



Submitted Date: March 16, 2021

Accepted Date: March 30, 2021

Editor-Reviewer Article : Dsk, Pt. Mas Ari Candrawati & Eny Puspani

POPULASI BAKTERI DAN AKTIVITAS ENZIM DARI BIOKATALIS BAKTERI LIGNOSELULOLITIK

Prabowo, F. D., I G. L. O. Cakra, dan I M. Mudita

PS Sarjana Peternakan Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

Email: dwiprabowo@student.unud.ac.id, Telepon 08873623840

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas biokatalis yang diproduksi memanfaatkan bakteri lignoselulolitik secara tunggal serta untuk mengetahui biokatalis bakteri terbaik. Studi Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sesetan serta Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang dilakukan dari bulan Juni hingga September 2019. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 6 perlakuan yaitu biokatalis tanpa bakteri lignoselulolitik sebagai kontrol (B0), biokatalis menggunakan bakteri *Bacillus subtilis BR₄LG* (B1), biokatalis menggunakan bakteri *Bacillus subtilis BR₂CL* (B2), biokatalis menggunakan bakteri *Aneurinibacillus sp. BT₄LS* (B3), biokatalis menggunakan bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* (B4), dan biokatalis menggunakan bakteri *Bacillus sp. BT₈XY* (B5). Masing – masing perlakuan memiliki 3 ulangan. Variabel yang diamati yaitu Populasi bakteri serta aktivitas enzim ligninase, endoglukanase, eksoglukanase dan xylanase masing-masing pada waktu inkubasi 30 menit, 1 jam, 3 jam dan 6 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan bakteri lignoselulolitik dapat meningkatkan kualitas biokatalis yang tercermin dari populasi bakteri dan aktivitas enzim ligninase, endoglukanase, eksoglukanase, dan xylanase. Biokatalis bakteri terbaik dalam penelitian ini adalah *Bacillus subtilis BR₂CL* (B2) karena mampu meningkatkan kualitas dari biokatalis khususnya populasi bakteri, aktivitas enzim eksoglukanase pada periode inkubasi 30 menit, 1 jam, 3 jam, dan 6 jam, serta aktivitas xylanase pada periode inkubasi 6 jam.

Kata Kunci : biokatalis bakteri lignoselulolitik, populasi bakteri, dan ektivitas enzim

BACTERIAL POPULATION AND ENZYMIC ACTIVITY OF LIGNOCELLULOLITIC BACTERIA BIOCATALIS

ABSTRACT

This study aims to determine the quality of biocatalysts produced using lignocellulolytic bacteria singly and to determine the best bacterial biocatalysts. This research study was conducted at the Sesetan Laboratory and Animal Nutrition and Forage Laboratory

of the Faculty of Animal Husbandry, Udayana University which was conducted from June to September 2019. The design used was a completely randomized design (CRD) consisting of 6 treatments, namely biocatalysts without lignocellulolytic bacteria as control (B0). , biocatalysts use *Bacillus substilis* BR4LG (B1), biocatalysts use *Bacillus substilis* BR2CL (B2), biocatalysts use *Aneurinibacillus* sp. BT4LS (B3), a biocatalyst using *Bacillus* sp. BT3CL (B4), and biocatalysts using *Bacillus* sp. BT8XY (B5). Each treatment has 3 replications. The variables observed were the bacterial population and the activity of the enzymes ligninase, endoglucanase, exogilanase and xylanase, respectively at the incubation time of 30 minutes, 1 hour, 3 hours and 6 hours. The results showed that the use of lignocellulolytic bacteria could improve the quality of biocatalysts, which was reflected in the bacterial population and the activity of the enzymes ligninase, endoglucanase, exogilanase, and xylanase. The best bacterial biocatalyst in this study was *Bacillus substilis* BR2CL (B2) because it was able to improve the quality of the biocatalyst, especially the bacterial population, the activity of the exogucanase enzyme in the incubation period of 30 minutes, 1 hour, 3 hours, and 6 hours, and xylanase activity in the 6 hour incubation period.

Keywords : *lignocellulolytic bacterial biocatalyst, bacterial population, and enzyme activity*

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha peternakan ditujukan untuk penyediaan pangan khususnya pangan hewani bagi masyarakat serta sebagai mata pencaharian sebagai sumber penghasilan bagi masyarakat. Sementara itu pengembangan usaha peternakan sering menghadapi berbagai permasalahan terutama kesediaan pakan sepanjang tahun. Pada saat musim kemarau peternak kesulitan untuk mencari pakan ternak, penyediaan pakan yang berkualitas dalam jumlah yang cukup menjadi salah satu kendala dalam pengembangan usaha peternakan. Hal ini disebabkan oleh semakin sempitnya lahan untuk penanaman hijauan pakan dan mahalannya harga bahan pakan (konvensional) dalam negeri yang umumnya dipakai peternak. Menurut Lahay dan Rinduwati (2007), sumber pakan sebaiknya memenuhi kriteria yaitu murah, berkesinambungan, mempunyai nilai gizi yang tinggi dan tidak bersaing dengan kebutuhan manusia

