



Modifikasi Enzimatis Bahan Berbasis Selulosa Sebagai Substrat Potensial Bioetanol

PEMBIMBING:

1. Ir. Sri Nurhatika, M.P.
2. Dr.techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T.

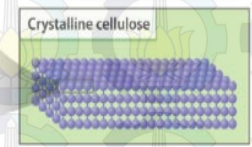
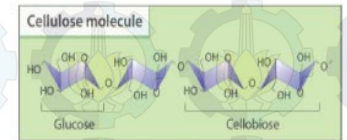
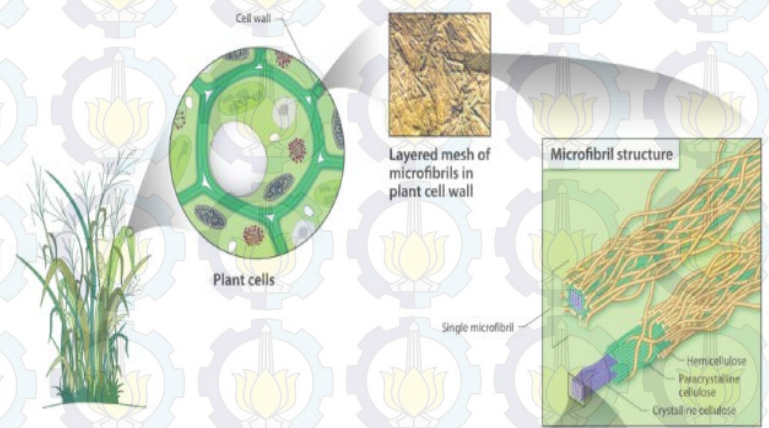
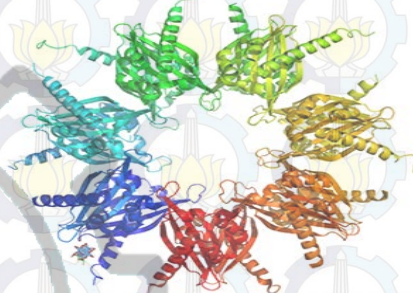
Pendahuluan



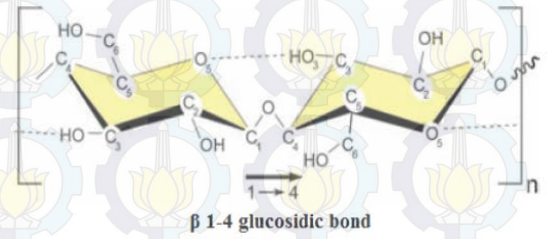
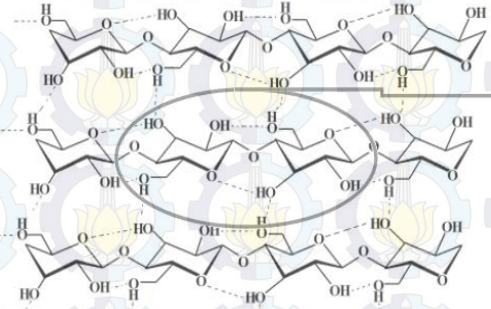
Bio ETANOL

Ketersediaan melimpah
Berharga murah
Mudah diperoleh
Belum banyak dimanfaatkan
Mengandung glukosa

SELULASE



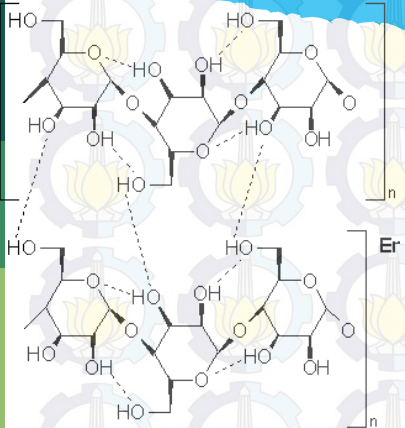
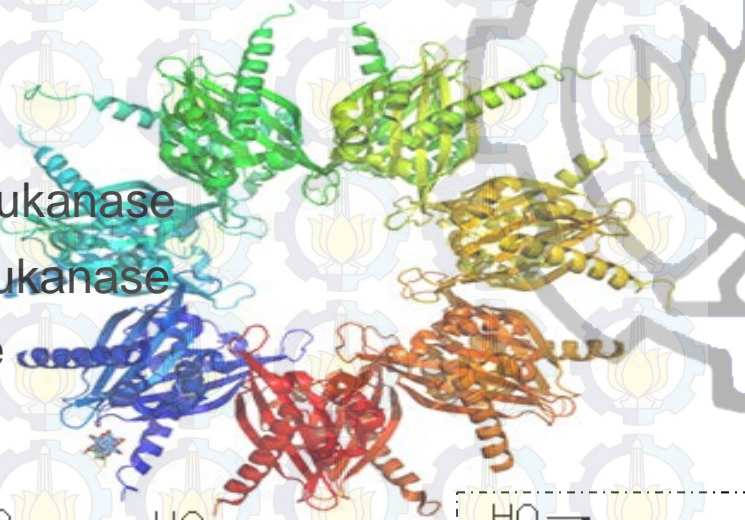
Hydrogen bonds between cellulose chains



