	9
14.	Sungai Tabuk (tipe C)	4	0	7	7
15.	Tinggiran Baru mekarsari (tipe A)	9	14	3	17
16.	Tinggiran Dalam (tipe B)	5	3	1	4
Tipologi lahan pasang surut*					
1.	tipe A	45	43	25	68
2.	tipe B	42	28	31	59
3.	tipe C	13	4	13	16
Jumlah		100	83	60	143

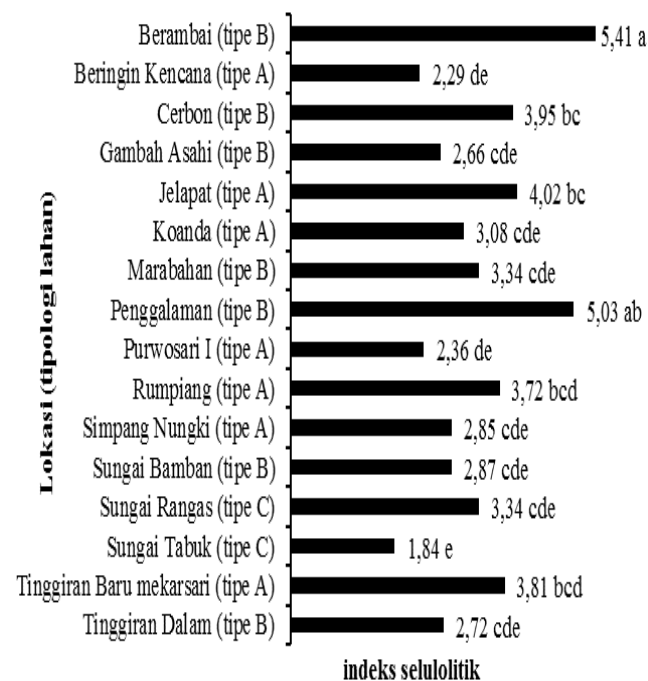
Keterangan: * Isolasi setiap sumber isolat dilakukan 3 kali
Tipe D tidak ditemukan sumber isolat dari jerami hasil panen sebelumnya saat penelitian

Pada lahan tipe B, isolat bakteri selulolitik pada lokasi Cerbon, Gambah Asahi, Marabahan dan Sungai Bamban lebih banyak ditemukan dibanding fungi selulolitik, tetapi isolat bakteri selulolitik pada lokasi Beringin Kencana, Penggalaman dan Tinggiran baru lebih sedikit ditemukan dibandingkan fungi selulolitik. Lahan pasang surut tipe B yang terluapi ketika pasang besar dan tidak terluapi ketika pasang kecil pada beberapa bulan atau periodik pasang surut air dalam satu bulan menimbulkan perubahan kondisi aerob dan anaerob sehingga sebagian dari lokasi sumber isolat di lahan tipe B lebih banyak bakteri selulolitik dibanding dengan fungi selulolitik dan sebaliknya.

Kemampuan Mengekskresikan Endoglukanase

Kemampuan isolat-isolat selulolitik dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan (sebanyak 143 isolat) dalam mengekskresikan enzim *endoglukanase* didasarkan pada nilai indeks selulolitik pada media CMC. Nilai indeks selulolitik menggambarkan kemampuan isolat-isolat mikroba selulolitik dalam mengekskresikan enzim *endoglukanase* (CMC-ase), semakin besar nilai indeks selulolitik maka semakin besar kemampuan dalam mengekskresikan CMC-ase. Sirisena dan Manamendra (1995) menjelaskan bahwa salah satu enzim yang dibutuhkan untuk merubah selulosa menjadi glukosa adalah *endo-1.4 β-glukonase* yang dapat dideteksi dengan hidrolisis CMC dari nilai indeks selulolitik. *Endoglukanase* merupakan komponen *selulase* yang selalu ditemukan pada mikroorganisme selulolitik.