Pemanfaatan sumber daya lokal asal limbah agroindustri maupun limbah pertanian sebagai bahan pakan kurang optimal mengingat adanya senyawa anti nutrisi yang dapat menurunkan kualitas pakan yang dihasilkan. Disamping itu bahan pakan asal limbah mempunyai kualitas baik fisik, kimia maupun biologis yang rendah sebagai akibat tingginya kandungan serat kasar serta rendahnya kandungan nutrisi mudah terfermentasi/*ready*

fermentable dan mineral-vitamin seperti Ca, P, Mg, Cu, Zn, Co, Mn, Fe, S serta vitamin A maupun E (Kaunang, 2004; Mudita, 2008). Aplikasi teknologi fermentasi terbukti mampu menurunkan kandungan serat kasar (8,36-14,41%) serta meningkatkan kualitas fisik, kimia maupun biologis dari bahan pakan berbasis sumber daya lokal asal limbah (Mudita dan Wibawa, 2008). Untuk mengatasi permasalahan tingginya kandungan serat kasar khususnya senyawa lignoselulosa serta rendahnya pencernaan pakan dari sumber daya lokal asal limbah, pemanfaatan bakteri lignoselulolitik sebagai biokatalis dalam proses fermentasi sumber daya lokal asal limbah sangat diperlukan.

Bakteri lignoselulolitik merupakan bakteri pendegradasi lignoselulosa yang terdiri atas bakteri pendegradasi lignin, selulosa dan/atau hemiselulosa. Bakteri ini menghasilkan kompleks enzim *lignoselulase* yang terdiri atas *lignase* (terutama *lignin-peroksidase/Li-P*, *mangan-peroksidase/Mn-P* dan *lacase/Lac*), *selulase* (*endo- β -glukanase*, *eksoglukanase*, dan *β -glukosidase*), dan *hemiselulase* (*xilanase* dan *mannanase*) (Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003). Mudita (2019) telah berhasil mengisolasi dan menyeleksi bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali dan rayap yang mempunyai kemampuan merombak senyawa lignoselulosa serta menghasilkan aktivitas enzim lignoselulase tinggi, yaitu *Bacillus substilis BR4LG*, *Bacillus substilis BR2CL*, *Aneurinibacillus sp. BT4LS*, *Bacillus sp. BT3CL*, dan *Bacillus sp. BT8XY*.

Pemanfaatan bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali dan rayap sebagai biokatalisator pengolah limbah diyakini mempunyai potensi yang cukup tinggi. Studi pemanfaatan cairan rumen sapi dalam produksi inokulan (biokatalis cair) menunjukkan penggunaan 5-20% cairan rumen sapi bali (*As feed*) menghasilkan bioinokulan dengan kandungan nutrisi dan populasi mikroba yang tinggi. Mudita *et al.* (2012) juga telah mengaplikasikan inokulan *Bali-bio* (inokulan yang diproduksi dari cairan rumen sapi bali) maupun *Bio BaliTani* (inokulan yang diproduksi dari cairan rumen sapi bali dan rayap) pada pengabdian masyarakat sebagai starter pengolah limbah baik untuk produksi silase pakan ternak maupun produksi pupuk organik pada kelompok ternak sapi bali di Desa Abiantuwung (2011) dan di Desa Banjarangkan (2012) yang telah menunjukkan hasil yang cukup positif. Inokulan yang diaplikasikan mampu berperan baik sebagai starter fermentasi limbah peternakan tersebut yang ditunjukkan dengan dihasilkannya pakan dan pupuk organik yang cukup berkualitas (Mudita *et al.*, 2013; Mudita *et al.*, 2014). Hasil penelitian Mudita (2019)

juga menunjukkan bahwa pemanfaatan konsorsium bakteri lignoselulolitik terutama gabungan dari bakteri *Bacillus substilis BR4LG*, *Bacillus substilis BR2CL*, *Aneurinibacillus sp. BT4LS*, *Bacillus sp. BT3CL*, dan/atau *Bacillus sp. BT3XY* terutama pada formula BR23T14; BR24T13 dan BR34T1w2 mampu menghasilkan biokatalis berkualitas dengan efektivitas sebagai starter limbah pertanian terbaik. Pemanfaatannya dalam produksi silase ransum limbah pertanian juga mampu meningkatkan produktivitas sapi bali.

Berdasarkan informasi tersebut, pemanfaatan konsorsium (gabungan) beberapa bakteri lignoselulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali maupun rayap telah terbukti mampu menghasilkan biokatalis berkualitas yang mampu meningkatkan kualitas baik kandungan nutrisi maupun pencernaan pakan berbasis limbah pertanian (Mudita, 2019). Howard *et al.* (2003) mengungkapkan setiap spesies bakteri mempunyai karakteristik dan aktivitas enzim yang berbeda beda. Perpaduan 2 atau lebih mikroba termasuk bakteri yang tidak sinergis malah akan menurunkan tingkat perombakan senyawa kompleks khususnya lignoselulosa (Pathma dan Sakthivel, 2012; Mudita 2019). Mengingat informasi mengenai sifat fisik, pencernaan, dan produk metabolit biosuplemen berbasis limbah pertanian yang dihasilkan dari pemanfaatan biokatalis isolat bakteri lignoselulolitik secara tunggal/terpisah belum ada, maka kegiatan penelitian ini penting untuk dilaksanakan.