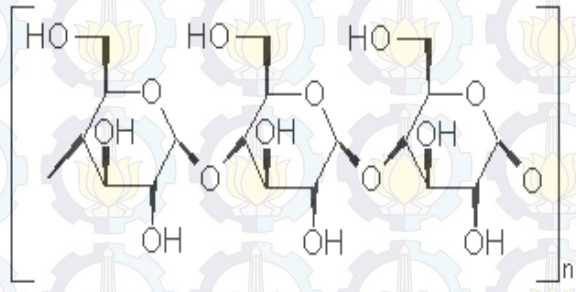
Selulase (EC 3.2.1.4)

Hidrolase

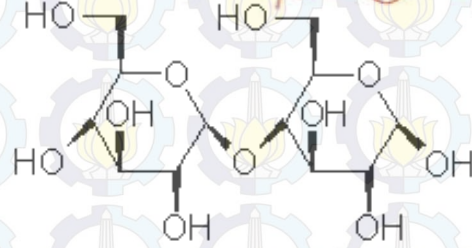
endo- β -1,4-glukanase
ekso- β -1,4-glukanase
 β -glukosidase



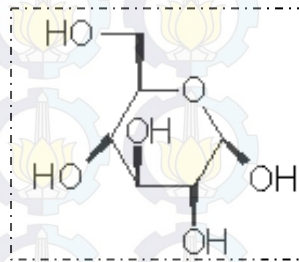
Selulosa
(kristal)



Selulosa



Selobiosa

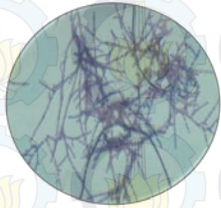


Glukosa

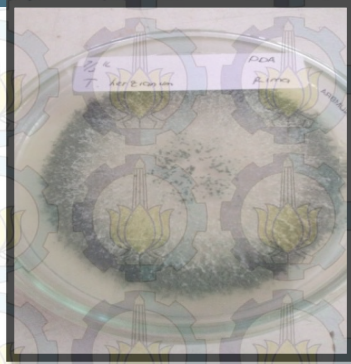
Penghasil selulase



Bakteri



Actinomycetes



Kapang memiliki potensi lebih besar untuk memproduksi selulase karena kosmopolit, enzim bersifat stabil dan memiliki aktivitas selulolitik

Aktivita tinggi
Protein heterolog

Trichoderma sp.

+
SUBSTRAT

Aktivitas
Selulase

BATASAN MASALAH

- Isolat yang digunakan adalah *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma* sp. LM 1039
- Bahan penelitian meliputi kertas koran, rumput laut dan kertas saring whattman
- Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium
- Analisis data secara deskriptif menggunakan metode DNS dan FTIR

PERMASALAHAN

Bagaimana memanfaatkan selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma* untuk proses hidrolisis dari beberapa sumber substrat yang berbasis selulosa.

TUJUAN

Mengukur gula pereduksi dari beberapa bahan berbasis selulosa yang dihidrolisis menggunakan selulase dari isolat *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma* sp. LM 1039 sebagai substrat potensial dalam fermentasi bioetanol

MANFAAT

Memberikan informasi mengenai potensi selulase dari *Trichoderma* sp. dalam mendegradasi substrat berbasis selulosa sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol.



Metodologi



WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai April 2016 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, LAB. Material dan Metalurgi ITS dan TDC UNAIR.

Trichoderma sp.

Persiapan media dan kultur

Kurva pertumbuhan

Pembuatan starter

Produksi dan isolasi enzim

Purifikasi amonium sulfat

Karakterisasi

Uji aktivitas enzim

Uji kadar protein

Titik isoelektrik

SDS-PAGE

Aplikasi

Analisis gula reduksi

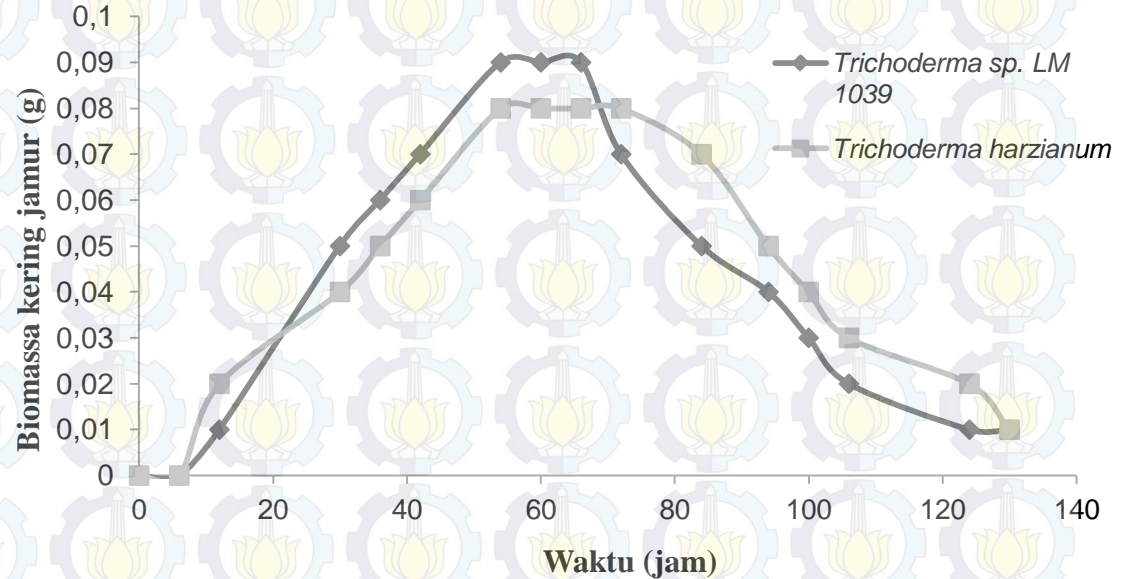
Analisis FTIR

Produksi dan isolasi enzim



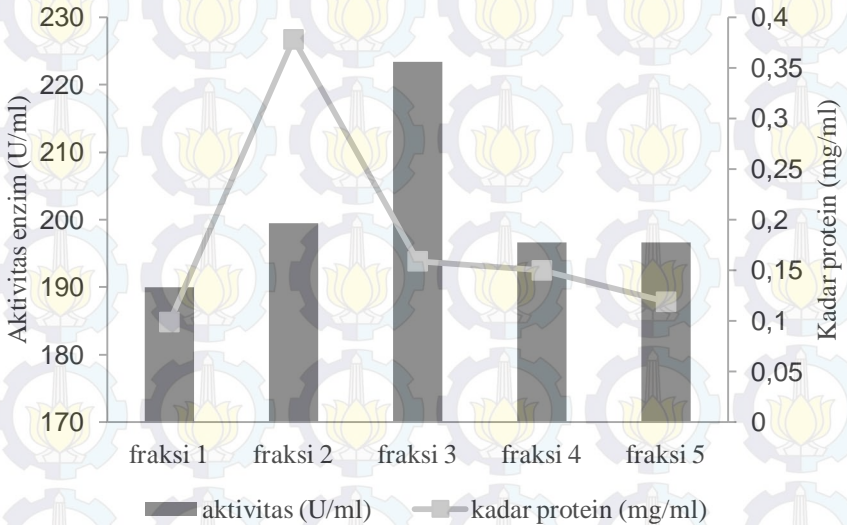
Medium Mendels Sebelum Fermentasi (Kiri) dan Setelah Fermentasi (Kanan)

Kurva pertumbuhan isolat *Trichoderma sp.*



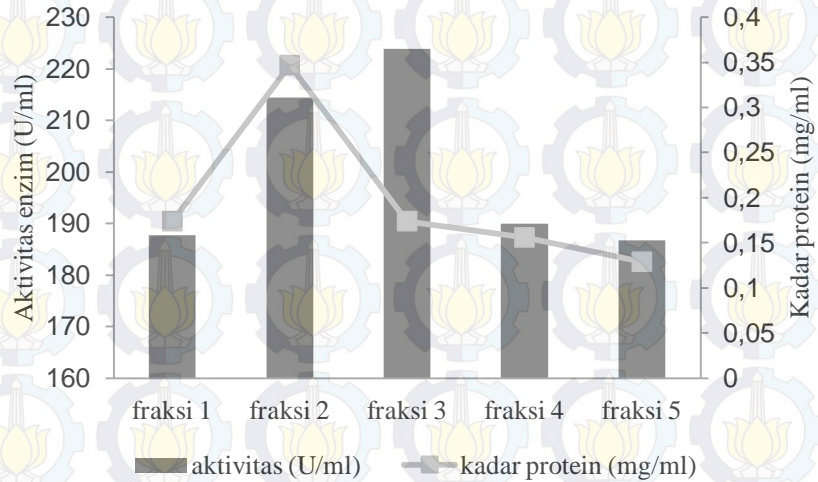
Fase lag pertumbuhan *Trichoderma sp.* tersingkat dicapai dalam medium produksi jerami padi yaitu selama 6 jam masa inkubasi. Fase stasioner dicapai selama jam ke-54 hingga jam ke-66 di dalam medium produksi.

Karakterisasi enzim

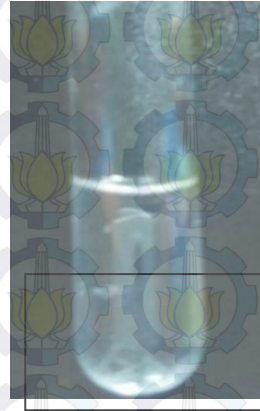
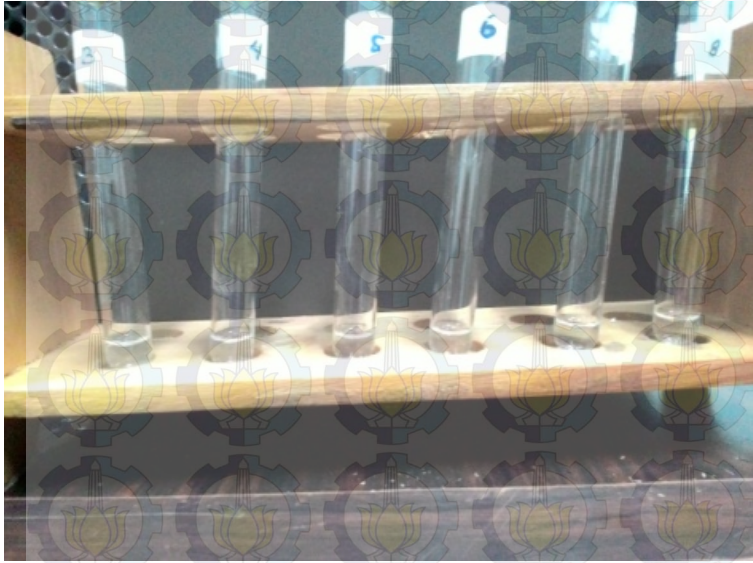


Aktivitas tertinggi selulase dari isolat *Trichoderma sp.*, LM 1039 yaitu 223,334 U/ml dengan kadar protein 0,159 mg/ml

Aktivitas tertinggi selulase dari isolat *Trichoderma harzianum* yaitu 223,89 U/ml dengan kadar protein 0,174 mg/ml



Titik isoelektrik



→ Endapan

Titik isoelektrik enzim dari kedua isolat berada pada pH yang sama yaitu pada pH 5 yang menandakan asam amino penyusun protein enzim dominan bermuatan negatif. Ditandai dengan terbentuknya endapan warna putih setelah pemanasan.

Elektroforesis SDS-PAGE

kDa M

1

2

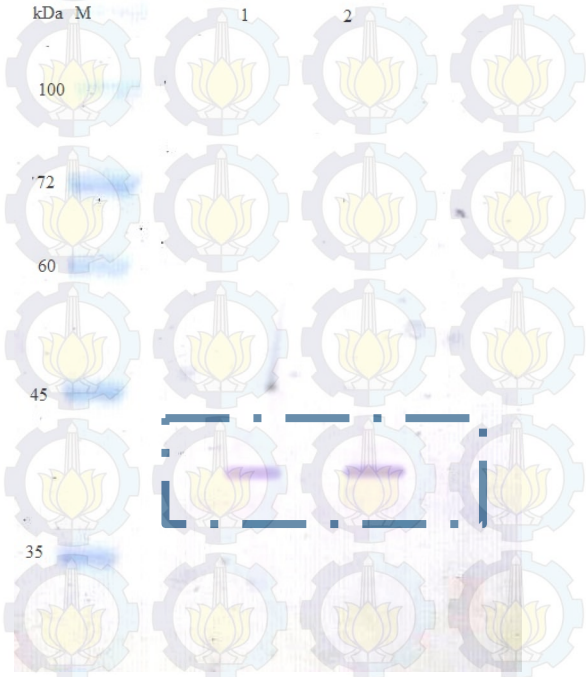
100

72

60

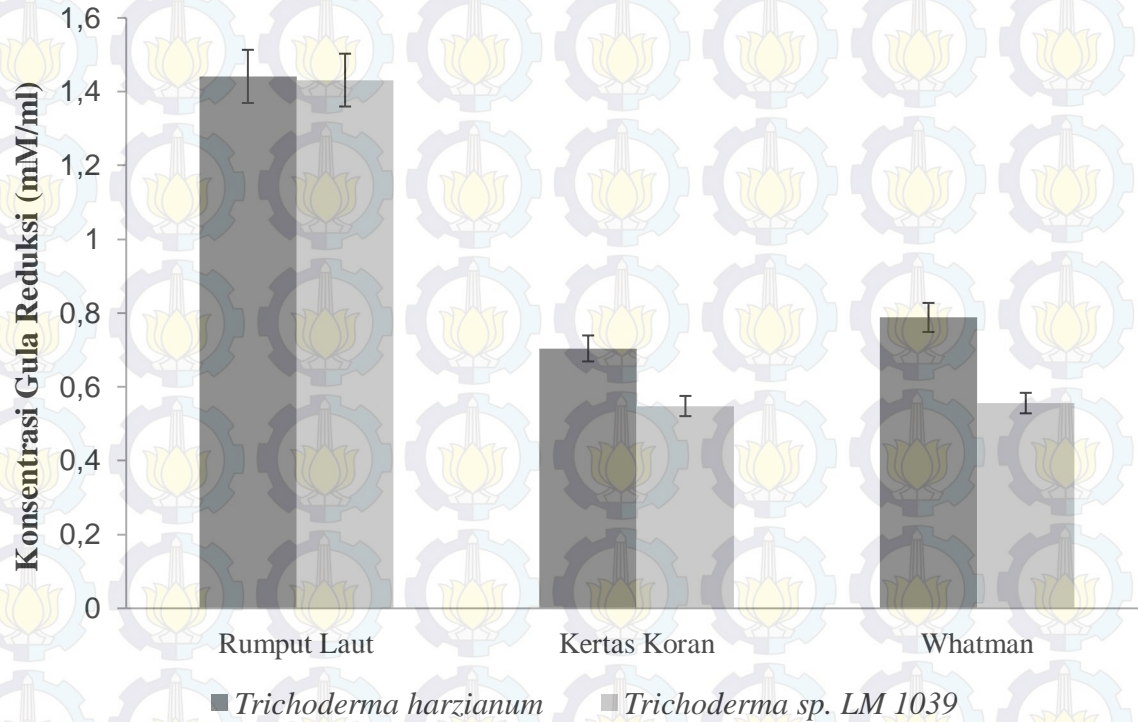
45

35



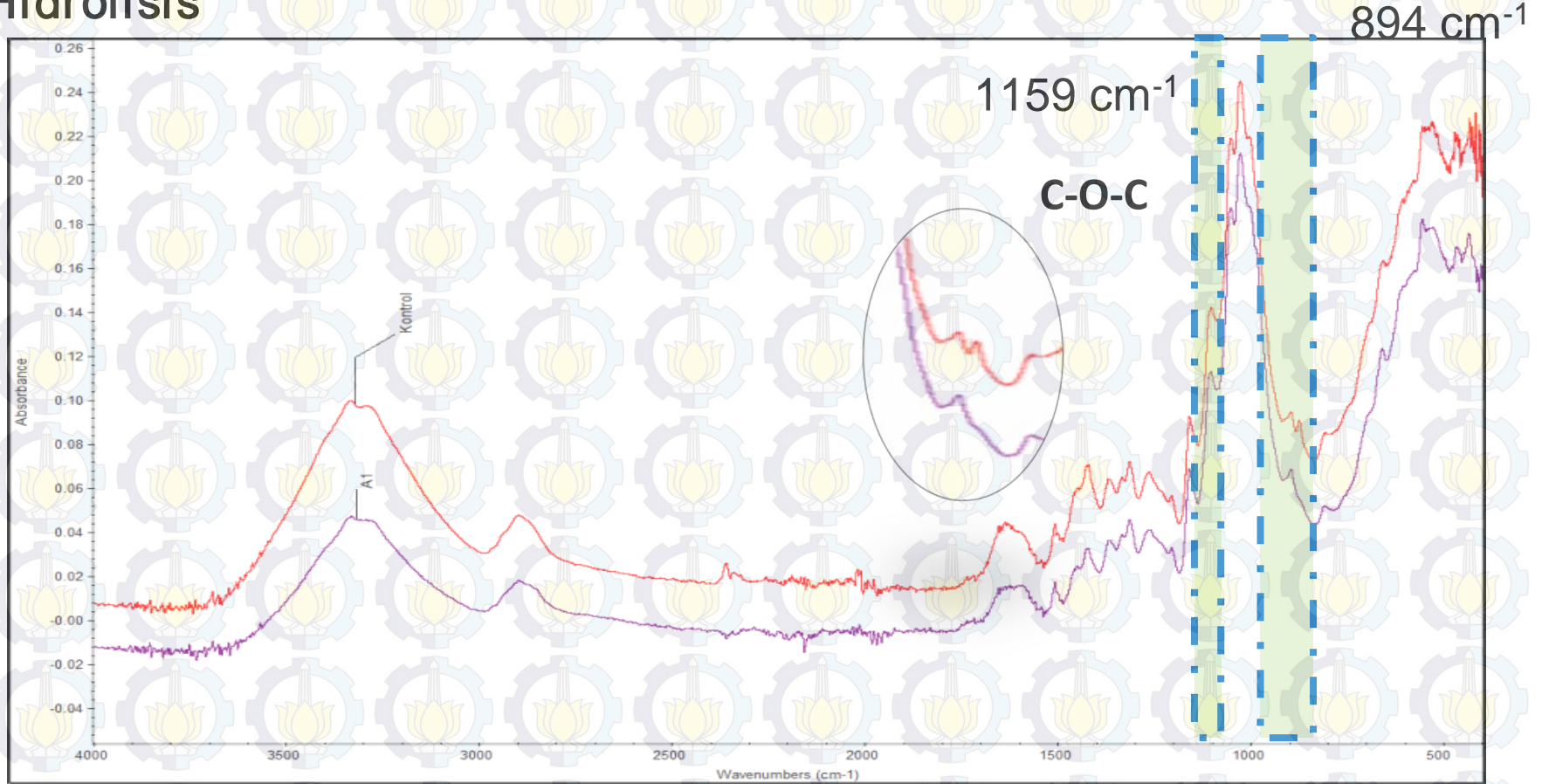
Pita protein enzim memiliki berat molekul 40, 36 kDa. Diduga endoglukanase V (EG V) (Hassan & El-Adway, 2011).

Aplikasi Enzim Pada Substrat



Kadar gula reduksi
Rumput laut : 1,44 - 1,43 mM/ml
Kertas koran : 0,70 - 0,54 mM/ml
Whatman n0.1 : 0,78 - 0,55 mM/ml

Analisis FTIR Hasil Hidrolisis



KESIMPULAN

- Aktivitas selulase *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma sp.* LM 1039 sebesar **223,89 U/ml** dan **223,334 U/ml**
 - Purifikasi amonium sulfat mampu meningkatkan **aktivitas selulase**
 - Karakteristik titik isoelektrik **pH 5**
 - Berat molekul berada pada **40, 36 kDa**
- Kadar gula reduksi tertinggi terdapat pada substrat **rumpun laut** dan terjadi pemutusan pada **ikatan C-O-C** berdasarkan spektra IR

SARAN

- Pemilihan isolat kapang penghasil selulase dengan nilai aktivitas tinggi
- Inducer untuk memaksimalkan produksi enzim



Biomaterial and Enzyme
Technology Research Group
2016

