

# BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 2, No. 2, 1999

---

**JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN**

---

Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil <b>Hakim Kurniawan dan Lukman Gunarto</b> .....	1
Enzim Selulase dari <i>Trichoderma</i> spp. <b>Selly Salma dan Lukman Gunarto</b> .....	9
Prospek Bioherbisida sebagai Alternatif Penggunaan Herbisida Kimiawi <b>Indira Genowati dan Untung Suwahyono</b> ...	17
Validasi Metode Analisis Kimia <b>Ahmad Hidayat</b> ...	22
Interaksi Poligenik Ketahanan Tanaman Padi terhadap Patogen Blas <b>Dwinita Wikan Utami</b> ...	29



**Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan**  
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

# Enzim Selulase dari *Trichoderma* spp.

S. Salma dan L. Gunarto

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

## ABSTRACT

**Cellulase Enzymes Produced by *Trichoderma* spp.** S. Salma and L. Gunarto. Cellulase produced by cellulolytic microbes grown on a cellulose culture medium are usually consists of three different enzymes, i. e., cellobiose hydrolase (CBH), endo-(1,4-glucanase (EG), and (-glucosidase. These enzymes work together synergistically in cellulose hydrolysis. *Trichoderma* is a genus of cellulolytic fungi capable of excreting the three-cellulase components. *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, and *T. pseudokoningii* are members of *Trichoderma* spp. that are commonly found in Indonesia, while *T. piluliferum* and *T. aureoviride* are very rare. Cellulolytic activity of the enzymes was increased when the substrate contained delignified rice straw. CBH produced by *Trichoderma* spp. were the lowest among the three enzyme components on both delignified and non-delignified rice straw media.

**Key words:** Cellulase enzymes, *Trichoderma* spp., cellulolytic microbes, cellulose culture medium, delignified and non-delignified rice straw.

Selulosa merupakan karbohidrat utama yang disintesis oleh tanaman dan menempati hampir 60% komponen penyusun struktur tanaman. Jumlah selulosa di alam sangat berlimpah sebagai sisa tanaman atau dalam bentuk limbah pertanian seperti jerami padi, be-rangkas jagung, gandum, dan kedelai. Nilai ekonomi senyawa selulosa pada limbah tersebut sangat rendah karena tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh manusia. Sulitnya mendegradasi limbah tersebut menyebabkan petani lebih suka membakar jeraminya di lahan pertanian daripada memanfaatkannya kembali melalui pengomposan. Kebiasaan membakar ini sulit untuk dihindari karena petani mempunyai waktu bera yang singkat. Dalam pertanian intensif, waktu bera biasanya 1-2 bulan saja. Di beberapa tempat yang sumber airnya hanya bergantung pada curah hujan waktu bera kurang dari satu bulan

Pengomposan secara alami memerlukan waktu 4-5 bulan. Hal ini disebabkan karena sangat sedikitnya mikroba yang secara alami efektif untuk merombak limbah berselulosa. Pada umumnya mik-

roba dapat tumbuh pada bahan organik tersebut, tetapi hanya sebagian saja yang mampu menghidrolisis selulosa alami. Beberapa mikroba terutama dari kelompok fungi memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Perolehan mikroba selulolitik yang mampu menghasilkan aktivitas selulase yang tinggi menjadi sangat penting untuk tujuan pengomposan limbah organik.

Selulase merupakan enzim yang dapat memutuskan ikatan glikosida  $\beta$ -1,4 di dalam selulosa. Enzim ini terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu selobiohidrolase (CBH), endoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase yang berkerja secara sinergis memecah selulosa di alam. Mikroba yang mampu menghasilkan ketiga komponen selulase di antaranya adalah *Trichoderma*, sehingga fungi ini sering disebut sebagai selulolitik sejati. *Trichoderma* juga dikenal sebagai pengendali hayati beberapa penyakit pada tanaman pangan. Selain itu, *Trichoderma* mampu menghasilkan hormon tumbuh sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman.

## SELULOSA

Selulosa merupakan polimer linier terdiri dari 100-14.000 unit glukosa yang terikat pada ikatan  $\beta$ ,1,4-glukosida (Beguin *et al.*, 1987; Bisaria dan Mishra, 1989; Coughlan, 1985;). Pada serat tanaman, selulosa tersusun dari fibril-fibril yang terdiri dari beberapa molekul selulosa secara paralel. Di dalam serat selulosa, susunan ini membentuk bagian dengan susunan fibril yang sangat teratur, yang disebut dengan bagian kristal dan bagian dengan susunan fibril yang kurang teratur, yang disebut dengan bagian amorf (Enari, 1983; Goksoyr dan Eriksen, 1980; Preston, 1986). Tingkat kristanilitas dalam suatu serat selulosa bervariasi tergantung pada sumber selulosa dan perlakuan yang diberikan pada selulosa tersebut. Karena susunannya yang sangat teratur maka bagian kristal ini sulit untuk didegradasi.

Selulosa pada jaringan tanaman selalu berikatan dengan polisakarida lain seperti lignin dan hemiselulosa. Pada jerami padi persentase ketiga komponen tersebut adalah 40% selulosa, 25% hemiselulosa, dan 5% lignin (Rexen *et al.*, 1976). Sulitnya memisahkan ketiga komponen ini menyebabkan enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang tumbuh pada substrat jaringan tanaman juga menunjukkan adanya aktivitas enzim perombak lignin dan hemiselulosa (Irawadi *et al.*, 1992).

