



Submitted Date: May 11, 2023

Accepted Date: September 3, 2023

Editor-Reviewer Article: Eny Puspani & A.A. Pt. Putra Wibawa

EVALUASI AKTIVITAS ENZIM KANDIDAT ISOLAT BAKTERI PROBIOTIK SELULOLITIK ASAL USUS BESAR BABI BALI

Adnyana, K.A.B., I M. Mudita, dan I G.L.O. Cakra

PS. Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali
e-mail: budaadnyana@student.unud.ac.id, Telp. +62 887-0315-0873

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim dari kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali pada berbagai substrat spesifik yang telah dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana selama 4 bulan. Penelitian dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan yang didasarkan pada isolat bakteri yang diperoleh yaitu isolat bakteri dengan kode B2, C12, A5, A11 dan C11. Pengamatan aktivitas enzim dilakukan pada beberapa waktu inkubasi (30 menit, 1 jam, 24 jam) dan masing-masing diulang 4 kali. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah aktivitas enzim *endo-glukanase* (pada substrat CMC), *ekso-glukanase* (substrat avicel), *xylanase* (substrat xylan) dan *amilase* (substrat amilum). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali menghasilkan aktivitas enzim 0,0005 – 0,0426 U; 0,00145 – 0,06598 U; 0,3686 – 17,353 U; 0,00136 – 0,05098 U masing-masing untuk aktivitas enzim endo-glukanase, eksoglukanase, xylanase, dan amilase. Isolat bakteri dengan kode C12 mempunyai aktivitas enzim *endo-glukanase*, *ekso-glukanase* dan *amilase* yang lebih tinggi dari isolat lainnya, sedangkan isolat dengan kode C11 menghasilkan aktivitas enzim *xylanase* yang lebih tinggi dari isolat lainnya. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kelima kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik menghasilkan aktivitas enzim beragam, dimana isolat bakteri dengan kode C11 dan C12 masing-masing merupakan isolat bakteri dengan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya.

Kata Kunci : bakteri probiotik selulolitik, usus besar babi bali, aktivitas enzim

EVALUATION OF ENZYME ACTIVITY OF CANDIDATE ISOLATES OF CELLULOLYTIC PROBIOTIC BACTERIA FROM THE LARGE INTENSTINE OF BALI PIG

ABSTRACT

This research aims to determine the enzyme activity of candidate isolates of cellulolytic probiotic bacteria from the large intestine of Bali pigs on various specific substrates which have been carried out at the Animal Feed and Nutrition Laboratory, Faculty of Animal Husbandry, Udayana University for 4 months. The study was carried out in a completely randomized design (CRD) with 5 treatments based on cellulolytic probiotic bacteria isolates obtained namely

bacterial isolates with codes B2, C12, A5, A11 and C11. Observation of enzyme activity was carried out at several incubation period (30 minutes, 1 hour, 24 hours) and each was 4 replicated. The variables observed in this study were the activity of *endo-glucanase* (on CMC substrate), *exo-glucanase* (on avicel substrate), *xylanase* (on xylan substrate) and *amylase* (on starch substrate). The results showed that the five candidate isolates of cellulolytic probiotic bacteria isolated from the large intestine of bali pigs produced enzyme activities of 0.0005 – 0.0426 U; 0.00145 – 0.06598 U; 0.3686 – 17.353 U; 0.00136 – 0.05098 U respectively for the activity of endo-glucanase, exoglucanase, xylanase and amylase enzymes. Bacterial isolates with code C12 had higher activity of endo-glucanase, exo-glucanase and amylase than other isolates, while isolates with code C11 produced higher activity of xylanase enzymes than other isolates. Based on the results of the study, it can be concluded that the five candidate isolates of cellulolytic probiotic bacteria produced various enzyme activities, where the bacterial isolates with codes C11 and C12 each were bacterial isolates with higher enzyme activity compared to the other isolates.

Keywords: *cellulolytic probiotic bacteria, bali pig large intestine, enzyme activity*

PENDAHULUAN

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase dan menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Bakteri selulolitik dijumpai pada habitat yang kaya akan selulosa, salah satunya adalah saluran cerna babi bali. Menurut Varel *et al.* (1984) bahwa saluran cerna babi yang umumnya mengonsumsi pakan dengan kandungan serat tinggi berpotensi terdapat bakteri pendegradasi serat (selulosa) pada saluran pencernaannya. Selulolitik sendiri merupakan suatu proses pemecahan selulosa menjadi beberapa senyawa atau unit-unit glukosa yang lebih sederhana. Beberapa genus bakteri yang mampu melakukan proses selulolitik antara lain *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* dan *Aeromonas* Anand *et al.* (2009).

Bakteri selulolitik saat ini mulai banyak dimanfaatkan sebagai probiotik *agen growth promoter* karena kemampuannya mengoptimalkan proses pencernaan dan pemanfaatan nutrisi serta meningkatkan kesehatan saluran cerna dan tubuh ternak secara keseluruhan (Mudita *et al.*, 2019; 2021; Zubaidah *et al.*, 2019). Mudita *et al.* (2019) mengungkapkan bakteri probiotik lignoselulolitik (lignolitik, selulolitik dan xylanolitik) mampu menghasilkan enzim lignoselulase (lignase, endoglukanase, eksoglukanase dan xylanase) serta memproduksi asam-asam organik (asam laktat, asetat, propionat, butirat dan asam organik lainnya) yang mampu meningkatkan kesehatan saluran cerna dan proses penyerapan nutrisi. Bakteri probiotik selulolitik mampu

meningkatkan pencernaan nutrisi khususnya pencernaan serat selulosa karena dapat menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerjasama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan (1,4)- β -Dglukosa pada selulosa (Saratale, 2012). Munifah (2011) melaporkan bahwa enzim selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa dengan memutus ikatan glikosidik β -1,4 dalam selulosa, selodektrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya menjadi gula sederhana atau glukosa.

Hasil penelitian Mudita *et al.* (2019) menunjukkan bakteri selulolitik asal rumen sapi bali mempunyai aktivitas enzim *endoglukanase* dan *eksoglukanase* masing-masing sebesar 3,652 – 3,842 U dan 3,901 – 4,005 U, sedangkan bakteri selulolitik asal rayap masing-masing sebesar 4,893 – 5,113 U dan 2,583 – 2,805 U (mmol/mg protein enzim/menit). Lebih lanjut diungkapkan bakteri selulolitik unggul asal rumen sapi bali serta rayap dengan aktivitas enzim selulase tertinggi masing-masing adalah *Bacillus subtilis strain BR₂CL* dan *Bacillus sp. strain BT₃CL*. Kamsani *et al.* (2015) melaporkan bahwa beberapa bakteri yang diisolasi dari saluran cerna rayap *Bulbitermes sp.* yaitu *Bacillus sp. B1*, *Bacillus sp. B2*, dan *Brevibacillus sp. Br3* masing-masing menghasilkan aktivitas enzim endoglukanase (138,77; 10,02; 3,46 U/g), eksoglukanase (10,17; 32,16; 14,19 U/g), β -glukosidase (2,38; 1,81; 5,45 U/g), xylanase (72,33; 66,33; 104,96 U/g), lignin peroksidase (577,03; 500,99; 648,60 U/g), manganese peroksidase (47,73; 41,48; 36,93 U/g) dan lakase (45,14; 71,18; 43,4 U/g). Septiani (2019) mengungkapkan aktivitas enzim dari setiap isolat bakteri akan dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, substrat, pH, suhu dan inhibitor. Faktor jenis isolat (spesies) merupakan faktor utama tinggi rendahnya aktivitas enzim yang mampu dihasilkan dalam proses perombakan substrat.

Beberapa penelitian mengkonfirmasi kaitan antara aktivitas enzim dengan efek menguntungkan dari penggunaan bakteri jenis ini dalam meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak, meningkatkan degradasi serat, menurunkan antinutrisi dan patogen pakan, membantu proses pencernaan dan penyerapan pakan, meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak (Bhat, 2000; Asmare, 2014; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}). Penelitian Pande (*Unpublished*) telah berhasil mengisolasi dan menskrining 5 isolat bakteri yang disinyalir dapat berperan sebagai kandidat bakteri probiotik selulolitik, yaitu isolat bakteri dengan kode A5, A11, B2, C11 dan C12 yang masing-masing memiliki kemampuan tumbuh pada berbagai variasi suhu, Kemampuan tumbuh pada berbagai variasi pH, Kemampuan tumbuh pada berbagai konsentrasi garam empedu/ NaDC, Kemampuan degradasi substrat dan Evaluasi aktivitas antimikroba. Karakteristik khususnya bentuk, sifat gram, morfologi sel dan/atau koloni, kebutuhan oksigen, uji katalase maupun uji gula-gula dari kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik (A5; A11; B2;

C11) juga telah diketahui (Ibrahim, *unpublished*). Berdasarkan penelitian tersebut, penting untuk melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui tingkat aktivitas enzim dari kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali mengingat informasi nilai aktivitas enzim sangat berkaitan dengan tingkat efektivitas isolat bakteri pada saat diimplementasikan sebagai starter maupun probiotik bagi ternak/usaha peternakan.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri hasil penelitian Pande (*unpublished*) dengan kode A5, A11, B2, C11 dan C12 yang merupakan kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali yang diambil dari daerah tempat pengembangbiakan babi bali di Desa Gerokgak, Buleleng, Bali. Peralatan yang digunakan adalah *laminar air flow*, pembangkit gas CO₂, *water bath*, pH meter, inkubator, pipet/mikropipet otomatis, pengaduk magnetik/vortex, stirer, autoklaf, sentrifuge, mikroskop, spectrophotometer uv-vis, haemocytometer, kamera, jangka sorong, lemari pendingin, berbagai peralatan plastik seperti wadah sampel, toples plastik, nampan plastik, tabung plastik untuk tempat penyimpanan stok isolat bakteri, dan berbagai peralatan gelas/glasware. Bahan/sarana yang digunakan pada penelitian ini meliputi NaCl 0,85 – 0,9%, alkohol 70%, spritus, aquades, medium pertumbuhan bakteri probiotik cair dan padat (Nutrient Broth dan Nutrient Agar), substrat selulolitik (Carboxymethylcellulose/CMC), avicel, xylan, amilum, buffer asetat 50 mM pH 5,5, Natrium dioksikolat/NaDC, larutan Dinitrosalisilat/DNS, KNA-Tartrat 40%, glukosa, silosa dan methanol.

Waktu, tempat dan rancangan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola sederhana dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan didasarkan pada kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik yang digunakan, yaitu isolat bakteri dengan kode A5, A11, B2, C11 dan C12.

Pembiakan isolat

Kandidat Isolat bakteri probiotik selulolitik yang dipakai pada kegiatan ini terlebih dahulu ditumbuhkan pada medium cair *Nutrient broth*/NB dengan waktu inkubasi 3 hari. Kultur isolat bakteri yang telah tumbuh selanjutnya dimanfaatkan untuk kegiatan produksi ekstrak enzim kasar/ *crude enzyme*.

Produksi ekstrak enzim kasar/*crude enzyme*

Produksi ekstrak enzim kasar/*crude enzyme* diperoleh dari kultur kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik yang telah dibiakan. Produksi *crude enzyme*/enzim kasar dilakukan dengan cara mensentrifuse kultur isolat bakteri dalam medium cair “Nutrien broth” pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Bagian supernatan dari kultur isolat bakteri tersebut diambil sebagai *crude enzyme*/enzim kasar dari kandidat isolat bakteri yang selanjutnya akan dimanfaatkan untuk kegiatan analisis aktivitas enzim.

Aktivitas Enzim Selulase, Xylanase dan Amilase

Uji aktivitas enzim selulase (endo-glukanase, ekso-glukanase), enzim xylanase dan enzim amilase dilakukan pada larutan substrat yang masing masing mengandung 1% substrat spesifik (CMC untuk endo-glukanase; Avicel untuk ekso-glukanase, xylan untuk xylanase dan amilum untuk amilase). Produk yang diukur adalah gula reduksi (glukosa untuk sumber selulosa dan silosa untuk sumber hemiselulosa) serta vanilin untuk sumber lignin. Pengukuran produk yang dihasilkan dilakukan dengan cara sebagai berikut: Untuk gula reduksi (glukosa dan xylosa), pengukuran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ditambahkan pada 3 ml reagen dinitrosalisilat (DNS) dan 1 mL aquades (Miller, 1959), kemudian masing-masing diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum (λ maks.) standar yang dipakai (λ maks. glukosa 508,5 nm, λ maks. silosa 508 nm). Aktivitas enzim diestimasi berdasarkan kurve standar yang diperoleh (Adney dan Baker, 2008; Ghose, 1987). Pada penelitian ini aktivitas enzim lignase akan mengikuti menggunakan persamaan $Y=0,00635X + 0,21098$ ($R^2 = 0,929$); aktivitas enzim selulase menggunakan persamaan $Y=0,00622X + 0,14277$ ($R^2=0,972$); aktivitas enzim xylanase menggunakan persamaan $Y=0,00002X + 0,20525$ ($R^2=0,897$) (Mudita, 2019). Unit aktivitas enzim (U) didefinisikan sebagai 1 μ mol vanillin/gula pereduksi yang dihasilkan tiap 1 ml crude enzim tiap menit dalam kondisi assay (Irfan et al., 2012; Lo et al., 2009).

Aktivitas Enzim Endo-glukanase

Uji aktivitas spesifik enzim endo-glukanase dilakukan pada substrat yang masing-masing mengandung 1% CMC dalam buffer asetat 50 mM, pH 5,5 (Nitisinprasert *et al.*, 1991; Subba Rao, 1993; Ahmed *et al.*, 2009). Masing-masing larutan substrat dalam buffer asetat diambil 8 ml, ditambahkan 1 ml sumber enzim dan 1 ml aquades. Campuran larutan diinkubasi dalam inkubator bergoyang, kemudian diukur aktivitas enzimnya setelah 30 menit, 1 jam dan 24 jam inkubasi. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi enzim tersebut (Efiok, 1996). Pengukuran produk yang dihasilkan

dilakukan dengan cara sebagai berikut : untuk gula reduksi (glukosa dan xylosa), pengukuran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ditambahkan pada 3 ml reagen dinitrosalisilat (DNS) dan 1 ml aquades (Miller, 1959, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum (λ maks) standar yang dipakai λ maks. Glukosa 508,5 nm.

Aktivitas Enzim Ekso-glukanase

Uji aktivitas spesifik enzim ekso-glukanase dilakukan pada substrat yang masing-masing mengandung 1% Avicel dalam buffer asetat 50 mM, pH 5,5 (Nitisinprasert *et al.*, 1991 ;Subba Rao, 1993; Ahmed *et al.*, 2009). Masing-masing larutan substrat dalam buffer asetat diambil 8 ml, ditambahkan 1 ml sumber enzim dan 1 ml aquades. Campuran larutan diinkubasi dalam inkubator bergoyang, kemudian diukur aktivitas enzimnya setelah 30 menit, 1 jam dan 24 jam inkubasi. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi enzim tersebut (Efiok,1996). Produk yang diukur adalah gula reduksi (glukosa untuk sumber selulosa dan silosa untuk sumber xylanosa) serta vanilin untuk sumber lignin. Pengukuran produk yang dihasilkan dilakukan dengan cara sebagai berikut: untuk vanilin, pengukuran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ditambahkan pada 4 ml metanol, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum (λ maks) standar yang dipakai λ maks. Glukosa 508,5 nm.

Aktivitas Enzim Xylanase

Larutan substrat yang masing-masing mengandung 1% substrat spesifik (xylan) dalam buffer asetat 50 mM, pH 5,5 masing-masing diambil 8 ml, ditambahkan 1 ml sumber enzim dan 1 ml aquades. Campuran larutan diinkubasi dalam inkubator bergoyang, kemudian diukur aktivitas enzimnya setelah 30 menit, 1 jam dan 24 jam inkubasi. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan cara menghitung banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi enzim tersebut (Efiok, 1996). Produk yang diukur adalah gula reduksi (silosa untuk sumber hemiselulosa/xylanosa). kemudian masing-masing diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum (λ maks) standar yang dipakai λ maks. Glukosa 508,5 nm.

Aktivitas Enzim Amilase

Penentuan aktivitas amilase dilakukan secara kuantitatif dengan metode DNS. Ekstrak kasar amilase sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml media pati terlarut (telah dilarutkan dalam bufer fosfat). Mulut tabung ditutup dengan aluminium foil.

Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Tambahkan DNS sebanyak 1 ml dan kocok menggunakan vortex. Kemudian tabung reaksi dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit hingga larutan berwarna merah kecoklatan. KNa-Tartrat 40% sebanyak 1 ml dan aquades ditambahkan ke dalam tabung reaksi hingga volumenya menjadi 10 ml kemudian dihomogenkan diukur aktivitas enzimnya setelah 30 menit, 1 jam dan 24 jam inkubasi. Larutan sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 508,5 nm (Apriani, 2014).

Analisis statistik

Data yang dihasilkan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan apabila terdapat nilai berbeda nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur/*Honestly Significant Different* (Sastrosupadi, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas enzim selulase (endo-glukanase dan ekso-glukanase), xylanase dan amilase dari isolate-isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali menunjukkan bahwa kelima kandidat isolat yang digunakan dalam penelitian ini mampu menghasilkan aktivitas enzim yang beragam. Hal ini menunjukkan bahwa kelima kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali mampu mendegradasi selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa karena uji aktivitas enzim ini dilakukan untuk mengetahui banyaknya selulosa yang bisa dihidrolisis secara enzimatis menjadi glukosa. Semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan maka semakin banyak selulosa yang mampu dihidrolisis menjadi glukosa Maranatha (2008) menyatakan bahwa setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan.

Aktivitas Enzim Endo-glukanase

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali pada substrat CMC mempunyai aktivitas enzim endo-glukanase yang berbeda-beda. Perbedaan aktivitas enzim yang dimiliki oleh tiap kandidat isolat asal usus besar babi bali pada keadaan lingkungan yang sama diduga dipengaruhi oleh faktor genetik. Sumardi *et al*, (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim. Gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda dan dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu

Sumardi *et al.*, (2010). Evaluasi kualitas bakteri probiotik selulolitik terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan menunjukkan bahwa bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali mempunyai aktivitas enzim endo-glukanase sebesar 0,0405-0,0426 U/ml, 0,0204-0,0217 U/ml dan 0,0005-0,0011 U/ml masing-masing untuk inkubasi dengan substrat CMC selama 30 menit, 1 jam, dan 24 jam.

Tabel 1. Aktivitas Enzim Endo-Glukanase Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali

Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim Endo – Glukanase (U/ml) dari Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali					SEM ³
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
30 menit	0,0420a ²	0,0405b	0,0405b	0,0408b	0,0426a	0,000222
1 jam	0,0217a	0,0204b	0,0205b	0,0204b	0,0215a	0,000133
24 jam	0,0005b	0,0009a	0,0009a	0,0009a	0,0011a	0,000052

Keterangan: ¹Kode kandidat isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali, ²Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$), ³SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Pada inkubasi 30 menit, isolat bakteri dengan kode C12 mempunyai aktivitas enzim endo-glukanase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolat bakteri dengan kode A11, B2, C11, namun berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan A5. Pada inkubasi 1 jam, isolat bakteri dengan kode A5 mempunyai aktivitas enzim endo-glukanase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan A11, B2, C11, namun berbeda tidak nyata dengan C12, sedangkan pada inkubasi 24 jam, isolat bakteri C12 kembali menghasilkan aktivitas enzim endo-glukanase tertinggi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan A5, namun berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan isolat bakteri lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa isolat A5 dan C12 memiliki genetik yang lebih baik dalam memproduksi enzim endo-glukanase sehingga mampu mendegradasi selulosa yang bersifat *amorphous* menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hal ini berarti kedua isolat tersebut mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai *starter* pendegradasi senyawa bahan pakan yang mengandung selulosa. Penelitian yang dilakukan oleh Mudita *et al.* (2019) menunjukkan bakteri selulolitik asal rumen sapi bali mempunyai aktivitas enzim *endoglukanase* sebesar 3,652 – 3,842 U, sedangkan bakteri selulolitik asal rayap sebesar 4,893 – 5,113 U (mmol/mg protein enzim/menit).

Aktivitas Enzim Ekso-glukanase

Avicel merupakan selulosa mikrokristalin yang tidak larut dan digunakan untuk menguji aktivitas ekso-glukanase sehingga biasa disebut dengan avicelase. Ekso-glukanase membagi

ikatan alternasi dari gugus akhir non-pereduksi dari rantai selulosa menghasilkan selobiosa dan memungkinkan untuk menghidrolisis selulosa kristalin seperti avicel atau serat kapas (Agustina, 2011).

Pada aktivitas enzim ekso-glukanase yang dihasilkan isolat bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali adalah sebesar 0,0405-0,0426 U/ml, 0,0294-0,0335 U/ml dan 0,0014-0,0016 U/ml masing-masing untuk periode waktu inkubasi 30 menit, 1 jam, dan 24 jam dengan substrat avicel.

Tabel 2. Aktivitas Enzim Ekso-glukanase Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali

Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim Ekso – Glukanase (U/ml) dari Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali					SEM ³
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
30 menit	0,05984b ²	0,05742c	0,06586a	0,05745c	0,06598a	0,0008873
1 jam	0,03005c	0,03054b	0,03339a	0,02945d	0,03352a	0,0003954
24 jam	0,00145c	0,00164a	0,00148b	0,00149b	0,00148b	0,0000173

Keterangan: ¹Kode kandidat isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali, ²Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P>0,05$), ³SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Pada inkubasi 30 menit, isolat bakteri dengan kode C12 mempunyai aktivitas enzim ekso-glukanase tertinggi dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan isolat bakteri dengan kode A5, A11, C11, namun berbeda tidak nyata ($P>0,05$) dengan B2. Pada inkubasi 1 jam, isolat bakteri dengan kode C12 mempunyai aktivitas enzim ekso-glukanase tertinggi dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan A5, A11, C11, namun berbeda tidak nyata dengan B2, sedangkan pada inkubasi 24 jam, isolat bakteri A11 menghasilkan aktivitas enzim ekso-glukanase tertinggi yang berbeda nyata ($P<0,05$) dengan isolat bakteri lainnya. Hal ini menunjukkan isolat bakteri A11 dan C12 mempunyai gen-gen penghasil enzim ekso-glukanase yang lebih baik sehingga menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Isolat C12 juga mempunyai aktivitas enzim yang tinggi pada substrat CMC, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri C12 mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam mendegradasi selulosa yang bersifat kristalin dan *amorphous* menjadi senyawa yang lebih sederhana dibandingkan isolat bakteri lainnya, sehingga isolat bakteri kode C12 mampu mendegradasi selulosa secara utuh. Hal ini berarti isolat bakteri tersebut mempunyai potensi yang tinggi untuk dimanfaatkan sebagai *starter* pendegradasi bahan pakan yang mengandung selulosa. Penelitian yang dilakukan oleh Gupta et al. (2012), tentang

isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik pendegradasi selulosa untuk uji aktivitas enzim eksoglukanase didapatkan aktivitas antara 0.012 IU/ml sampai 0.196 IU/ml.

Aktivitas Enzim Xylanase

Xylanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa, dalam hal ini xilan atau polimer dari xilosa dan xilooligosakarida sehingga aktivitas enzim pada substrat xylan merupakan aktivitas enzim xylanase.

Tabel 3. Aktivitas Enzim Xylanase Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali

Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim Xylanase (U/ml) dari Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali					SEM ³
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
30 menit	16,662b ²	14,566c	17,353a	17,283a	17,225a	0,2423
1 jam	8,5947c	8,7984a	8,7280b	8,7145b	8,7741ab	0,0174
24 jam	0,3785b	0,3785b	0,3686c	0,3838a	0,3687c	0,0014

Keterangan: ¹Kode kandidat isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali, ²Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$), ³SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas enzim xylanase yang dihasilkan kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik asal usus besar babi bali adalah sebesar 14,566-17,353 U/ml, 8,7741-8,7984 U/ml dan 0,3686-0,3838 U/ml masing-masing untuk inkubasi dengan substrat xylan pada periode waktu 30 menit, 1 jam, dan 24 jam. Pada inkubasi 30 menit, isolat bakteri dengan kode B2 mempunyai aktivitas enzim xylanase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolat bakteri dengan kode A5, A11, namun berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan C11, C12. Pada inkubasi 1 jam, isolat bakteri dengan kode A11 mempunyai aktivitas enzim xylanase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan A5, B2, C11, namun berbeda tidak nyata dengan C12, sedangkan pada inkubasi 24 jam, isolat bakteri C11 menghasilkan aktivitas xylanase tertinggi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolat bakteri lainnya. Hal ini menunjukkan isolat bakteri A11, B2 dan C11 mempunyai gen- gen penghasil enzim xylanase yang lebih baik di tiap- tiap waktu inkubasi sehingga menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Hal ini menunjukkan isolat bakteri A11, B2 dan C11 mempunyai potensi sebagai agen pendegradasi xylan yang merupakan komponen utama hemiselulosa serta merombak xilan menjadi gula yang lebih sederhana sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan. Kamsani *et al.* (2015) melaporkan bahwa beberapa bakteri yang diisolasi dari saluran cerna rayap *Bulbitermes*

sp. yaitu *Bacillus sp. B1*, *Bacillus sp. B2*, dan *Brevibacillus sp. Br3* masing-masing menghasilkan aktivitas enzim xylanase (72,33; 66,33; 104,96 U/g).

Aktivitas Enzim Amilase

Amilase merupakan enzim yang sangat penting dalam industri pati untuk menghidrolisis polisakarida menjadi gula sederhana (Gupta *et al.*, 2003). Aktivitas amilase diukur menggunakan pati sebagai substrat. Pati merupakan sumber karbon yang baik untuk menginduksi produksi enzim amilase. Aktivitas amilase diukur berdasarkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan oleh amilase dalam menghidrolisis pati. Aktivitas enzim amilase yang diinkubasi pada substrat amilum dihasilkan aktivitas enzim sebesar 0,0479-0,0509 U/ml pada waktu inkubasi 30 menit, 0,0243-0,0306 U/ml pada waktu inkubasi 1 jam dan 0,0013-0,0015 U/ml pada waktu inkubasi 24 jam.

Tabel 4. Aktivitas Enzim Amilase Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali

Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim Amilase (U/ml) dari Kandidat Isolat Bakteri Probiotik Selulolitik asal Usus Besar Babi Bali					SEM ³
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
30 menit	0,05058b ²	0,04797c	0,04824c	0,05098a	0,05056b	0,0002963
1 jam	0,02858c	0,02847c	0,02435d	0,02964b	0,03065a	0,0004922
24 jam	0,00149c	0,00142d	0,00156a	0,00136e	0,00154b	0,0000173

Keterangan: ¹Kode kandidat isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari usus besar babi bali, ²Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$), ³SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Pada penelitian ini pada inkubasi 30 menit kandidat isolat bakteri dengan kode C11 mempunyai aktivitas enzim amilase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolat bakteri lainnya. Pada inkubasi 1 jam, isolat bakteri dengan kode C12 mempunyai aktivitas enzim amilase tertinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolate bakteri lainnya, sedangkan pada inkubasi 24 jam, isolat bakteri B2 menghasilkan aktivitas enzim amilase tertinggi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan isolat bakteri lainnya. Hal ini menunjukkan isolat bakteri B2, C11 dan C12 mempunyai genetik penghasil enzim amilase yang lebih baik di tiap-tiap waktu inkubasi sehingga menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya.

Menurut Haq *et al.*, (2010), penurunan aktivitas amilase disebabkan adanya penumpukan sisa metabolisme bakteri dan juga terjadinya penurunan nutrisi pada media. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Tu *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa penggunaan *Bacillus megaterium* T04

dapat menghasilkan aktivitas enzim amilase sebesar 174,7 U/ml menggunakan media tepung gandum dengan masa inkubasi selama 72 jam.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan data hasil penelitian ini, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa kelima kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik menghasilkan aktivitas enzim beragam. Isolat bakteri dengan kode C11 dan C12 masing-masing merupakan isolat bakteri dengan aktivitas enzim *endo-glukanase*, *ekso-glukanase*, *xylanase* dan *amilase* yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya.

Saran

Disarankan untuk memanfaatkan isolat bakteri C11 dan/atau C12 yang mempunyai aktivitas enzim yang tinggi sebagai starter fermentasi pakan kaya selulosa. Disamping itu disarankan untuk melakukan uji lanjutan memanfaatkan bahan pakan sumber serat alami secara *in vitro* maupun *in vivo* agar lebih mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi serat dan/atau potensinya sebagai starter dalam pengolahan bahan pakan kaya serat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Perkenankan penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada Rektor Universitas Udayana Prof. Dr. Ir. I Nyoman Gde Antara, M.Eng., IPU., Dekan Fakultas Peternakan Dr. Ir. I Nyoman Tirta Ariana, MS., IPU., ASEAN Eng., Koordinator Program Studi Sarjana Peternakan Dr. Ir. Ni Luh Putu Sriyani, S.Pt., MP., IPM., ASEAN Eng. atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, Ika. 2011. Studi Awal Produksi Enzim Selulase oleh *Trichoderma* sp. Strain T004 dan T051 Menggunakan Substrat Pelepah Sawit. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Depok.

- Ahmed, S., A. Bashir, H. Saleem, M. Saadia and A. Jamil. 2009. Production and Purification of Cellulosedegrading Enzymes from a Filamentous Fungus *Trichoderma harzianum*. *Pakistan Journal of Botany*, 41 (3); 1411 – 1419
- Anand, Vennison, Sankar, Prabhu, Vasana, Raghuraman, Geoffrey, dan Vendan. 2009. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut Of *Bombyx Mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J of Insect Science*. 10(107): 1-20.
- Asmare, B. 2014. Effect of common feed enzymes on nutrient utilization of monogastric animals. *Int. J. Biotechnol. Mol. Biol. Res.* 5(4): 27-34.
- Bhat, M.K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 18(5): 355–383.
- Efiok, B. J. S. 1996. Basic Calculation for Chemical and Biological Analysis. AOAC International, Maryland, USA
- Gupta, P., Samant, K., and Sahu, A. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*, 10:1–5.
- Gupta, R., P. Gigras, H. Mohapatra, V.K. Goswami, and B. Chauhan. 2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem.* 38:1599-1616. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0)
- Haq, H., M.A. Ashraf, and J. Qadeer. 2010. Pearl millet, a source of α -amylase production by *Bacillus licheniformis*. *Bioresour. Technol.*, 96:1201-1204. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.012>.
- Maranatha, B. 2008. Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian. Skripsi. FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Meryandini, A., W. Wahyu, M. Besty, C. S. Titi, R. Nisa, dan S. Hasrul .2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara, Sains*, Vol. 13, No. 1, 33-38.
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra, I N. S. Utama, I G. Mahardika. 2019^a. Formulasi Biokatalis Bakteri Lignoselulolitik Sebagai Pengolah Limbah Pada Usaha Peternakan Sapi Bali. Penelitian Inovasi Udayana. Fakultas Peternakan. Universitas Udayana, Denpasar
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra, I G. Mahardika, I N. S. Utama. 2019^b. Bakteri Lignoselulolitik. Biokatalis Pakan Limbah Pertanian. Berbasis Eksperimental. Cetakan Pertama. Penerbit Swasta Nulus, Denpasar. ISBN 978-623-7559-23-8.
- Mudita, I M., I W. Sukanata, I. B. G. Partama, I N. S. Utama. 2020^a. Produksi Probiotik Bakteri Lignoselulolitik “Probio Balitani” Sebagai Pengganti AGP Usaha Peternakan Broiler. Penelitian Calon perusahaan Pemula Udayana. Fakultas peternakan Universitas Udayana, Denpasar
- Mudita, I M., I W. Sukanata, I. B. G. Partama, I N. S. Utama. 2020^b. Probiotik Bakteri Lignoselulolitik “Probio-BaliTani” Pengganti AGPs Peternakan Broiler. Penerbit Swasta Nulus, Denpasar Bali, ISBN: 978-623-7559-95-5

- Munifah I, Chasanah E, Fawzya YN. 2011. Screening of cellulolytic bacteria from Indonesia's marine environment. Di dalam: Prosiding Seminar ISISM (International Seminar of Indonesian Society for Microbiology); Bogor, 26 Juni 2011. Bogor: Perhimpunan Mikrobiologi Cabang Bogor.
- Nitisingpraset S, TemmesA. 1991. The characteristics of a new non – spore - forming cellulolytic mesophilic anaerobe strain CMC126 isolated from municipal sewage sludge. *The Journal of Applied Bacteriology*. 71 (2):154- 61.
- Sastrosupadi, Adji. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saratale, G.D., Saratale, R.G., Oh, S.E. 2012. Production and Characterization Of Multiple Cellulolytic Enzymes By Isolated *Streptomyces* sp. MDS. *Biomass and Bioenergy*.47: 302-315.
- Subha Rao, N. S. 1993. *Biofertilizer in Agriculture and Forestry*. 3rd ed. International Science Publisher, New York.
- Sumardi, Christina Nugroho Ekowati dan Dwi Haryani. 2010. Isolasi bacilluspenghasil selulase dari saluran pencernaan ayam kampung. *Jurusan Biologi FMIPA Unila. J. Sains MIPA*, Vol. 16, No. 1, Hal.: 62-68.
- Tu, N., Doan, V., & Le, T. 2015. Amylase Producing *Bacillus megaterium* T04 Isolated in Rach Lang Stream of Vietnam. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*,5(10), 012-015. doi: 10.7324/JAPS.2015.501003.
- Varel, V.H., S.J. Fryda and I M Robinson 1984. Cellulolytic Bacteria from Pig Large Intestine. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 47 No.1