MATERI DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Farm Sesetan dan Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana dan dilaksanakan dari bulan Juni-September 2019.

Rancangan percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Enam perlakuan Biosuplemen yaitu:

B0 : Biokatalis tanpa menggunakan biokatalis bakteri lignoselulolitik

B1 : Biokatalis dari bakteri *Bacillus substilis strain BR4LG*

B2 : Biokatalis dari bakteri bakteri *Bacillus substilis strain BR2CL*

B3 : Biokatalis dari bakteri *Aneurinibacillus sp. strain BT4LS*

B4 : Biokatalis dari bakteri *Bacillus sp. strain BT3CL*

B5 : Biokatalis dari bakteri *Bacillus sp. strain BT8XY*

Isolat bakteri lignoselulolitik dan penumbuhannya

Penelitian dilaksanakan dengan memanfaatkan kultur isolat bakteri lignoselulolitik unggul cairan rumen sapi bali dan rayap hasil penelitian Mudita (2019), yaitu: *Bacillus subtilis strain BR4LG*, *Bacillus subtilis strain BR2CL*, *Aneurinibacillus sp strain BT4LS*, *Bacillus sp strain BT3CL* dan *Bacillus sp strain BT8XY* yang terlebih dahulu ditumbuhkan dalam medium *Nutrien Broth* pada Abs. 0,5 λ 650 nm yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Kultur bakteri lignoselulolitik cair yang dihasilkan selanjutnya akan dimanfaatkan untuk produksi biokatalis.

Biokatalis bakteri lignoselulolitik dan teknik produksinya

Biokatalis bakteri lignoselulolitik diproduksi dengan cara menumbuhkan kembali kultur bakteri medium cair pada medium pembawa biokatalis (kultur bakteri padat) yang diproduksi menggunakan bahan-bahan yaitu molases, multivitamin mineral “pignox”, pupuk urea, pupuk ZA, asam tanat, CMC, dan xylan, dengan komposisi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan penyusun kultur bakteri padat

No	Bahan Penyusun Kultur Bakteri Padat	Persentase (%)
1	Konsorsium Kultur bakteri cair (sesuai perlakuan) (ml)	40
2	Empok Jagung (gram)	25
3	Tepung Maisena	20
4	Molases (gram)	5
5	Urea	3
6	ZA	3
7	Nutrient Broth	0,05
8	Pignox	2
9	Garam Dapur	1,9
10	CMC	0,05
TOTAL		100

Penumbuhan kultur bakteri pada medium pembawa biokatalis dilakukan dengan cara mencampur secara homogen medium pembawa biokatalis dengan bakteri lignoselulolitik dalam suasana anaerob (disempatkan gas CO₂). Setelah campuran bakalan biokatalis homogen, dimasukkan kedalam wadah (ember berpenutup) yang terlebih dahulu diisi plastik, kemudian ditutup rapat dalam kondisi semampit mungkin (untuk mengurangi keberadaan oksigen dalam bakalan biokatalis). Selanjutnya bakalan biokatalis difermentasi/inkubasi selama 1 minggu pada suhu ruang (T 35 – 37°C). Setelah 1 minggu fermentasi, selanjutnya bakalan biokatalis dikeringkan dengan metode pengeringan bertingkat selama 5 hari, yang diawali dengan pengeringan pada suhu 40°C (selama 2 hari), dilanjutkan dengan pengovenan pada suhu 45°C (selama 2 hari), dan pada suhu 50°C (1 hari). Setelah proses pengovenan bertingkat, selanjutnya bakalan biokatalis memasuki proses produksi menjadi tablet biokatalis.

Produksi biokatalis dilakukan dengan mencampur secara homogen bakalan biokatalis dengan bahan pengisi mengikuti metode Ansar *et al.* (2009) yang dimodifikasi menggunakan bahan-bahan yang terdiri dari amilum (tepung maisena), Kalsium Karbonat/CaCO₃, asam sitrat, NaCl, CMC asam Tanat dengan komposisi bahan disajikan pada Tabel 2. Setelah campuran biokatalis homogen, biokatalis siap dievaluasi kualitasnya.

Tabel 2. Formula biokatalis bakteri lignoselulolitik

No	Bahan Penyusun	Komposisi (%)
1	Bakalan biokatalis (kultur konsorsium bakteri padat)	50
2	Amilum (Tepung Maisena)	38
3	CaCO ₃	10
4	Asam Sitrat	1
5	NaCl	0,5
6	CMC	0,25
7	Asam Tanat	0,25
TOTAL		100

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini, yaitu populasi total bakteri, dan aktivitas enzim *ligninase*, *endglukasenase*, *eksoglukanase*, dan *xylanase* yang dievaluasi pada periode inkubasi 30 menit, 1 jam, 3 jam dan 6 jam.

Analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini, dianalisis menggunakan sidik ragam, apabila nilai rata-rata perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada peubah yang diamati, analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ)/*Honestly Significant Difference*/HSD (Sastrosupadi, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Bakteri

Populasi bakteri pada perlakuan biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL(B2) mendapatkan hasil tertinggi sebesar $7,33 \times 10^8$ CFU yang secara nyata lebih tinggi dari perlakuan B0 sebesar $1,67 \times 10^8$ CFU ($P < 0,05$) dan secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan B1, B3, B4, dan B5 masing-masing sebesar $5,77 \times 10^8$ CFU, $6,13 \times 10^8$ CFU, $6,30 \times 10^8$ CFU, dan $6,57 \times 10^8$ CFU ($P > 0,05$). Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus substilis* asal cairan rumen sapi bali memiliki karakteristik sebagai pendegradasi selulosa (kristalin) dan xylan yang tinggi, dibuktikan dengan menghasilkan aktivitas enzim *eksoglukanase* dan *xylanase* tertinggi pada periode inkubasi 6 jam, sebesar 2,17 U dan 28,28 U (Tabel 3). Selain itu, pakan sapi bali mengandung selulosa dan hemiselulosa yang tinggi, sehingga bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL yang merupakan bakteri selulolitik unggul asal cairan rumen sapi bali mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa dan xylan lebih tinggi sehingga mampu tumbuh dan berkembang dengan baik serta menghasilkan populasi yang tertinggi. Mudita (2019) menambahkan bahwa bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL bersifat *multiple function* yaitu selain mempunyai kemampuan sebagai pendegradasi selulosa juga mempunyai kemampuan sebagai pendegradasi hemiselulosa bahkan disinyalir juga sebagai pendegradasi lignin.

Peningkatan populasi bakteri juga disebabkan karena adanya kandungan nutrisi pada medium biokatalis yang mendukung pertumbuhan bakteri. Dewi *et al.* (2015) menyatakan

tingginya populasi bakteri yang dihasilkan pada inokulan disebabkan karena pasokan nutrisi yang berasal dari medium inokulan yang cukup tinggi sehingga isolat-isolat bakteri yang ada dapat tumbuh dan berkembang dengan baik yang mengakibatkan populasi bakteri menjadi tinggi. Dewi *et al.* (2013) menambahkan tersedianya nutrisi yang cukup akan mendukung proses pertumbuhan dan aktifitas mikroba sehingga populasi mikroba akan meningkat.

Tabel 3. Populasi bakteri dan aktivitas enzim dari biokatalis bakteri lignoselulolitik

Variabel	Perlakuan ¹⁾						SEM ²⁾
	B0	B1	B2	B3	B4	B5	
Populasi Bakteri (x10 ⁸ cfu)	1,67 ^a	5,77 ^b	7,33 ^b	6,30 ^b	6,57 ^b	6,13 ^{b3)}	0,47
Ak. Enzim Ligninase							
30 menit	0,207 ^a	0,788 ^b	0,771 ^b	0,777 ^b	0,779 ^b	0,768 ^b	0,015
1 jam	0,143 ^a	0,526 ^b	0,514 ^b	0,525 ^b	0,522 ^b	0,505 ^b	0,009
3 jam	0,063 ^a	0,227 ^c	0,224 ^b	0,226 ^c	0,225 ^c	0,213 ^b	0,003
6 jam	0,044 ^a	0,128 ^{bc}	0,125 ^{bc}	0,126 ^{bc}	0,131 ^c	0,122 ^b	0,002
Ak. Enzim Endoglukanase							
30 menit	6,44 ^a	14,75 ^b	17,11 ^c	17,22 ^c	17,85 ^c	14,39 ^b	0,27
1 jam	5,44 ^a	8,34 ^b	9,70 ^c	9,74 ^c	9,83 ^c	8,14 ^b	0,18
3 jam	2,52 ^a	3,79 ^c	4,16 ^b	4,17 ^c	4,35 ^c	3,69 ^b	0,07
6 jam	1,66 ^a	2,18 ^{bc}	2,25 ^{bc}	2,26 ^{bc}	2,29 ^c	2,14 ^b	0,03
Ak. Enzim Eksoglukanase							
30 menit	6,76 ^a	14,46 ^b	16,62 ^c	14,80 ^b	15,78 ^c	14,64 ^b	0,20
1 jam	4,25 ^a	8,68 ^b	9,88 ^c	8,80 ^b	9,78 ^c	8,86 ^b	0,15
3 jam	1,71 ^a	3,55 ^b	3,84 ^b	3,70 ^b	3,79 ^b	3,60 ^b	0,07
6 jam	1,00 ^a	1,98 ^b	2,17 ^c	2,03 ^{bc}	2,13 ^{bc}	2,00 ^{bc}	0,04
Ak. Enzim Xylanase							
30 menit	42,49 ^a	228,94 ^b	240,62 ^b	241,72 ^b	237,67 ^b	243,38 ^b	4,58
1 jam	37,90 ^a	122,80 ^b	142,48 ^c	131,07 ^b	126,10 ^b	146,43 ^c	2,44
3 jam	16,80 ^a	46,02 ^b	51,57 ^d	50,56 ^{cd}	47,22 ^{bc}	52,52 ^d	0,90
6 jam	10,04 ^a	25,74 ^b	28,28 ^d	26,64 ^{bc}	25,86 ^b	28,16 ^{cd}	0,35