Secara alami molekul jerami padi tersusun dalam bentuk serabut yang terdiri dari beberapa molekul selulosa paralel yang dihubungkan dengan jembatan hidrogen. Beberapa molekul selulosa terikat dengan sangat kuat oleh ikatan  $\beta$ ,1,4-glukosida sehingga membentuk kristal mikrofibril, yang kemudian secara bersama-

sama membentuk serat selulosa yang tidak larut (Sasaki, 1982).

### MIKROBA SELULOLITIK

Beberapa mikroba dapat tumbuh pada substrat berselulosa karena mempunyai kemampuan menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi derivat selulosa atau bagian amorf dari selulosa, tetapi hanya sedikit mikroba yang mampu mensintesis komponen selulase yang dapat menghidrolisis selulosa pada bagian kristalnya di alam secara *extensive* (Coughlan, 1985; Sternberg, 1976).

Selulase disintesis oleh sejumlah mikroba termasuk didalamnya fungi, aktinomisetes, *gliding bacteria*, dan *true bacteria* (Tabel 1). Dari kelompok fungi di antaranya adalah *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Pellicularia*, *Phanerochaeta*, *Polysporus*, *Trichoderma*. Fungi yang secara spesifik mampu menghasilkan komponen selulase secara lengkap dimiliki oleh kelompok *Trichoderma reesei*, *T. koningii*, *Penicillium funiculosum*, *Phanerochaete chrysosporium*, dan *Aspergillus terreus* (Alexander, 1977;

Bastawde, 1992; Wood *et al.*, 1988).

Salah satu fungi yang memiliki ketiga komponen selulase secara lengkap adalah kelompok *Trichoderma*. Menurut Rifai (1969), marga ini terdiri dari sembilan jenis, yaitu *T. piluliferum* Webster dan Rifai, *T. polysporum* (Link ex Pers.) Rifai, *T. hamatum* (Bon.) Bain, *T. koningii* Oud., *T. aureoviride* Rifai, *T. harzianum* Rifai, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai, dan *T. viride* Pers. Ex S.F. Gray. Marga *Trichoderma* umumnya tumbuh cepat dengan miselia yang mula-mula berwarna putih, kemudian menjadi hijau atau hijau kekuningan. Penampakan morfologinya sulit digunakan untuk membedakan antar jenisnya, sehingga perlu observasi secara mikroskopik. Koloninya dapat kompak, longgar atau di antara keduanya. Kekompakan koloni ini menggambarkan struktur dari konidiofornya (Rifai, 1969). Isolasi *Trichoderma* telah dilakukan dari beberapa contoh tanah, kotoran ternak, dan bahan organik yang diambil dari beberapa tempat di Jawa Barat dan Timor Timur (Tabel 2). Isolat-isolat tersebut terdiri dari 21 isolat *T. har-*

*zianum*, delapan isolat *T. piluliferum*, 10 isolat *T. koningii*, tujuh isolat *T. hamatum*, dan empat isolat *T. aureoviride* (Salma dan Gunarto, 1996a; Zaini *et al.*, 1997).

Menurut Rifai (1969), jenis *Trichoderma* yang umum dijumpai di Indonesia adalah *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, dan *T. pseudokoningii*. Jenis yang agak sulit ditemukan di Indonesia adalah *T. piluliferum* dan *T. aureoviride*, tetapi pernah dijumpai di Singapura. Demikian halnya dengan *T. viride* dan *T. polysporum* merupakan jenis yang sangat umum dijumpai di daerah subtropik, sedangkan *T. harzianum* sangat umum dijumpai di daerah tropik. Hal ini berkaitan dengan suhu optimal yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Danielson dan Davey, 1973). Di samping itu, *T. viride* merupakan fase seksual dari *Hypocrea rufa* yang sangat jarang ditemukan di daerah tropis (Rifai, 1969). Selanjutnya Danielson dan Davey (1973) menambahkan jenis-jenis yang umum dijumpai pada daerah tropik dengan topografi datar adalah *T. harzianum*, *T. hamatum*, dan *T. koningii*, sedangkan *T. viride* tidak dijumpai dan *T. polysporum* sangat jarang. *T. koningii* juga banyak dijumpai pada tempat-tempat dengan kelembaban rendah sampai sedang, sedangkan *T. pseudokoningii* pada tanah kering dan *T. hamatum* pada tanah dengan kelembaban yang berlebihan. Faktor utama yang sangat mempengaruhi pola penyebaran yang luas dari jenis *Trichoderma* adalah suhu dan kelembaban, sedangkan vegetasi merupakan faktor kedua.