Enzim ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap turunan selulosa dan bereaksi secara acak pada serat selulosa yang amorf, aktivitas yang tinggi pada substrat CMC dan menyebabkan penurunan viskositas substrat yang dapat larut (Ilmen *et al.*, 1997). Kemampuan isolat-isolat dalam mengekskresikan *selulase* yang diukur dari nilai indeks selulolitiknya berdasarkan lokasi sumber isolat dapat dilihat pada Gambar 1. Mikroba selulolitik yang dikoleksi dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan yang memiliki *endoglukanase* (nilai indeks selulolitik) tinggi ditemukan di lahan tipe B Berambai yaitu 5.41. Sedangkan yang terendah ditemukan di lahan tipe C Sungai Tabuk yaitu 1.84. Kisaran nilai indeks selulolitik di persawahan pasang surut tipe A berkisar antara 2.29 dan 3.72; lahan tipe B berkisar antara 2.66 dan 5.41, dan pada lahan tipe C berkisar antara 1.84 dan 3.34. Namun demikian dari kisaran nilai indeks selulolitik tersebut hanya pada lahan tipe B yang memiliki nilai indeks yang meningkat secara nyata. Hal ini diduga disebabkan variabilitas lahan tipe B lebih besar dibanding tipe lainnya, terutama disebabkan oleh kondisi aerob dan anaerob di lahan ini.



Keterangan: Koefisien Keragaman = 6.11%. angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan perbedaan menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%, A, B dan C = tipologi lahan

Gambar 1. Nilai Indeks selulolitik dari isolat-isolat yang dimurnikan berdasarkan lokasi sumber isolat diperoleh

Seleksi Isolat Berdasarkan Nilai Indeks Selulolitik

Dua puluh isolat yang memiliki total nilai skor tinggi dari nilai indeks selulolitiknya yaitu 342-439, dan masing-masing 10 isolat yang memiliki total nilai skor sedang dan rendah dari nilai indeks selulolitik masing-masing 219-221 dan 4-38 (Tabel 2).

Tabel 2. Mikrob selulolitik sebanyak 40 isolat mikroba selulolitik yang digunakan untuk menilai indeks selulolitik berdasarkan lokasi (tipologi lahan)

No	Lokasi (tipologi lahan)	Isolat mikroba dengan nilai indeks selulolitik		
		Tinggi	Sedang	Rendah
1.	Berambai (tipe B)	B22, B51, B82, B52	-	-
2.	Beringin Kencana (tipe A)	-	BK12	BK31
3.	Cerbon (tipe B)	C32, C52	-	-
4.	Gambah Asahi (tipe B)	GA22	GA21	-
5.	Jelapat (tipe A)	J43	J11, J42	-
6.	Koanda (tipe A)	-	K42	-
7.	Marabahan (tipe B)	M33, M51, M72	M53, M212	M512, M711
8.	Penggalaman (tipe B)	P31	-	-
9.	Purwosari I (tipe A)	-	-	PI52
10.	Rumpiang (tipe A)	R11, R23	-	-
11.	Simpang Nungki (tipe A)	SN21	-	SN123
12.	Sungai Bamban (tipe B)	SB12	SB41	-
13.	Sungai Rangas (tipe C)	SR12	SR41	-
14.	Sungai Tabuk (tipe C)	-	ST21	ST22, ST33
15.	Tinggiran Baru mekarsari (tipe A)	TB52, TB32, TB42	TB103, TB31, TB41	-
16.	Tinggiran Dalam (tipe B)	-	-	TD11

Seleksi Isolat Berdasarkan Aktivitas *Eksoglukanase* dan β -glukosidase

Berdasarkan aktivitas isolat dalam menghasilkan enzim *eksoglukanase* dan β -glukosidase diperoleh 20 isolat terseleksi yaitu 8 isolat bakteri dan 8 isolat fungi selulolitik yang memiliki total nilai skor tertinggi sebesar 76-110 dan 68-101 dan dua isolat bakteri dan dua isolat fungi memiliki total nilai skor terendah (45-52 dan 10-13). Delapan isolat bakteri selulolitik yang memiliki total nilai skor tinggi adalah J11, J42, R23, BK12, C52, TB41, B82 dan SN123, sedangkan delapan isolat fungi selulolitik yang memiliki total nilai skor tertinggi adalah ST33, ST22, TB31, B52, GA22, TD11, PI52 dan P31. Selanjutnya dua isolat bakteri selulolitik yang memiliki total nilai skor rendah adalah TB103 dan SN21, dan dua isolat fungi yang memiliki total nilai skor rendah adalah M72 dan GA31.

Kemampuan Mengekskresikan *Eksoglukanase* dan β -glukosidase

Aktivitas *eksoglukanase* dan β -glukosidase dari 40 isolat terseleksi berdasarkan lokasi sumber isolat dapat dilihat pada Tabel 3. Aktivitas *eksoglukanase* tertinggi ditemukan di Tinggiran Dalam (1.85 nkat mL⁻¹) diikuti oleh sumber isolat Rumpiang dan Jelapat masing-masing

sebesar 1.65 dan 1.58 nkat mL⁻¹, sedangkan aktivitas *eksoglukanase* terendah ditemukan di lahan tipe A simpang Nungki sebesar 0.27 nkat mL⁻¹.

Aktivitas enzim *selulase* pada substrat Avicel memotong ujung substrat selulosa yang berbentuk kristalin, menunjukkan adanya aktivitas enzim *ekso-1,4-β-glukanase* atau *selobiohidrolase*, dimana ujung rantai oligo-sakarida menjadi selobiosa, yaitu dua molekul glukosa yang berikatan secara β -1,4-glikosidik (Meryandini *et al.* 2009). Pemutusan β -1,4-glikosida dari dua molekul glukosa dilakukan oleh enzim *glukosidase* menjadi gula-gula reduksi sederhana. Aktivitas enzim *eksoglukanase* di persawahan pasang surut tipe A berkisar antara 0.27 dan 1.65 nkat mL⁻¹; lahan tipe B berkisar antara 0.37 dan 1.85 nkat mL⁻¹; dan lahan tipe C berkisar antara 0.31 dan 1.85 nkat mL⁻¹. Namun demikian nilai aktivitas isolat-isolat tersebut relatif lebih tinggi dibanding dengan aktivitas enzim dari bakteri selulolitik yang isolasi dari lahan pertanian di Jawab Barat, yaitu isolat bakteri selulolitik C4-4, C5-1 dan C 11-1 yakni 0.02-0.03 nkat mL⁻¹ (Nur, 2007). Aktivitas enzim *eksoglukanase* mikroba selulolitik di lahan tipe A dan B secara nyata mengalami peningkatan dari aktivitas yang terendah hingga tertinggi.

Tabel 3. Aktivitas enzim *eksoglukanase* dan *glukosidase* dari 40 isolat selulolitik terseleksi berdasarkan lokasi sumber isolat

Isolat	Sumber Isolat	<i>Eksoglukanase</i>	β -glukosidase
		----- nkat mL ⁻¹ -----	
B22, B51, B82, B52	Berambai (tipe B)	0.61c	0.19 b
BK12, BK31	Beringin Kencana (tipe A)	1.00 abc	0.13 b
C32, C52	Cerbon (tipe B)	1.25 abc	0.20 b
GA22, GA21	Gambah Asahi (tipe B)	0.47 c	0.16 b
J43, J11, J42	Jelapat (tipe A)	1.58 ab	1.52 a
K42	Koanda (tipe A)	0.56 c	0.02 b
M33, M51, M72, M53, M212, M512, M711	Marabahan (tipe B)	0.50 c	0.10 b
P31	Penggalaman (tipe B)	0.75 abc	0.06 b
PI52	Purwosari I (tipe A)	0.52 c	0.23 b
R11, R23	Rumpiang (tipe A)	1.65 ab	0.32 b
SN21, SN123	Simpang Nungki (tipe A)	0.27 c	0.05 b
SB12, SB41	Sungai Bamban (tipe B)	0.37 c	0.09 b
SR12, SR41	Sungai Rangas (tipe C)	0.31 c	0.05 b
ST21, ST22, ST33	Sungai Tabuk (tipe C)	1.10 bc	0.92 b
TB52, TB32, TB42, TB103, TB31, TB41	Tinggiran Baru mekarsari (tipe A)	0.41c	0.27 b
TD11	Tinggiran Dalam (tipe B)	1.85 a	0.06 b
	Koefisien keragaman (%)	2.09	1.79

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada masing-masing kolom menunjukkan tidak ada perbedaan dari lokasi menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pada Tabel 3 dapat dilihat aktivitas enzim *glukosidase*. Enzim ini berperan dalam menghasilkan gula reduksi sederhana. Aktivitas β -*glukosidase* dari mikroba selulolitik dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan berkisar antara 0.02 dan 1.52 nkat mL⁻¹. Aktivitas enzim β -*glukosidase* dari lahan tipe A Jelapat merupakan aktivitas enzim tertinggi 1.52 nkat mL⁻¹. Dari penelitian Nur (2007) menunjukkan bahwa aktivitas enzim β -*glukosidase* isolat bakteri selulolitik C4-4, C5-1 dan C 11-1 hanya berkisar 0.01-0.02 nkat mL⁻¹, sedangkan aktivitas enzim β -*glukosidase* dari lokasi lainnya tidak menunjukkan perbedaan. Keadaan lahan yang tergenang di persawahan pasang surut tipe A dan adanya periodik penggenangan di tipe B dapat menjadikan kemasaman tanah akan turun. Sehingga beberapa mikroba selulolitik yang ditemukan di daerah ini mampu beraktivitas dengan baik ketika berada di lingkungan yang pHnya semakin naik.

SIMPULAN

1. Isolat yang diperoleh sebanyak 143 isolat, 43 fungi dan 25 bakteri berasal dari persawahan pasang surut tipe A; 28 fungi, 31 bakteri dari lahan tipe B; dan 4 fungi dan 12 bakteri dari lahan tipe C.
2. Kisaran nilai indeks mikroba selulolitik di persawahan pasang surut tipe A sebesar 2.29-3.72, di lahan tipe B sebesar 2.66-5.41, dan di lahan tipe C sebesar 1.84-3.34. Aktivitas *eksoglukanase* dari lahan tipe A sebesar 0.27-1.65 nkat mL⁻¹, lahan tipe B sebesar 0.37-1.85 nkat mL⁻¹, dan lahan tipe C sebesar 0.31-1.85 nkat mL⁻¹. Aktivitas β -*glukosidase* dari mikroba selulolitik sebesar 0.05-1.52 nkat mL⁻¹.
3. Isolat bakteri selulolitik yang memiliki aktivitas *selulase* tertinggi adalah J11, J42, R23, BK12, C52, TB41, B82 dan SN123, dan isolat fungi selulolitik yang memiliki aktivitas *selulase* tertinggi adalah ST33, ST22, TB31, B52, GA22, TD11, PI52 dan P31.

DAFTAR PUSTAKA

- Chew, I., J.P. Obbard, and R.R. Stanforth. 2001. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminate with heavy metals. *Environ. Pollut.*, 111:367-375.
- Dybkaer, R. 2001. Unit "katal" for catalytic activity. *Pure Appl. Chem.*, 73:927-931.
- Galletti, A.M.R. and C. Antonetti. 2011. Biomass pre-treatment: separation of cellulose, hemicellulose and lignin. http://www.eurobioref.org/Summer_School/Lectures_Slides/day2/Lectures/L04_AG%20Raspolli.pdf.
- Ilmen, M.A., Saloheimo, O. Maija-Leena and M.E. Penttila. 1997. Regulation of Cellulase Gene Expression In The Filamentous Fungus *Trichoderma Reesei*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63:1208-1306.
- Lymar, E.S., B. Li and V. Renganathan. 1995. Purification and characterization of a cellulose-binding β -glucosidase from cellulose degrading culture of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:2976-2980.
- Lynd, L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl and I.I. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 66:506-577.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains*, 13:33-38.
- Nur, H.S. 2007. Aplikasi enzim bakteri selulolitik dan xilanolitik dalam dekomposisi substrat limbah tanaman padi [tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol.*, 5:53-63.
- Sirisena, D.M. and T.P. Manamendra. 1995. Isolation and characterization of cellulolytic bacteria from decomposing rice straw. *J. Nat. Sci. Country*, 23:25-30.
- Singh, M., S. Khanna, and N.T. Prakash. 2010. Influence of Cellulolytic Bacterial Augmentation on organic and available phosphorus in sandy loam soil under cultivation. *J. Agric. Sci.*, 2:137-145.
- Susilowati, D.N., Rosmimik, R. Saraswati, R.D.M. Simanungkalit, dan L. Gunarto. 2003. Koleksi, karakterisasi, dan preservasi mikroba penyubur tanah dan perombak bahan organik dalam Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, 23-24 September 2003.
- Shuangqi, T., W. Zhenyu, F. Ziluan, Z. Lili and W. Jichang. 2011. Determination methods of cellulase activity. *Afr. J. Biotech.*, 10:7122-7125.
- Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2007. *Konservasi Lahan Pasang Surut dengan Teknologi Tradisional "Tepulikampar"*. Balai Penelitian Pertanian Lahan Rawa. Banjarbaru. hlm 10.
- Widjaja-Adhi, I.P.G., N.P.S. Ratmini dan I.W. Swastika. 1997. Pengelolaan tanah dan air di lahan pasang surut. Proyek Penelitian Pengembangan Pertanian Rawa Terpadu-ISDP. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor. hlm 5.