Keterangan:

- 1) Biokatalis tanpa kultur bakteri lignoselulolitik (B0), biokatalis dari bakteri *Bacillus substilis BR₄LG* (B1), biokatalis dari bakteri *Bacillus substilis BR₂CL* (B2), biokatalis dari bakteri *Aneurinibacillus sp. BT₄LS* (B3), biokatalis dari bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* (B4), dan biokatalis dari bakteri *Bacillus sp. BT₈XY* (B5)
- 2) *Standard Error Of The Treatment Means*
- 3) Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Aktivitas Enzim Ligninase

Aktivitas enzim *ligninase* pada perlakuan biokatalis bakteri *Bacillus substilis BR₄LG* (B1) menghasilkan rata-rata tertinggi 0,79 U; 0,526 U; dan 0,227 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya pada periode inkubasi 30 menit, 1 jam, dan 3 jam. Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus substilis BR₄LG* merupakan isolat unggul dengan kemampuan merombak senyawa lignin tinggi, sehingga mampu menghasilkan aktivitas enzim *ligninase* yang tinggi juga (Mudita, 2019). Hasil penelitian Mudita (2019) menunjukkan bakteri *Bacillus substilis BR₄LG* mempunyai aktivitas spesifik enzim *ligninase* tertinggi sebesar 3,044 U; 1,833 U; 0,736 U; dan 0,426 U pada periode inkubasi dalam substrat asam tanat masing-masing selama 30 menit, 1 jam, 3 jam, 6 jam, sehingga dikategorikan menjadi bakteri pendegradasi lignin. Pada penelitian ini tampak bahwa periode waktu inkubasi yang optimum adalah inkubasi selama 30 menit karena mampu menghasilkan aktivitas enzim *ligninase* tertinggi dibandingkan dengan periode waktu inkubasi lainnya. Kusumajaya *et al.* (2016) menambahkan lignin merupakan senyawa kompleks yang sangat sulit terdegradasi sehingga enzim yang diproduksi dipaksa bekerja secara optimal diawal kontak yang akhirnya menyebabkan kemampuan aktivitas enzim akan semakin menurun seiring dengan waktu dari aktivitas enzim bersangkutan.

Perlakuan B4 yaitu biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* menghasilkan rata-rata aktivitas enzim *ligninase* tertinggi pada periode inkubasi 6 jam yaitu 0,131 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya. Hal ini diduga walaupun bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* merupakan bakteri selulolitik unggul asal rayap, tetapi disinyalir bakteri ini juga bersifat *multiple function* yang juga mampu menghasilkan aktivitas enzim *ligninase*. Berbagai referensi juga menunjukkan bahwa *Bacillus sp.* mempunyai kemampuan sebagai pendegradasi senyawa lignin. Lotfi, (2014); Chandra *et al.* (2015); Abdelaziz *et al.* (2016) mengungkapkan *Bacillus sp.* diketahui mampu menghasilkan enzim pendegradasi lignin seperti *MnP* dan *Lac* yang mampu mendegradasi rantai samping dari senyawa aromatik lignin serta merombak lignin melalui proses depolimerisasi. Sehingga penggunaan bakteri *Bacillus*

sp. BT₃CL juga mampu menghasilkan aktivitas enzim ligninase yang tinggi pada periode waktu inkubasi yang lebih panjang diduga aktivitas enzim ligninase dari bakteri tersebut akan optimal setelah enzim yang dihasilkan (baik selulase maupun ligninase) mampu memutus rantai selulosa dengan lignin. Setelah rantai lignoselulosa putus barulah masing-masing enzim akan bekerja dengan aktivitas enzim yang optimal.

Aktivitas Enzim Endoglukanase

Aktivitas enzim *endoglukanase* pada biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* (B4) menghasilkan rata-rata tertinggi 17,85 U; 9,83 U; 4,35 U; 2,29 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya pada periode inkubasi waktu 30 menit, 1 jam, 3 jam, dan 6 jam. Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* (B4) memang merupakan bakteri penghasil enzim endoglukanase yang tertinggi (Mudita, 2019) yang mampu mendegradasi senyawa selulosa secara acak baik selulosa yang bersifat amorfous maupun kristalin pada ujung pereduksi maupun non pereduksi. Meryandini *et al.* (2009) menambahkan substrat *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk amorphous sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo-1,4- β -glukanase. Mudita (2019) melaporkan bakteri *Bacillus sp. BT₃CL* menghasilkan aktivitas spesifik *endoglukanase* tertinggi sebesar 5,113 U; 3,857 U; 1,360 U; dan 0,715 U pada waktu inkubasi 30 menit, 1 jam, 3 jam, dan 6 jam.