Tabel 1. Beberapa mikroorganisme tanah yang mampu menggunakan selulosa

Nama genus mikroba yang mampu menggunakan sumber C dari selulosa		
Fungi	Bakteri	Actinomycetes
<i>Alternaria</i>	<i>Acetivibrio</i>	<i>Micromonospora</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Nocardia</i>
<i>Chaetomium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Streptomyces</i>
<i>Coprinus</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Streptosporangium</i>
<i>Fomes</i>	<i>Cellvibrio</i>	<i>Thermomonospora</i>
<i>Fusarium</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Thermoactinomyces</i>
<i>Humicola</i>	<i>Corynebacterium</i>	
<i>Myrothecium</i>	<i>Cytophaga</i>	
<i>Pellicularia</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Penicillium</i>	<i>Ruminococcus</i>	
<i>Polyporus</i>	<i>Sporocytophaga</i>	
<i>Poria</i>	<i>Vibrio</i>	
<i>Trichothecium</i>		
<i>Trichoderma</i>		
<i>Trametes</i>		
<i>Talaromyces</i>		
<i>Trichosporon</i>		
<i>Verticillium</i>		

Sumber: Alexander, 1977; Bastawde, 1992; Wood *et al.*, 1988

### ENZIM SELULASE DAN MEKANISME PEROMBAKAN SELULOSA

Selulase adalah nama trivial untuk semua enzim yang dapat memutuskan ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 di dalam selulosa, selodekstrin,

**Tabel 2.** Isolat *Trichoderma* hasil isolasi dari beberapa lokasi dan habitat di Jawa Barat dan Timor Timur

No.	Jenis	Isolat	Habitat	Lokasi
1.	<i>T. harzianum</i>	Kar5.2	Perkebunan	Sukabumi/Kariyana
2.	<i>T. harzianum</i>	Bo12	Pertanian	Bogor/Cimanggu
3.	<i>T. harzianum</i>	Bd2	Kebun singkong	Bandung/Cigadung
4.	<i>T. harzianum</i>	Bo14	Pertanian	Bogor/Cimanggu
5.	<i>T. harzianum</i>	Bo2	Pertanian	Bogor/Cimanggu
6.	<i>T. harzianum</i>	Bo1	Pertanian	Bogor/Cimanggu
7.	<i>T. harzianum</i>	Pan23.1	Di bawah tumpukan kotoran sapi	Pangalengan
8.	<i>T. harzianum</i>	Bd1	Kebun singkong	Bandung/Cigadung
9.	<i>T. harzianum</i>	Bd4	Kebun singkong	Bandung/Cigadung
10.	<i>T. harzianum</i>	Bd3	Kebun singkong	Bandung/Cigadung
11.	<i>T. harzianum</i>	GRT3	Perkebunan	Garut/Condong
12.	<i>T. harzianum</i>	Bo16	Pertanian	Bogor/Cimanggu
13.	<i>T. harzianum</i>	Tim6.1.1	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
14.	<i>T. harzianum</i>	Tim6.1.2	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
15.	<i>T. harzianum</i>	Tim6.2.1	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
16.	<i>T. harzianum</i>	Tim6.3.1	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
17.	<i>T. harzianum</i>	Tim6.3.3	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
18.	<i>T. harzianum</i>	Tim7.1.3	Di bawah kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
19.	<i>T. harzianum</i>	Tim11.2	Kebun kopi	Maubesse, Timor Timur
20.	<i>T. harzianum</i>	Tim12.1	Jerami lapuk	Maubesse, Timor Timur
21.	<i>T. harzianum</i>	Tim14.1.3	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
22.	<i>T. piluliferum</i>	GKJ1.1	Kebun sayur	Gambung
23.	<i>T. piluliferum</i>	GKS2	Kebun teh	Gambung
24.	<i>T. piluliferum</i>	Bd5.1	Kebun singkong	Bandung/Gudang Kahuripan
25.	<i>T. piluliferum</i>	Bd5.2	Kebun singkong	Bandung/Gudang Kahuripan
26.	<i>T. piluliferum</i>	Andi2.1	Perkebunan	Bogor
27.	<i>T. piluliferum</i>	Bo15	Pertanian	Bogor/Muara
28.	<i>T. piluliferum</i>	Bo8	Pertanian	Bogor/Cimanggu
29.	<i>T. piluliferum</i>	Bd47	Kebun singkong	Bandung/Cigadung
30.	<i>T. koningii</i>	Kun4	Di bawah tumpukan jerami	Kuningan
31.	<i>T. koningii</i>	Bo17	Di bawah tumpukan jerami	Bogor/Muara
32.	<i>T. koningii</i>	Cia2	Kotoran ternak	BPT Ciawi
33.	<i>T. koningii</i>	Pan23.2	Dibawah kotoran sapi	Pangalengan
34.	<i>T. koningii</i>	Bd42	Kebun singkong	Bandung/Gudang Kahuripan
35.	<i>T. koningii</i>	Bo14	Pertanian	Bogor/Cimanggu
36.	<i>T. koningii</i>	Tim3.2.1	Gelagah lapuk	Maubesse, Timor Timur
37.	<i>T. koningii</i>	Tim6.3.1	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
38.	<i>T. koningii</i>	Tim7.1.2	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
39.	<i>T. koningii</i>	Tim13.2.1	kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
40.	<i>T. hamatum</i>	Gam3	Pertanian	Bogor/Muara
41.	<i>T. hamatum</i>	Gam1	Pertanian	Bogor/Muara
42.	<i>T. hamatum</i>	Gam4	Pertanian	Bogor/Muara
43.	<i>T. hamatum</i>	Gam2	Pertanian	Bogor/Muara
44.	<i>T. hamatum</i>	Kar3.6.3	Perkebunan	Sukabumi/Kariyana
45.	<i>T. hamatum</i>	Tim5.2	Di bawah tumpukan sekam	Maubesse, Timor Timur
46.	<i>T. hamatum</i>	Tim13.1.3	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
47.	<i>T. aureoviride</i>	Tim5.1	Di bawah sekam	Maubesse, Timor Timur
48.	<i>T. aureoviride</i>	Tim7.1.1	Kayu lapuk	Maubesse, Timor Timur
49.	<i>T. aureoviride</i>	Tim8.1.1	Kotoran kuda	Maubesse, Timor Timur
50.	<i>T. aureoviride</i>	Tim8.1.2	Kotoran kuda	Maubesse, Timor Timur

Sumber: Salma dan Gunarto, 1996a; Zaini *et al.*, 1997

selobiosa dan turunan selulosa lainnya (Fogarty dan Kelly, 1982). Selulase yang dihasilkan oleh mikroba khususnya fungi adalah ekstraselular dan proses hidrolisis selulosa juga dilakukan di luar sel mikroba. Selulase hanya diproduksi bila mikroba tersebut ditumbuh-

kan pada selulosa atau glukosa lain dengan ikatan  $\beta$ -1,4 seperti selobiosa, laktosa atau sophorosa. Fraksinasi dari protein selulase yang terdapat pada filtrat kultur fungi selulolitik berbeda dengan bakteri. Sistem selulolitik pada bakteri lebih sederhana dibandingkan dengan

fungi, karena bakteri hanya mampu menghasilkan endoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase saja (Enari, 1983), sedangkan selulase yang dihasilkan fungi terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu:

- Exo- $\beta$ -1, 4-glukanase/Selobiohidrolase/CBH ( $\beta$ -1,4-D glukosa 4-selobiohidrolase, EC 3.2.1.91)
- Endo- $\beta$ -1,4-glukanase (endo- $\beta$ -1, 4-D 4-glukanohidrolase, E.C.3.2.1.1)
- $\beta$ -glukosidase ((E.C.3.2.1.21)

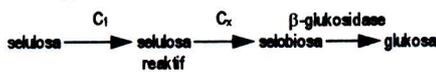
Kespesifikan dari komponen enzim tersebut telah dipelajari dengan sejumlah substrat seperti (Bisaria dan Mishra, 1989):

- serat kapas dan Avicel (mikrokristal selulosa  $\alpha$ ) dengan struktur di mana ikatan hidrogennya sangat kuat,
- selulosa yang telah dilonggarkan dengan asam seperti Carboxy Methyl Cellulosa (CMC) atau Hydroxy Ethyl Cellulosa (HEC) merupakan substrat untuk mengukur degradasi dari selulosa amorf,
- selobiosa, nitrophenyl- $\beta$ -D-glukosa atau arylglukosa lainnya yang merupakan substrat untuk mengukur aktivitas  $\beta$ -glukosidase.

Selobiohidrolase (CBH) mendegradasi selulosa dengan melepaskan unit selobiosa dari sisi non-reduksi pada rantai selulosa. Reaksi CBH sangat kecil pada selulosa amorf, dan tidak bereaksi dengan selulosa tersubstitusi. Hal ini menunjukkan spesifitas CBH yang lebih tinggi dibandingkan dengan endoglukanase. CBH menghidrolisis selodekstrin tetapi tidak selobiosa. Sebaliknya endoglukanase menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida secara acak dan bekerja sangat aktif pada selulosa amorf atau selulosa tersubstitusi tetapi tidak pada selulosa kristal. Sedangkan  $\beta$ -glukosidase mempunyai afinitas yang be-

sar terhadap substrat dengan berat molekul yang rendah. Enzim ini dapat menghidrolisis selobiosa dan seloligosakarida menjadi glukosa, tetapi tidak berpengaruh terhadap selulosa. Secara ringkas afinitas setiap enzim dapat dilihat pada Tabel 3.

Mekanisme kerja selulase pada selulosa banyak dilaporkan oleh beberapa peneliti dan mekanisme ini menjadi semakin berkembang dan kompleks dengan majunya teknologi. Hipotesis yang dikenal dengan mekanisme  $C_1C_x$  adalah sebagai berikut:



Pada mekanisme  $C_1C_x$  ada dua tipe selulase yang terlibat dalam degradasi selulosa, yaitu  $C_1$  yang mengaktivasi selulosa sehingga menjadi lebih reaktif untuk selanjutnya dihidrolisis oleh  $C_x$  menjadi selobiosa yang siap dihidrolisis oleh  $\beta$ -glukosidase menjadi glukosa. Kemudian Beguin *et al.* (1987) serta Enari dan Paavola (1987) mempostulasikan bahwa degradasi selulosa merupakan interaksi sinergisme dari ketiga komponen tersebut dengan spesifitas yang berbeda. Model degradasi selulosa yang banyak dipelajari dari kelompok *Trichoderma* dan *Sporotrichum pulverulentum*. Degradasi diawali dengan pemecahan molekul selulosa pada bagian amorf oleh EG, sehingga terbentuk beberapa sisi nonreduksi yang merupakan substrat bagi CBH, di samping CBH menghidrolisis bagian kristal dari selulosa. Kedua reaksi tersebut akan menghasilkan selobiosa dan beberapa oligosakarida yang merupakan substrat bagi  $\beta$ G. Ketiga enzim ini bekerja sama dalam menghidrolisis selulosa tingkat tinggi. Tingkat sinergisme antara EG dan CBH akan semakin tinggi dengan tingginya tingkat kristanilitas dari substrat seperti kapas (90% kristal),

tetapi akan semakin rendah pada substrat amorf dan tidak ada kesinergisan pada selulosa tersubstitusi seperti CMC (Fogarty dan Kelly, 1982). Tetapi pada tahun 1959, Wood telah menunjukkan kesinergisan antara ketiga komponen ini dalam penelitiannya pada serat kapas seperti yang tertera pada Tabel 4.