Menurunnya kandungan aktivitas enzim *endoglukanase* seiring dengan meningkatnya periode waktu inkubasi. Hal ini disebabkan karena kerja enzim *endoglukanase* sudah memasuki periode waktu optimum (30 menit) serta jumlah substrat selulosa khususnya yang bersifat amorfous yang akan didegradasi oleh enzim endoglukanase juga semakin sedikit, sehingga produk yang dihasilkan tiap satuan waktu (menit) akan semakin rendah. Antari *et al.* (2016) menambahkan aktivitas enzim yang telah mencapai periode puncak, akan mengalami penurunan aktivitas sejalan dengan lama waktu inkubasi bakteri.

Aktivitas Enzim Eksoglukanase

Aktivitas enzim *eksoglukanase* pada biokatalis bakteri *Bacillus subtilis BR₂CL* (B2) menghasilkan rata-rata tertinggi 16,62 U; 9,88 U; 3,84 U; dan 2,17 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya pada periode inkubasi waktu 30 menit, 1 jam, 3 jam, dan 6

jam. Hal ini disebabkan bakteri *Bacillus substilis BR₂CL* (B2) mampu mendegradasi senyawa selulosa yang bersifat kristalin lebih tinggi, sehingga meningkatkan aktivitas enzim *eksoglukanase*. Meryandani *et al.* (2009) menambahkan substrat avicel merupakan substrat selulosa yang berbentuk kristalin sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat avicel merupakan aktivitas enzim *ekso-1,4- β -glukanase*. Mudita (2019) melaporkan bakteri *Bacillus substilis BR₂CL* menghasilkan aktivitas spesifik *eksoglukanase* tertinggi sebesar 4,005 U; 2,174 U; 0,793 U; dan 0,426 U pada inkubasi 30 menit, 1 jam, 3 jam, dan 6 jam.

Menurunnya kandungan aktivitas enzim *eksoglukanase* seiring dengan meningkatnya periode waktu inkubasi juga disebabkan karena kerja enzim *endoglukanase* sudah memasuki periode waktu optimum (30 menit) serta jumlah substrat selulosa khususnya yang bersifat kristalin yang akan didegradasi oleh enzim *eksoglukanase* juga semakin sedikit, sehingga produk yang dihasilkan tiap satuan waktu (menit) akan semakin rendah.. Susanti (2011) menambahkan bahwa apabila waktu reaksi enzimatik telah mencapai optimum dalam menghasilkan produk maka aktivitas enzim mengalami penurunan dengan penambahan waktu inkubasi lebih lanjut.

Aktivitas Enzim Xylanase

Aktivitas enzim *xylanase* pada biokatalis bakteri *Bacillus sp. BT₈XY* (B5) menghasilkan rata-rata tertinggi 243,38 U; 146,43 U; dan 52,52 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya pada periode inkubasi waktu 30 menit, 1 jam, dan 3 jam. Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus sp. BT₈XY* merupakan isolat unggul dengan kemampuan merombak senyawa xylan tinggi, sehingga mampu menghasilkan aktivitas enzim *xylanase* yang tinggi juga. Mudita (2019) menambahkan bakteri *Bacillus sp. BT₈XY* mempunyai aktivitas spesifik enzim *xylanase* tertinggi sebesar 749,306 U; 374,653 U; 172,919 U; dan 96,738 U setelah inkubasi dalam substrat xylan masing-masing selama 30 menit, 1 jam, 3 jam, 6 jam, sehingga dapat dikategorikan menjadi pendegradasi xylan. Periode waktu inkubasi yang optimum adalah inkubasi selama 30 menit karena mampu menghasilkan aktivitas enzim *xylanase* tertinggi dari periode waktu inkubasi lainnya. Kusumajaya *et al.* (2016) menambahkan rata-rata aktivitas enzim mulai menurun setelah waktu inkubasi optimum disebabkan karena kerja enzim yang mulai jenuh dan/atau ketidakseimbangan produksi tiap komponen kompleks enzim *xylanase* yang dihasilkan.