Adanya penemuan heterogenitas dari setiap komponen selulase melalui uji imunologi menyebabkan mekanisme degradasi selulosa semakin kompleks. CBH dari *T. reesei* terdiri dari dua tipe, yaitu CBHI dan CBHII yang menunjukkan reaksi sinergistik yang tinggi dalam hidrolisis pada selulosa mikrokristal (Avicel) dan rendah pada

serat kapas (Bisaria dan Mishra, 1989), sedangkan EG dari fungi tersebut terdiri dari tiga tipe, yaitu EGI, EGII, dan EGIII (Labudova dan Farkas, 1983; Messner *et al.*, 1988; Niku-Paavola *et al.*, 1985). Menurut Montenecourt dan Eveleigh (1985) untuk mendapatkan hidrolisis yang efisien perlu diperhatikan rasio antara enzim selulase exo (CBH) dan endo (EG). Wood *et al.* (1988) menunjukkan interaksi sinergistik dalam menghidrolisis serat kapas dari tipe enzim tersebut seperti yang disajikan pada Tabel 5. Postulat ini masih terus diteliti dan diperdebatkan oleh beberapa peneliti. Henrissat dan Chanzy (1986) menyitir hasil penelitian beberapa peneliti dan mengemukakan bahwa CBH

Tabel 3. Hidrolisis berbagai substrat oleh selulase

Substrat	Selobiohidrolase (CBH)	Endoglukanase (EG)	$\beta$ -glukosidase ( $\beta$ G)
Selulosa kristal	+	-	-
Selulosa amorf	+	+	-
Selulosa tersubstitusi (CMC, HEC)	-	+	-
Selooligosakarida	+	+	+
Selobiosa	-	-	+

Sumber: Enari, 1983

Tabel 4. Aktivitas selulolisis oleh enzim-enzim selulolitik dari *F. solani*

Enzim	Persentase kapas yang terhidrolisis
CBH	7
EG	12
$\beta$ G	3
CBH + EG	50
CBH + $\beta$ G	22
CBH + EG + $\beta$ G	59
Filtrat kultur	63

Sumber: Wood, 1959

Tabel 5. Interaksi sinergistik antara CBH dan EG dari *P. pinophilum* dalam menghidrolisis serat kapas

EG	Persentase hidrolisis		
	+ CBHI	+ CBHII	+ CBHI & CBHII
tanpa EG	4	6	13
EGI	6	4	17
EGII	5	1	13
EGIII	5	6	35
EGV	3	3	16
EG VI	5	11	38
EGI + EGII + EGIII + EGV + EGVI	10	4	56

Sumber: Wood *et al.*, 1988

dapat menghidrolisis selulosa kristal tanpa bantuan EG, sedangkan peneliti lain berpendapat bahwa untuk menghidrolisis selulosa kristal harus ada mekanisme sinergistik dari CBHI dan CBHII yang dikenal dengan kerja sama exo-exo.

Seiboth *et al.* (1992) mengemukakan bahwa CBHI dihasilkan oleh miselium dan menempati lebih dari 60% total protein yang dihasilkan, sedangkan CBHII dihasilkan oleh konidia menempati lebih kurang 15% dari total protein. Penelitian dilakukan dengan menggunakan strain rekombinan dari *T. reesei* yang mengandung gen *cbh2'* untuk menjelaskan mekanisme CBHII dalam memicu pembentukan selulase. Hasilnya menunjukkan bahwa strain yang tidak mengandung gen *cbh2* mampu menghasilkan selulase pada media. Hal ini menunjukkan bahwa CBHII bukan merupakan komponen yang esensial dalam degradasi selulosa. CBHI mampu melakukan hidrolisis awal tanpa adanya CBHII, walaupun dalam laju yang rendah. Selanjutnya dikemukakan bahwa konidia akan berkecambah apabila terdapat pepton dalam media dan miselium segera mengekskresikan selulase yang akan menghidrolisis selulosa. Apabila hifa dapat mensekresikan EGI maka sinergisme antara CBHI dan EGI akan efektif untuk menghasilkan hidrolisis yang optimal, meskipun tanpa adanya CBHII. Selanjutnya Medve *et al.* (1994) mengemukakan bahwa kemampuan CBH untuk mengadsorpsi substrat disebabkan oleh kemampuannya untuk menempati sisi aktif dari substrat tersebut. Apabila kedua enzim tersebut diberikan bersamaan pada suatu substrat ternyata CBHI dapat lebih mampu berkompetisi untuk menempati sisi aktif dari substrat dibandingkan dengan CBHII. Adsorpsi pada sisi yang spesifik untuk CBHI dan CBHII meru-

upakan salah satu faktor yang menyebabkan keefektifan hidrolisis pada selulosa, di samping kemampuannya untuk berkompetisi pada sisi aktifnya. Interaksi sinergisme antara CBHI dan CBHII terlihat pada selulosa amorf dari kristal. Hal ini disebabkan sisi aktif pada selulosa amorf jauh lebih banyak daripada selulosa kristal. Henrissat dan Chanzy (1986) menyatakan bahwa pada tahun 1982 Robinovitch *et al.* telah mengkalisifikasi enzim selulolitik yang memiliki kemampuan untuk terikat pada bagian kristal dari selulosa. Mereka menyimpulkan bahwa kemampuan suatu enzim untuk dapat terikat pada substrat selulosa tergantung dari kemampuannya untuk menghidrolisis sisi kristalinnya.

Kemampuan jenis *Trichoderma* untuk tumbuh pada substrat jerami padi, berangkasan jagung, dan sisa panen kedelai dilakukan terhadap 30 isolat dari Jawa Barat. Tiga puluh isolat *Trichoderma* tersebut juga diuji kemampuannya dalam menghidrolisis substrat selulosa mikrokristalin (Avicel) (Tabel 6).

Dari Tabel 6 tampak bahwa isolat Pan23.1, Pan23.2, Andi2.1, Kun4, dan Gam4 mempunyai aktivitas yang tinggi dalam menghidrolisis selulosa mikrokristal. Isolat-isolat tersebut juga mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan bersporulasi pada ketiga substrat yang diuji. Isolat Pan23.1, Pan23.2, Andi 2.1, Kun4, dan Gam4 dapat disarankan untuk dipakai sebagai bahan percobaan lebih lanjut.

Secara umum isolat *Trichoderma* yang diteliti tidak dapat tumbuh dan bersporulasi dengan baik pada substrat kedelai. Hal ini kemungkinan karena berangkasan kedelai yang digunakan merupakan sisa-sisa ranting yang lebih didominasi oleh lignin.

Kemampuan isolat Pan23.1 (*T. harzianum*) dalam mengekskresi-

kan Fpase, yang menggambarkan aktivitas CBH, CMCase yang menjelaskan aktivitas endoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase serta tumbuh pada substrat jerami padi yang didelignifikasi dan jerami padi yang tidak didelignifikasi sebagai satu-satunya sumber karbon dapat dilihat pada Tabel 7. Selulase secara konsisten selalu diekspresikan dengan aktivitas yang tinggi pada substrat jerami padi yang didelignifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa dengan menghilangkan lignin maka *Trichoderma* tidak memerlukan energi lagi untuk merombak lignin sehingga semua energi yang tersedia hanya terfokus untuk merombak selulosa. Dari ketiga komponen enzim selulase, Fpase selalu diekspresikan dengan aktivitas terendah baik pada jerami padi yang didelignifikasi maupun yang tidak didelignifikasi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena bagian kristalin dari jerami tersebut lebih sedikit dibandingkan dengan bagian amorfnya, sehingga sisi aktif substrat untuk aktivitas Fpase pun jauh lebih sedikit. Pada jerami yang didelignifikasi, aktivitas enzim tertinggi dicapai oleh  $\beta$ -glukosidase (17,63 UI/mg protein).

Mikroba yang dapat tumbuh pada selulosa alami atau selulosa yang dimodifikasi tidak selalu menghasilkan semua komponen selulase dalam media tumbuhnya. Beberapa di antaranya hanya menghasilkan EG dan  $\beta$ -glukosidase sehingga tidak mampu menghidrolisis selulosa alami. Mikroba yang memiliki aktivitas CBH yang mampu menghidrolisis selulosa alami dan enzim ini terutama dimiliki oleh beberapa fungi (Fogarty dan Kelly, 1982). Kemampuan *T. koningii* isolat Pan23.2, Bo16, dan Kun4 untuk mengekskresikan CBH pada tiga macam substrat, yaitu selulosa mikrokristalin (Avicel), jerami padi, dan jerami padi yang

didelignifikasi dengan pH media 4, 5, dan 6 (Tabel 8). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat

Pan23.2 mengekskresikan CBH tertinggi pada selulosa mikrokristal dan jerami padi didelignifikasi,

Kun4 pada jerami padi, sedangkan Bo14 aktivitasnya sangat rendah pada ketiga substrat tersebut. Sedangkan aktivitas selulase total pada ketiga substrat tersebut disajikan pada Tabel 9. Aktivitas selulase total bukan merupakan penjumlahan dari ketiga komponennya tetapi lebih menjelaskan sinergisme di antara ketiga komponen tersebut.

**Tabel 6.** Aktivitas selulolisis isolat-isolat *Trichoderma* pada selulosa mikrokristalin dan kemampuan tumbuhnya pada media jerami padi, berangkasan jagung, dan sisa panen kedelai

Jenis	Isolat	Persentase avicel terhidrolisis	Kemampuan tumbuh			
			jerami padi	jagung	kedelai	
<i>T. harzianum</i>	Kar5.2	48,26	+++	+++	+++	
	Bo1	64,35	+++	+++	++*	
	Bo2	23,48	+++	+++	+++*	
	Bo4	33,04	+++	+++	++	
	Bo12	53,04	-	+++	-	
	Bo16	50,00	+++	+++	++*	
	Pan23.1	70,00	+++	+++	++	
	Bd1	15,00	+++	+++	++*	
	Bd2	33,91	+++	+++	++*	
	Bd3	32,00	-	-	-	
	Bd4	24,00	-	++	-	
	GRT3	32,00	+++	++	++	
	<i>T. koningii</i>	Kar3.6.3	29,00	+++	+++	++
		Kun4	36,40	+++	+++	++
Bo14		17,00	+++	+++	++*	
Bo17		42,00	+++	+++	++*	
Bo42		16,00	++	++	+	
Cia2		17,00	+++	+++	++*	
Pan23.2		40,00	+++	+++	+++*	
<i>T. piluliferum</i>	Bd5.1	19,00	+++	+++	++	
	Bd5.2	20,00	+++	+++	++	
	Andi2.1	56,00	+++	+++	++	
	Bo8	15,00	+++	+++	++	
	Bo15	26,00	+++	+++	++*	
	Bd47	24,00	+++	+++	++*	
<i>T. hamatum</i>	Gam1	55,00	+++	+++	++*	
	Gam2	24,00	+++	+++	++	
	Gam3	16,00	+++	+++	++*	
	Gam4	51,00	+++	+++	++	

Keterangan: +++ = >75% cawan Petri ditumbuhi miselium, ++ = 50-75% cawan Petri ditumbuhi miselium, + = <50% cawan Petri ditumbuhi miselium, - = tidak tumbuh, \* = sporulasi sangat lemah

Sumber: Salma dan Gunarto, 1996a; 1996b; Zaini *et al.*, 1997

**Tabel 7.** Aktivitas Fpase, CMCCase, dan  $\beta$ -glukosidase isolat Pan23.1 pada substrat jerami padi dan jerami padi yang didelignifikasi yang diinkubasi selama 5 hari pada pH media 5

Enzim	Aktivitas enzim pada substrat (UI/mg protein)	
	Jerami padi	Jerami padi yang didelignifikasi
Fpase	3,37	6,44
CMCase	5,67	12,24
$\beta$ -glukosidase	5,35	17,63

Sumber: Salma dan Gunarto, 1998

**Tabel 8.** Aktivitas spesifik tertinggi CBH dari tiga isolat *T. koningii* pada tiga macam substrat, pH media, dan waktu inkubasi tertentu

Isolat	Substrat	Waktu inkubasi (hari)	pH medium	Aktivitas spesifik (UI/mg protein)
Pan23.2	Avicel	4	6	4,50
Pan23.2	Delignifikasi jerami padi	4	5	5,84
Kun4	Jerami padi	6	7	7,63

Sumber: Salma *et al.*, 1998

## KESIMPULAN

- Selulase dapat dihasilkan oleh beberapa mikroba tetapi tidak seluruh mikroba penghasil selulase dapat menghasilkan selulase secara lengkap. *Trichoderma* tergolong salah satu jamur penghasil selulase dengan komponen yang lengkap.
- Selulase terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu: Exo- $\beta$ -1,4-glukanase/Selobiohidrolase/CBH ( $\beta$ -1,4-D glukon 4-selobiohidrolase, EC 3.2.1.91), Endo- $\beta$ -1,4-glukanase (endo- $\beta$ -1,4-D 4-glukanohidrolase, E.C.3.2.1.1), dan  $\beta$ -glukosidase (E.C.3.2.1.21) yang secara sinergis mendegradasi selulosa alami
- Aktivitas selulase pada jerami padi, dapat ditingkatkan bila substratnya menggunakan jerami yang telah didelignifikasi.
- Dari ketiga komponen enzim selulase, selobiohidrolase selalu diekskresikan dengan aktivitas terendah baik pada substrat jerami padi yang didelignifikasi maupun yang tidak didelignifikasi. Pada substrat jerami yang didelignifikasi, aktivitas enzim tertinggi dicapai oleh  $\beta$ -glukosidase (17,63 UI/mg protein).
- Aktivitas selulase total bukan merupakan penjumlahan dari ketiga komponennya tetapi menjelaskan sinergisme di antara ketiga komponen tersebut.

**Tabel 9.** Aktivitas spesifik selulase total tertinggi dari isolat *T. koningii* pada berbagai substrat, pH media, dan waktu inkubasi tertentu

Isolat	Substrat	Waktu inkubasi (hari)	pH media	Aktivitas spesifik (U/mg protein)
Pan23.2	Avicel	5	7	0,98
Pan23.2	Delignifikasi jerami	5	5	3,30
Kun4	Jerami	4	4	2,01

Sumber: Salma *et al.*, 1998

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M.** 1977. Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons. New York.
- Bastawde, K.B.** 1992. Cellulolytic enzymes of a thermotolerant *Aspergillus terreus* strain and their action on cellulosic substrate. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 8.
- Beguín, P., N.R. Gilkes, D.G. Kilburn, R.C. Miller, G.P. O'Neill, and R.A.J. Warren.** 1987. Cloning of cellulase genes. Critical Reviews in Biotechnology. Issue 2(6):129-162.
- Bisaria, V.S. and S. Mishra.** 1989. Regulatory aspects of cellulase biosynthesis and secretion. Critical Reviews in Biotechnology. Issue 2(9):61-103.
- Coughlan, M.P.** 1985. The Properties of fungal and bacterial cellulase with comment on their production and application. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. 3:39-109.
- Danielson, R.M. and Davey, C.B.** 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. Soil Biol. Biochem. 5:485-494.
- Enari, T.M.** 1983. Microbial cellulases. In Fogarty (Ed.). Microbial Enzymes and Biotechnology. Appl. Science Publisher. New York. Pp. 183-219.
- Enari, T.M. and M.L.L. Paavola.** 1987. Enzymatic hydrolysis of cellulose: Is The Current Theory of The Mechanisms of Hydrolysis Valid?. Critical Reviews In Biotechnology. Issue 1(5):67-87.
- Fogarty, W.M. and C.T. Kelly.** 1982. Developments in microbial extracellular enzymes In Wiseman (Ed.). Topics in Fermentation Biotechnology 3. John Wiley and Sons. New York. Pp. 57-61.
- Goksoyr, J. and J. Eriksen.** 1980. Cellulases. Rose (Ed.). Microbial Enzymes and Bioconversion. Acad. Press. London. Pp. 283-320.
- Henrissat, B. and H. Chanzy.** 1986. Enzymatic breakdown of cellulose crystals. In Young and Rowell (Eds.). Cellulose, Structure, Modification, and Hydrolysis. John Wiley and Sons. New York. Pp. 337-347.
- Irawadi, T.T., H.S. Rukmini, dan I. Mapiliandari.** 1992. Teknik pemurnian selulase. PAU-Bioteknologi IPB.
- Labudova, I. and Farkas, V.** 1983. Multiple enzyme forms in the cellulase system of *Trichoderma reesei* during its growth on cellulose. J. Appl. Biochem. 7:138.
- Medve, J., J. Stahlberg, and F. Tjerneld.** 1994. Adsorption and synergism of cellobiohydrolase I and II of *Trichoderma reesei* during hydrolysis of microcrystalline cellulose. biotechnology and bioengineering. John Wiley and Sons. 44:1064-1073.
- Messner, R., F. Grubber, and C.P. Kubicek.** 1988. Differential regulation of synthesis of multiple forms of specific endoglucanases by *Trichoderma reesei* QM9414. J. Bacteriol. 170:3689.
- Montenecourt, B.S. and D.E. Eveleigh.** 1985. Fungal carbohydrases: Amylases and Cellulases. Bennet dan Lasure (Eds.). Gene Manipulation in Fungi. John Wiley and Sons. New York. P. 491.
- Niku-Paavola, M.L., A. Lappalainen T.M. Enari, and M.A. Nummi.** 1985. A new appraisal of the endoglucanases of the fungus *Trichoderma reesei*. Biochem. J. 231:75.
- Preston, R.D.** 1986. Natural cellulose. In Young dan Rowell (Eds.). Cellulose, Structure, Modification, and Hydrolysis. John Wiley and Sons. New York. Pp. 337-347.
- Rexen, F., P. Stigsen, and A.N. Sorensen.** 1976. Improvement of indian straw and baggase for cattle feeds by alkaline treatment, using a dry process technique. Report to Council for Development Research, Danida.
- Rifai, M.A.** 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116:1-56.
- Salma, S. dan L. Gunarto.** 1996a. Aktivitas isolat *Trichoderma* dalam perombakan selulosa. Penelitian Pertanian 15:43-47.
- Salma, S. dan L. Gunarto.** 1996b. Pemanfaatan mikroba selulolitik. Laporan APBN 1995/96.
- Salma, S. and L. Gunarto.** 1998. Cellulase enzyme of *Trichoderma harzianum* grown in rice straw medium: I. Cellulase activity produced by *Trichoderma harzianum* grown in delignified and non delignified rice straw medium at several pH conditions. J. Biotek. Pertanian (submitted).
- Salma, S., E.I. Riyanti, and L. Gunarto.** 1998. Excretion of cellobiohydrolase from *Trichoderma koningii* grown in three sources of cellulose at several levels of pH. J. Biotek. Pertanian (submitted).
- Sasaki, T.** 1982. Enzymatic saccharification of rice hull cellulose. JARQ, 16(2):144.
- Seiboth, B., R. Messner, F. Gruber, and C.P. Kubicek.** 1992. Disruption of the *Trichoderma reesei* *cbh2* gene coding for cellobiohydrolase II leads to a delay in the triggering of cellulase formation by cellulose. J. of Gen. Microbiol. 138:1259-1264.
- Sternberg, D.** 1976. Production of cellulose by *Trichoderma viride*. In Gaden Jr. (Ed.). Enzyme Conversion of Cellulose Material. Tech. and Appl. Interscience Publ. John Wiley and Sons. New York.

Wood, T.M. 1959. The Cellulase of *Fusarium solani*: Resolution of The Enzyme Complex. *Biochem. J.* 115:457.

Wood, T.M., S.I. McCrae, C.A. Wilson, K.M. Bath, and L.A. Gow. 1988. Aerobic and anaerobic fungal cellulase, with special reference to

their mode of attack on crystalline cellulose. In Aubert *et al.* (Eds.). *Proc. FEMS Symp. Biochem. Genet. Cellulose Degradation.* Acad. Press. New York.

Zaini, Z., L. Gunarto, D.S. Slamet, dan J.K. Murtirini. 1997. Inokulasi *Trichoderma* dan sistem usaha tani

terpadu dalam usaha peningkatan produktivitas lahan marginal serta gizi keluarga tani di Kecamatan Maubisse, Timor Timur. Laporan akhir RUT, Kantor Menristek dan DRN-Bapenas-LIPI-BPPT. 79 hlm.

---