Perlakuan biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL (B2) mampu menghasilkan aktivitas enzim *xylanase* yang tertinggi sebesar 28,28 U yang secara kuantitatif lebih tinggi dari perlakuan lainnya pada periode inkubasi 6 jam. Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus substilis* asal cairan rumen sapi bali juga mampu menghasilkan aktivitas enzim *xylanase*. Berbagai referensi menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan *xylanase* berkualitas (Howard *et al.*, 2003; Sweeney dan Xu, 2012; Ali *et al.*, 2013). Kemampuan memproduksi multi enzim kompleks atau selulosom dari bakteri unggul tersebut turut meningkatkan aktivitas spesifik *xylanase* yang dihasilkan. Sarah *et al.* (2012) menunjukkan *Bacillus subtilis* SJ01 mampu menghasilkan multi enzim kompleks/MECs atau selulosom dengan kemampuan degradasi xylan tinggi (aktivitas *xylanase* 0,26 U/mg protein, aktivitas *endoglukanase* 0,01 U/mg). Ali *et al.* (2013) juga menunjukkan *Bacillus subtilis*276NS menghasilkan *selulase* dan *xylanase* dengan kemampuan degradasi tinggi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan bakteri lignoselulolitik dapat meningkatkan kualitas khususnya populasi bakteri dan aktivitas enzim dari biokatalis yang diproduksi. Penggunaan bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL (B2) mampu menghasilkan biokatalis dengan kualitas terbaik.

Saran

Penggunaan biokatalis bakteri *Bacillus substilis* BR₂CL (B2) dapat dijadikan stater fermentasi karena mampu menghasilkan kualitas biokatalis terbaik. Perlu evaluasi lebih lanjut terkait pemanfaatan biokatalis secara langsung dalam pengembangan usaha peternakan baik sebagai starter pengolah pakan, pengolah limbah peternakan maupun sebagai suplemen pakan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr.dr. A. A. Rakasudewi, Sp.S (K) selaku Rektor Universitas Udayana dan Dr. Ir. I Nyoman Tirta Ariana, M.S selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas

kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Sajana Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelaziz, O. Y., D. P. Brink, J. Prothmann, K. Ravi, M. Sun, J. G. Hidalgo, M. Sandahl, C. P. Hultberg, C. Turner, G. Liden, M. F. G. Grouslund. 2016. Biological Valorization of Low Molecular Weight Lignin. Research Review Paper. *Biotechnology Advances* 34; 1318-1346
- Ali, S. M., S. H. Omar, dan N. A. Soliman. 2013. Co-Production of Cellulase and Xylanase Enzymes By Thermophilic *Bacillus subtilis* 276NS. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 2; 65-74
- Allen, MS. 2002. *Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants*. *Journal of American Science* 74 (12): 3063-3075.
- Antari, N. L. D., I G. L. O. Cakra, I M. Mudita, dan I N. S. Utama. 2016. Aktivitas enzim isolate bakteri selulolitik yang diisolasi dari acing tanah (*Lumbricus rubellus*) pada berbagai substrat selulosa. *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 4 (1): 51-65.
- Chandra, R., S. Yadav, dan V. Kumar. 2015. Microbial Degradation of Lignocellulosic Waste and Its Metabolic Products. Chapter 10. *Environment Waste Management*. Simon Fraser University.
- Coughlan, M.P. and G.P. Hazlewood. 1993. β -1,4-D-Xylan-degrading enzyme systems: Biochemistry, molecular biology, and applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 17:259-289.
- Datta, R., A. Kelkar, D. Baraniya, A. Molaei, A. Moulick, R. S. Meena, and P. Formanek. 2017. *Enzymatic degradation of lignin in soil. a review*. *Sustainability* 9 (1163): 2-18.
- Dewi, G. A. M. K, I W. Wijana, N. W. Siti dan I M. Mudita. 2013. Optimalisasi Pemanfaatan Limbah dan Gulma Tanaman Pangan dalam Usaha Peternakan Itik Bali Melalui Produksi Biosuplemen Berprobiotik Berbasis Limbah Isi Rumen. Laporan Penelitian Hibah Penelitian Unggulan Udayana.
- Dewi, M. P. L., N. N. Suryani dan I M. Mudita. 2015. Populasi mikroba inokulan yang diproduksi dari cairan rumen sapi bali dan rayap. *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 3 (1): 13-28. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/18504/11999>.
- Efiok, B. J. S. 1996. *Basic Calculation for Chemical and Bniological Analysis*. AOAC International, Maryland, USA

- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Edisi Pertama. Cetakan Pertama. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Howard, R., Abotsi, E.E., Jansen, L., and Howard, S. 2003. Lignocellulose biotechnology: Issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology* 2 (12): 602-619.
- Kusumajaya, K. D., I M. Mudita, dan I N. S. Utama. 2016. Aktivitas enzim lignoselulase inokulan yang diproduksi dari berbagai tingkat penggunaan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Jurnal Peternakan Tropika* Vol. 4 (2): 445-462. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/27516/17424>.
- Leschine, S. B. 1995. *Cellulose degradation in anaerobic environments*. Annual Reviews Microbiol 49: 399-426.
- Lo, Y. C., G. D. Saratale, W. M. Chen, M. D. Bai, J. S. Chang. 2009. *Isolation of cellulosehydrolytic bacteria and applications of the cellulolytic enzymes for cellulosic biohydrogen production*. Enzyme and Microbial Technology Journal 44 (6-7); 417-425.
- Lotfi, G. 2014. Lignin-degrading Bacteria. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 20(1), 64-68
- Martini, E., N. Haedar dan S. Margino. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Lignin dari Beberapa Substrat Alami. *Gama Sains* V (2): 32-35.
- Meryandini, A., Wahyu W., Besty M., Titi C.S., Nisa R., dan Hasrul S. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *makara, sains*, Vol. 13 (1): 33-38.
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent. Method for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* 31: 426 – 428
- Mudita, I M. 2019. Penapisan dan Pemanfaatan Bakteri Lignoselulolitik Cairan Rumen Sapi Bali dan Rayap Sebagai Inokulan dalam Optimalisasi Limbah Pertanian Sebagai Pakan Sapi Bali. Disertasi. Program Studi Doktor Ilmu Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra, AA. P. P. Wibawa, dan N. W. Siti. 2009. Penggunaan Cairan Rumen sebagai Bahan Bioinokulan Plus Alternatif serta Pemanfaatannya dalam Optimalisasi Pengembangan Peternakan Berbasis Limbah yang Berwawasan Lingkungan. Laporan Penelitian Hibah Unggulan Udayana, Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M., I W. Wirawan, AA. P. P. Wibawa, I. G. N. Kayana. 2012. Penggunaan Cairan Rumen dan Rayap dalam Produksi Bioinokulan Alternatif serta Pemanfaatannya dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan Sustainable. Laporan

Penelitian Hibah Unggulan Perguruan Tinggi Tahun I. Universitas Udayana, Denpasar.

- Partama, I. B. G., I G. L. O. Cakra, I W. Mathius, I K. Utama. 2007. Peningkatan Produktivitas Sapi Bali Penggemukan Melalui Suplementasi Multi Vitamin dan Mineral dalam Ransum Berbasis Jerami Padi Amoniasi dan Hasil Ikutan Agroindustri. Laporan Hasil Penelitian KKP3T (Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian Perguruan Tinggi) Universitas Udayana.
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. De la Rubia, and J. Martinez. 2002. *Biodegradation and biological treatment of cellulose, hemicellulose and lignin; an overview*. Int. Microbial, 5: 53-56.
- Prabowo, A., S. Padmowijoto, Z. Bachrudin, dan A. Syukur. (2007). Potensi Mikrobia Selulolitik Campuran dari Ekstrak Rayap, Larutan Feses Gajah dan Cairan Rumen Kerbau. J. Indon. Trop. Anim. Agric. 32[3] Sept. 2007.
- Purwadaria, T., T., Pius P. Ketaren, Arnold P. Sinurat, and Irawan Sutikno. 2003b. Identification and Evaluation of Fiber Hydrolytic Enzymes in The Extract of Termites (*Glyptotermes montanus*) for Poultry Feed Application. Indonesian Journal of Agricultural Sciences 4(2) 2003; 40-47
- Purwadaria, T., T., Puji Ardiningsip, Pius P. Ketaren dan Arnold P. Sinurat. 2004. Isolasi dan Penapisan Bakteri Xilanolitik Mesofil dari Rayap. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, Vol. 9, No. 2. September 2004, hlm. 59-62
- Putri, T.I., T. G. B. Yadnya, I M. Mudita, B. R. T. Putri. 2009. Biofermentasi Ransum Berbasis Bahan Lokal Asal Limbah Inkonvensional Dalam Pengembangan Peternakan Sapi Bali Kompetitif dan *Sustainable*. Laporan Penelitian Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional Batch IV. Universitas Udayana, Denpasar.
- Razie, F. A. Iswandi, A. Sutandi, L. Gunarto, dan Sugiyanta. 2011. Aktivitas enzim selulase mikroba yang diisolasi dari jerami padi di pesawahan pasang surut di Kalimantan Selatan. Jurnal Tanah Lingkungan Vol. 13 (2): 43-48.
- Sarah M. J., J. Susan V. Dyk, dan B. I. Pletschke. 2012. *Bacillus subtilis* SJ01 Produces Hemicellulose Degrading Multi-Enzyme Complexes. Bioresources 7(1); 1294-1309
- Sastrosupadi, A.. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang pertanian. Edisi Revisi. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Sudarmin, B. F., N. N. Suryani, dan N. P. Mariani. 2019. Komposisi kimia dan sifat fisik ransum sapi bali di penampungan ternak desa nongan. Jurnal Peternakan Tropika 7 (1): 281-290. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/47707/28550>.
- Susanti. 2011. Optimasi produksi dan karakterisasi sistem selulase dari *Bacillus circulans* strain lokal dengan inducer avicel. Jurnal Ilmu Dasar Vol. 12 (1): 1-40 .

Wibawa, A. A. P. P., I M. Mudita, I W. Wirawan, I G. L. O. Cakra. 2010. Aplikasi Teknologi Suplementasi dan Biofermentasi dalam Wafer Ransum Komplit Berbasis Limbah Inkonvensional dalam Pengembangan Peternakan Kambing *Sustainable* dengan Emisi Polutan Rendah. Laporan Penelitian Hibah Bersaing II. Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar.