

## Isolasi dan Karakterisasi Enzim Karbohidrase Cairan Rumen Sapi Asal Rumah Potong Hewan

### Isolation and Characterization of Carbohydrases in Beef Cattle Rumen Liquor from Abattoir

A. Budiansyah<sup>a\*#</sup>, Resmi<sup>b</sup>, K. G. Wiryawan<sup>c#</sup>, M. T. Soehartono<sup>d</sup>, Y. Widyastuti<sup>e</sup>, & N. Ramli<sup>c#</sup>

<sup>a</sup>Program Studi Ilmu Ternak, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

<sup>b</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Jambi

Kampus Pinang Masak, Mendalo Darat-Jambi 36361

<sup>d</sup>Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

<sup>e</sup>Jln. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>d</sup>Departemen Ilmu Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>e</sup>Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI

Jln. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911

(Diterima 23-10-2009; disetujui 15-02-2010)

### ABSTRACT

The aims of this experiment were to identify carbohydrases in rumen liquor of cattle, and to determine optimum temperature and pH of enzymes, as well as to evaluate the effect of metal ions and chemical substances on enzymes activity. Optimum precipitation of the enzymes from local and imported cattle was reached at the concentration of 60% and 70% of ammonium sulphate, respectively. The enzymes (xylanase, mannanase, and amylase) had optimum temperature in the range of 50–60 °C, except for cellulase from imported cattle which had optimum temperature at 39 °C, optimum pH of the enzymes were 6–7 except for cellulase was at pH 4. The enzymes mostly needed methal ions as activators. EDTA and  $\beta$ -mercaptoethanol inhibited activity of cellulase from rumen liquor of local cattle, while enzymes from rumen liquor of imported cattle EDTA inhibited xylanase activity and  $\beta$ -mercaptoethanol inhibited mannanase and amylase activity. Activity of cellulase in rumen liquor of local cattle was higher than those of imported cattle. It is concluded that rumen liquor of imported and local cattles from abattoir contained cellulase, xylanase, mannase and amylase that most of them had optimum temperature and pH at 50-60 °C and 6-7, respectively, and they needed methal ions as activators.

*Key words: cattle, rumen liquor, abattoir, enzymes, characterization*

### PENDAHULUAN

Isi rumen sapi yang berasal dari limbah rumah potong hewan (RPH) cukup melimpah. Jika tidak ditangani dengan baik limbah ini berpotensi mencemari lingkungan. Limbah rumen ini di sisi lain berpotensi sebagai sumber enzim yang dapat menggantikan sebagian enzim komersial dalam mengatasi kendala pakan unggas berkualitas rendah. Penelitian pemanfaatan isi rumen sapi sebagai pakan unggas sampai saat ini terbatas hanya pada bagian padatan, sedangkan cairan rumen sapi (CRS) sebagai pakan tambahan dan pakan suplemen belum dilakukan secara mendalam. Selama

ini isi rumen hanya dibuang percuma dan tidak dimanfaatkan, hanya sebagian kecil saja yang memanfaatkannya sebagai kompos.

Berdasarkan data Statistik Peternakan (2007), jumlah sapi yang dipotong setiap tahun tidak kurang dari 1,75 juta ekor, sekitar 1,5 juta ekor berasal dari sapi-sapi lokal, dan sisanya adalah sapi-sapi impor. Jumlah cairan rumen mencapai 31 liter per ekor (Priego *et al.*, 1977). Berdasarkan sapi-sapi yang dipotong tersebut potensi cairan rumen sapi mencapai 54,25 juta liter per tahun. Beberapa peneliti melaporkan bahwa cairan rumen sapi hidup kaya akan selulase, amilase, protease, xilanase dan lain-lain (Lee *et al.*, 2002; Morgavi *et al.*, 2000). Lee *et al.* (2002) melaporkan cairan rumen sapi hidup yang diberi makan ransum berbasis hay alfalfa mengandung selulase sebesar 362,7 $\pm$ 12,8 IU/ml, xilanase sebesar 528,6 $\pm$ 29,03 IU/ml, amilase sebesar 439,0 $\pm$ 16,53 IU/ml, dan protease sebesar 84,8 $\pm$ 2,52 IU/ml. Aktivitas enzim-enzim tersebut cukup tinggi.

\* Korespondensi:

Fakultas Peternakan, Universitas Jambi  
Kampus Pinang Masak, Mendalo Darat-Jambi 36361  
e-mail: budiansyah\_agus@yahoo.com

Meng *et al.* (2005) melaporkan bahwa penggunaan enzim dengan dosis 94 unit aktivitas selulase, 6360 unit aktivitas xilanase, dan 1090 unit aktivitas mananase per kg ransum dapat memperbaiki performa ayam broiler. Alam *et al.* (2003) melaporkan bahwa penggunaan enzim komersial "Roxazyme G" dalam ransum dengan dosis 800 unit aktivitas selulase, 2600 unit aktivitas xilanase dan 1800 unit aktivitas  $\beta$ -glukanase per kilogram juga sudah dapat memperbaiki performa ayam broiler. Hal tersebut berarti bahwa penggunaan enzim cairan rumen sapi kurang lebih sebanyak 4-12 ml per kg ransum sudah cukup untuk memperbaiki performa ayam broiler.

Berbeda dengan sapi hidup, sapi yang akan dipotong umumnya dipuaskan sehingga jumlah dan kualitas enzim yang dihasilkan akan berbeda. Berkaitan dengan hal ini, dalam rangka memanfaatkan cairan rumen sapi asal RPH sebagai sumber enzim untuk meningkatkan kualitas pakan ternak, kondisi optimum aktivitas enzim perlu diketahui agar penggunaannya dapat disesuaikan dengan kondisi suhu, pH, dan pengaruh ion-ion logam yang optimum. Kondisi optimum aktivitas enzim ketika masih di dalam rumen kemungkinan berbeda dengan kondisi optimum aktivitas enzim bila sudah berada di luar tubuh sapi. Suhu di dalam rumen sapi dalam keadaan normal rata-rata 38,54 °C dengan kisaran suhu 36,70-39,87 °C (AlZahal *et al.*, 2008), dan pH berkisar 5,2-6,7 (Khampa *et al.*, 2006). Oleh karena itu kajian tentang karakteristik (kondisi optimum) enzim-enzim karbohidrase pada cairan rumen sapi asal RPH tersebut penting dilakukan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi enzim karbohidrase dalam cairan rumen sapi asal RPH, menentukan suhu dan pH optimum enzim serta mengevaluasi pengaruh ion-ion logam dan bahan kimia terhadap aktivitas enzim dari cairan rumen sapi asal RPH agar bisa dijadikan sebagai sumber enzim dalam campuran ransum unggas berbahan baku pakan lokal.

## MATERI DAN METODE

### Persiapan Enzim Cairan Rumen

Isi rumen sapi lokal dan sapi impor diambil dari sapi yang dipotong di RPH Bogor. Pengambilan sampel isi rumen dari masing-masing sapi lokal maupun sapi impor dilakukan dalam dua kali ulangan dan setiap ulangan diambil dari sampel yang berasal dari 3-5 ekor sapi.

Cairan rumen diambil dari isi rumen sapi dengan cara filtrasi dibawah kondisi dingin. Cairan hasil filtrasi disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 g selama 10 menit pada suhu 4 °C untuk memisahkan supernatan dari sel-sel dan isi sel mikroba (Lee *et al.*, 2000). Supernatan kemudian diambil sebagai sumber enzim kasar.

### Penentuan Persentase Pemakaian Amonium Sulfat

Supernatan yang terdiri atas enzim-enzim selanjutnya direaksikan dengan amonium sulfat pada beberapa level konsentrasi dan diaduk menggunakan magnetik stirer selama kurang lebih 1 jam, dan kemudian dididamkan semalam pada suhu 4 °C. Tingkat kejenuhan

amonium sulfat yang dicobakan adalah 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Supernatan kembali disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 g selama 15 menit pada suhu 4 °C. Endapan (enzim) yang diperoleh diambil kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7,0 dengan perbandingan 10:1 (endapan dari 100 ml supernatan cairan rumen dilarutkan dalam 10 ml buffer fosfat pH 7,0) tanpa dilakukan pemurnian. Enzim dalam buffer kemudian disimpan pada lemari pendingin untuk diukur aktivitas dan karakterisasinya.

### Uji Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim selulase (Fpase), xilanase, dan amilase diukur dengan mengikuti metode Moharrery & Das (2002), dan enzim mananase diukur dengan metode Hossain *et al.* (1996). Substrat yang digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim adalah kertas saring Whatman nomor 1 untuk substrat enzim selulase, *oats spelt xilan* untuk substrat enzim xilanase, pati untuk substrat enzim amilase dan *locus bean gum* untuk substrat enzim mananase.

### Penentuan Nilai Recovery Produksi Enzim

Angka atau nilai *recovery* produksi enzim dihitung dengan membandingkan total aktivitas enzim setelah pengendapan dengan total aktivitas enzim sebelum pengendapan dengan amonium sulfat yang berasal dari 100 ml cairan rumen dan dikalikan dengan 100%.

### Karakterisasi Enzim

Penentuan pH optimum dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada buffer universal pada pH 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; dan 9,0. Penentuan suhu optimum dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim pada suhu 29, 39, 50, 60, 70 dan 80 °C dalam 0,05 M buffer fosfat pH 7,0. Pengaruh bahan kimia (ion-ion logam dan senyawa inhibitor) diuji dengan mengukur aktivitas enzim dalam bahan-bahan kimia pada konsentrasi 1mM:  $\beta$ -merkaptotanol, EDTA,  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2$ , dan  $\text{CaCl}_2$ . Pengujian dilakukan dengan menginkubasikan 100 ul enzim dengan 100 ul larutan bahan kimia selama 10 menit pada suhu ruang (Bakare *et al.*, 2005). Data yang diperoleh dari peubah yang diamati dilakukan analisis statistik berdasarkan analisis deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Enzim dalam Cairan Rumen Sapi

Pemilihan konsentrasi optimum amonium sulfat dilakukan berdasarkan pengukuran aktivitas enzim tertinggi. Taraf pengendapan optimum paling banyak pada cairan rumen sapi (CRS) lokal terjadi pada konsentrasi garam amonium sulfat 60%, yaitu pada enzim selulase, xilanase, amilase dan fitase, sedangkan pada CRS impor pengendapan optimum paling banyak terjadi pada konsentrasi garam amonium sulfat 50% (mananase dan amilase) dan 70% (selulase dan fitase), sedangkan

xilanase pada konsentrasi garam amonium sulfat 60% dan protease pada konsentrasi garam amonium sulfat 80% (Tabel 1).

Terjadi peningkatan aktivitas enzim setelah perlakuan pengendapan. Peningkatan enzim karbohidrase tertinggi pada CRS lokal terjadi pada selulase, yaitu 4,40 kali, sedangkan pada CRS impor adalah pada xilanase, yaitu 3,65 kali dibandingkan sebelum perlakuan pengendapan (Tabel 1).

Morgavi *et al.* (2000) melaporkan bahwa taraf pengendapan optimum amonium-sulfat adalah 80% untuk selulase dan xilanase CRS, baik sapi yang diberi makan ransum rendah serat maupun ransum tinggi serat. Namun demikian, Pantaya (2003) mendapatkan aktivitas optimum xilanase CRS pada taraf pengendapan dengan amonium sulfat pada tingkat kejenuhan 70% dari sapi-sapi impor asal Australia (Australian Commercial Cross /ACC) yang diberi makan 70% konsentrat. Perbandingan komposisi hijauan dan konsentrat yang diberikan dalam pakan sapi terlihat memberikan pengaruh pada tingkat kejenuhan optimum enzim CRS terhadap garam amonium sulfat. Sapi-sapi lokal umumnya diberi makan lebih banyak hijauan yang mengandung serat kasar tinggi, sedangkan sapi-sapi impor diberi makan lebih banyak konsentrat sebagai sumber karbohidrat mudah tersedia. Aktivitas enzim cairan rumen pada penelitian ini juga lebih rendah daripada aktivitas enzim cairan rumen pada sapi yang masih hidup yang dilaporkan oleh Lee *et al.* (2002).

Pengendapan dengan amonium sulfat didasarkan pada persamaan sifat kepolaran dari amonium sulfat dan air. Penambahan garam amonium sulfat ke dalam larutan protein akan merusak mantel dan menarik molekul air dari sekitar permukaan molekul protein, akibatnya protein tidak lagi terlindungi molekul air melainkan beragregasi dengan sesamanya dan kemudian mengendap (Scope, 1987). Dengan demikian semakin

banyak jumlah protein di dalam larutan akan semakin banyak garam amonium sulfat yang dibutuhkan untuk mengendapkan protein. Hasil pengukuran terhadap jumlah rendeman menunjukkan CRS impor lebih tinggi, yaitu 13,5 ml dibandingkan dengan CRS lokal, yaitu 13,2 ml. Demikian juga kandungan protein CRS impor lebih tinggi, yaitu 0,3427 mg/ml dibanding kandungan protein CRS lokal, yaitu sebesar 0,2651 mg/ml. Hal ini diduga karena kecepatan pembentukan protein enzim pada CRS impor lebih tinggi daripada CRS lokal. Selain itu protein pakan yang terlarut dalam CRS impor lebih tinggi daripada CRS lokal. Pakan konsentrat lebih mudah terdegradasi. Akibatnya protein pakan yang terlarut lebih banyak, pembentukan protein mikroba lebih cepat dan jumlah protein mikroba lebih banyak di dalam cairan rumennya, sehingga protein enzim yang dihasilkan juga lebih banyak. Sebaliknya hijauan dan makanan kasar lainnya, lebih sulit terdegradasi sehingga protein pakan yang terlarut lebih sedikit, pembentukan protein mikroba akan lebih lambat dan jumlah protein mikroba lebih sedikit di dalam cairan rumennya, sehingga protein enzim yang dihasilkan juga lebih sedikit. Oleh karena itu, kandungan protein pada CRS impor lebih tinggi dan jumlah garam amonium sulfat yang dibutuhkan dalam pengendapan lebih banyak dibandingkan dengan CRS lokal.

Berdasarkan hasil di atas, pengendapan enzim CRS lokal dengan garam amonium sulfat pada tahap selanjutnya dilakukan pada konsentrasi 60%, sedangkan CRS impor pada konsentrasi 70%.

### Recovery Produksi Enzim

Volume enzim CRS lokal yang didapatkan dari 100 ml supernatan cairan rumen sapi setelah dilakukan pengendapan dengan garam amonium sulfat dan penambahan buffer fosfat sebanyak 10 ml, adalah 13,2

Tabel 1. Aktivitas enzim cairan rumen sapi (CRS) sebelum dan sesudah pengendapan dengan amonium sulfat

Enzim	Pengendapan optimum (%)	Aktivitas enzim CRS ( $\mu\text{mol/ml/menit}$ )		Kenaikan ( $\mu\text{mol/ml/menit}$ )/ (kali lipat)
		Sebelum pengendapan	Sesudah pengendapan	
<b>Sapi lokal</b>				
Selulase	60	0,0487 $\pm$ 0,0123	0,2141 $\pm$ 0,0943	0,1654 (4,40 kali)
Xilanase	60	0,5086 $\pm$ 0,0188	1,2129 $\pm$ 0,3955	0,7043 (2,38 kali)
Mananase	70	3,6500 $\pm$ 1,1941	5,8600 $\pm$ 2,7484	2,2100 (2,38 kali)
Amilase	60	3,0200 $\pm$ 0,0797	5,0150 $\pm$ 0,8556	1,9950 (1,61 kali)
Fitase	60	0,3559 $\pm$ 0,1834	1,0561 $\pm$ 0,4172	0,7002 (2,97 kali)
Protease	80	0,0177 $\pm$ 0,0069	0,0403 $\pm$ 0,0193	0,0226 (2,28 kali)
<b>Sapi impor</b>				
Selulase	70	0,0428 $\pm$ 0,0141	0,0938 $\pm$ 0,0489	0,0510 (2,19 kali)
Xilanase	60	0,3389 $\pm$ 0,1717	1,2386 $\pm$ 0,5857	0,8997 (3,65 kali)
Mananase	50	2,4400 $\pm$ 1,4608	6,1667 $\pm$ 2,8152	3,7267 (2,53 kali)
Amilase	50	2,3850 $\pm$ 1,6758	6,2150 $\pm$ 2,7365	3,8300 (2,61 kali)
Fitase	70	0,2130 $\pm$ 0,1017	0,9432 $\pm$ 0,2114	0,7302 (4,43 kali)
Protease	80	0,0251 $\pm$ 0,0133	0,0700 $\pm$ 0,0442	0,0449 (2,79 kali)

Tabel 2. *Recovery* produksi enzim cairan rumen sapi (CRS) setelah dilakukan pengendapan

Enzim	Enzim CRS lokal			Enzim CRS impor		
	Total aktivitas enzim ( $\mu\text{mol}/\text{menit}$ )		<i>Recovery</i> enzim (%)	Total aktivitas enzim ( $\mu\text{mol}/\text{menit}$ )		<i>Recovery</i> enzim (%)
	Sebelum pengendapan	Setelah pengendapan		Sebelum pengendapan	Setelah pengendapan	
Selulase	4,87 $\pm$ 1,23	2,78 $\pm$ 1,24	58,03	4,27 $\pm$ 1,41	1,27 $\pm$ 0,66	29,59
Xilanase	50,88 $\pm$ 1,88	16,01 $\pm$ 5,22	31,48	33,89 $\pm$ 17,17	16,72 $\pm$ 7,91	49,33
Mananase	365,00 $\pm$ 119,41	77,35 $\pm$ 36,27	21,19	244,00 $\pm$ 146,08	83,25 $\pm$ 38,01	34,12
Amilase	302,00 $\pm$ 7,07	66,20 $\pm$ 11,29	21,92	238,50 $\pm$ 167,58	83,90 $\pm$ 23,01	35,18
Fitase	35,59 $\pm$ 18,34	13,94 $\pm$ 5,51	39,17	21,30 $\pm$ 10,17	12,73 $\pm$ 2,85	59,78
Protease	1,77 $\pm$ 0,69	0,53 $\pm$ 0,25	30,05	2,51 $\pm$ 1,33	0,95 $\pm$ 0,59	37,65

ml, sedangkan volume enzim CRS impor didapatkan sebanyak 13,5 ml. Hasil perhitungan *recovery* produksi enzim setelah pengendapan (Tabel 2) pada enzim CRS lokal, *recovery* produksi enzim karbohidrase tertinggi adalah pada selulase sebesar 57,11%, sedangkan pada enzim CRS impor *recovery* produksi enzim karbohidrase tertinggi didapatkan pada xilanase sebesar 49,33%. *Recovery* produksi enzim pemecah serat (selulase) terbanyak adalah pada enzim asal cairan rumen sapi lokal, sedangkan *recovery* produksi enzim pemecah karbohidrat dari konsentrat (xilanase, mananase, dan amilase) lebih banyak didapatkan pada enzim asal cairan rumen sapi impor. Keadaan ini sangat berkaitan dengan jenis pakan yang diberikan. Sapi lokal yang mendapatkan pakan serat lebih tinggi dibanding sapi impor maka akan menghasilkan selulase lebih banyak, sedangkan

sapi impor yang lebih banyak mendapatkan karbohidrat asal konsentrat dalam pakan akan menghasilkan lebih banyak xilanase, mananase, dan amilase. Lee *et al.* (2008) mendapatkan *recovery* enzim selulase yang diisolasi dari bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* sebesar 43,7%, sedangkan Bakare *et al.* (2005) mendapatkan *recovery* enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens* asal cairan rumen sebesar 57%–64%. Angka *recovery* produksi enzim dalam penelitian ini relatif sama dengan laporan Bakare *et al.* (2005) dan lebih tinggi dari Lee *et al.* (2008).

### Karakterisasi Enzim

Karakteristik enzim CRS terdapat pada Tabel 3 dan Gambar 1 sampai 12. Selulase asal CRS lokal mempu-

Tabel 3. Karakteristik enzim-enzim cairan rumen sapi (CRS) asal rumah potong hewan

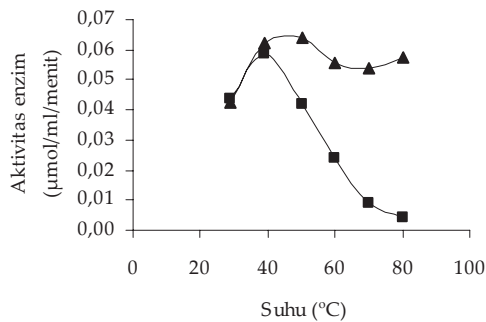
Parameter	Enzim-enzim CRS			
	Selulase	Xilanase	Mananase	Amilase
<b>Sapi lokal</b>				
Suhu optimum	50 °C	60 °C	50 °C	50 °C
pH optimum	pH 4	pH 7	pH 7	pH 6
Kation/senyawa berpengaruh positif	Fe, Mg, Mn, Zn, Cu, Co, dan Ca	Fe, Mg, Mn, Zn, Co, dan EDTA, $\beta$ -merkaptotanol	Mg, Mn, Zn, Cu, Co, Ca, EDTA, $\beta$ -merkaptotanol	Fe, Mg, Mn, Zn, Cu, Co, Ca, $\beta$ -merkaptotanol
Kation/senyawa berpengaruh negatif	EDTA $\beta$ -merkaptotanol	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Kation/senyawa tidak berpengaruh	Tidak ada	Cu, Ca	Fe	EDTA
<b>Sapi impor</b>				
Suhu optimum	39 °C	50 °C	60 °C	50 °C
pH optimum	pH 4	pH 7	pH 6	pH 7
Kation/senyawa berpengaruh positif	Fe, Mg, Mn, Zn, Co, EDTA, $\beta$ -merkaptotanol	Fe, Mg, Mn, Zn, Cu, Co, Ca, $\beta$ -merkaptotanol	Fe, Mg, Mn, Zn, Cu, Co, dan Ca	Fe, Zn, Mg, Mn, EDTA
Kation/senyawa berpengaruh negatif	Tidak ada	EDTA	$\beta$ -merkaptotanol	$\beta$ -merkaptotanol
Kation/senyawa tidak berpengaruh	Cu	Tidak ada	EDTA	Cu, Co, Ca

nyai suhu optimum 50 °C, lebih tinggi dari selulase asal CRS impor (39 °C) (Gambar 1), demikian juga dengan xilanase (60 °C vs 50 °C) (Gambar 2). Sebaliknya dengan mananase, suhu optimum mananase CRS lokal lebih rendah dari CRS impor (50 °C CRS lokal vs 60 °C CRS impor) (Gambar 3). Amilase CRS baik asal sapi lokal maupun sapi impor mempunyai suhu optimum yang sama, yaitu pada suhu optimum 50 °C (Gambar 4). Suhu optimum di atas berbeda dengan keadaan di dalam rumen sapi asal enzim maupun di dalam tubuh unggas. Suhu rata-rata di dalam rumen sapi adalah 38,54 °C (AlZahal *et al.*, 2008); 38,3-39,4 °C (AlZahal *et al.*, 2009); sedangkan suhu di dalam saluran pencernaan ayam adalah 41,5 °C (bervariasi dari 40 °C sampai 42 °C) (Causey, 2000). Walaupun suhu optimum didapatkan berbeda dengan keadaan suhu di dalam saluran pencernaan unggas, diharapkan enzim tetap dapat bekerja dengan baik karena enzim tersebut berasal dari rumen sapi yang suhu lingkungannya hampir sama dengan di dalam saluran pencernaan unggas.

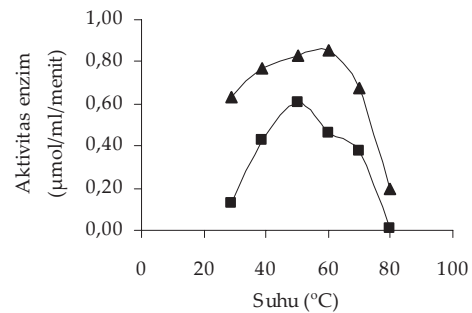
Suhu optimum untuk kerja enzim bervariasi tergantung pada jenis mikroorganisme penghasil enzim tersebut. Suhu optimum enzim selulase CRS lokal adalah 50 °C, sedangkan selulase CRS impor adalah 39 °C. Lee *et al.* (2008) mendapatkan suhu optimum selulase dari *B. amyloliquefaciens* adalah 50 °C, sama dengan suhu optimum selulase CRS lokal, sedangkan Morgavi *et al.* (2000) dan Lee *et al.* (2002) mendapatkan suhu optimum selulase dari cairan rumen sapi adalah 39 °C, sama dengan yang didapat pada CRS impor. Berbagai jenis mikroba penghasil enzim hidup di dalam rumen, baik dari jenis bakteri, protozoa maupun fungi, dan yang berperan dominan dalam mendegradasi pakan adalah bak-

teri, sedangkan protozoa hanya sekitar 25%–30% (Lee *et al.*, 2000). Selulase cairan rumen dihasilkan oleh bakteri *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, dan *Butyrivibrio fibrosolvens* (Miron *et al.*, 2001; Perez, 2004), paling banyak dihasilkan oleh bakteri *R. albus* dan *R. flavefaciens* (59,8%), kemudian diikuti oleh bakteri *F. succinogenes* (19%), dan *B. fibrosolvens* (11,1%) (Perez, 2004).

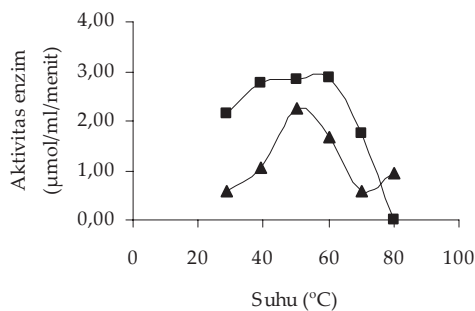
Suhu optimum xilanase CRS lokal didapat pada suhu 60 °C, sedangkan pada CRS impor adalah 50 °C. Hasil ini berbeda dengan Pantaya (2003) yang mendapat suhu optimum xilanase asal CRS impor (ACC) pada suhu 40 °C, Lee *et al.* (2002) dan Morgavi *et al.* (2000) pada suhu 39 °C; sedangkan Utarti (2000) yang mengisolasi enzim dari bakteri *Bacillus sp.* M-35 mendapatkan suhu optimumnya pada suhu 50 °C. Enzim xilanolitik cairan rumen dihasilkan oleh bakteri-bakteri, antara lain *R. albus*, *R. flavefaciens*, *B. fibrosolvens*, *Prevotella (Bacteroides) ruminicola* (Kamra, 2005), *P. ruminicola*, *Prevotella bryantii*, dan *Prevotella albensis* (Perez, 2004). Walaupun jenis bakterinya berbeda, Howard *et al.* (2003) mendapatkan suhu optimum mananase yang diisolasi dari bakteri *Bacillus subtilis*, yaitu pada suhu 50–60 °C, kurang lebih sama dengan suhu optimum mananase CRS lokal, yaitu 50 °C dan CRS impor, yaitu 60 °C; sedangkan Freer (1993) yang mengisolasi amilase dari bakteri rumen *Streptococcus bovis* juga mendapatkan suhu optimum yang sama dengan suhu optimum amilase CRS lokal maupun CRS impor, yaitu pada suhu 50 °C. Demikian juga Ajayi & Fagade (2007) mendapatkan suhu optimum untuk assay amilase dari bakteri *Bacillus sp.* adalah antara 40 dan 50 °C. Mikroba rumen penghasil enzim mananase antara lain adalah *P. ruminicola* dan



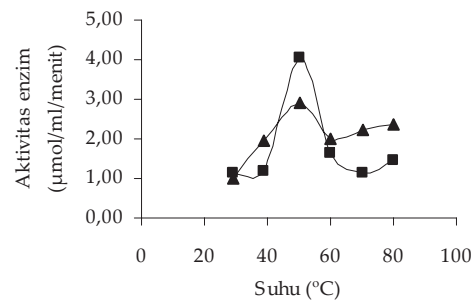
Gambar 1. Suhu optimum inkubasi selulase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



Gambar 2. Suhu optimum inkubasi xilanase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



Gambar 3. Suhu optimum inkubasi mananase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



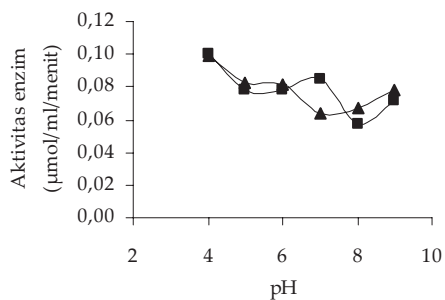
Gambar 4. Suhu optimum inkubasi amilase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)

*Promyces sp* (Krause *et al.*, 2003), juga *P. bryantii* (Fields & Russel, 2001); sedangkan mikroba penghasil enzim amilase antara lain adalah *S. bovis*, *Clostridium butyricum*, *Bacteroides amylophilus* (McWethy & Hartman, 1977), *Bacteroides ruminicola*, *B. fibrisolvens*, dan *Selonomonas ruminantium* (Cotta, 1988). Bakteri yang menghasilkan aktivitas amilase paling tinggi adalah *Ruminobacter (Bacterodes) amylophilus*, diikuti *S. bovis*, dan *B. fibrosolven* (Cotta, 1988).

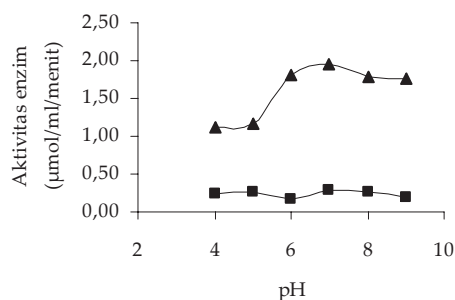
Nilai pH optimum xilanase, mananase, dan amilase berkisar pada pH 6-7 (Gambar 5-7), kecuali selulase yang mempunyai pH optimum pada penambahan larutan buffer universal pH 4 (Gambar 8), namun kondisi lingkungan sebenarnya dalam reaksi inkubasi selulase adalah pada pH 5,15. Beberapa peneliti mendapatkan pH optimum enzim yang beragam, tetapi pH tersebut dalam kisaran yang sama dengan yang dihasilkan dalam penelitian ini. Morgavi *et al* (2000) mendapatkan bahwa hidrolisis serat oleh selulase berkisar antara pH 4,5 sampai pH 6,5, tetapi yang paling baik pH 5,0-6,5, pada pH di atas 6,5 aktivitas selulase turun dan tersisa 40%, sedangkan Lee *et al.* (2008) mendapatkan pH optimum selulase dari bakteri *B. amyloliquefaciens* pada pH 7. Nilai pH optimum xilanase cairan rumen didapatkan pada 6,0-6,5 (Morgavi *et al.*, 2000), dan pH 7 (Pantaya, 2003); pH optimum mananase dari bakteri *B. subtilis* didapatkan pada pH 5-7 (Howard *et al.*, 2003), dari bakteri *Bacillus sp.* pada pH 5,5-7,0 (Chao *et al.*, 2001), juga dari bakteri *Bacillus sp.* pada pH 7 (He *et al.*, 2008); sedangkan pH optimum amilase dari bakteri *S. bovis* adalah pada pH 5,0-6,0 (Freer, 1993), dan dari bakteri *B. amylophilus* pada pH 6,3 (McWethy & Hartman, 1977).

Pengaruh ion-ion logam dan senyawa kimia menunjukkan bahwa pada enzim pencerna karbohidrat (karbohidrase) asal CRS lokal, semua ion-ion logam yang diujikan tidak menurunkan aktivitas enzim (Gambar 9-12). Beberapa ion logam diperlukan sebagai aktivator enzim seperti ion  $Cu^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Zn^{++}$ , dan  $Cu^{++}$  pada selulase,  $Mn^{++}$  dan  $Co^{++}$  pada xilanase,  $Co^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ , dan  $Mn^{++}$  pada mananase, dan  $Co^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Zn^{++}$ , dan  $Mg^{++}$  pada amilase.  $\beta$ -merkaptotanol dan EDTA hanya menurunkan aktivitas selulase, sedangkan xilanase, mananase, dan amilase tidak dihambat oleh adanya  $\beta$ -merkaptotanol dan EDTA. Semua ion-ion logam yang diujikan pada enzim-enzim karbohidrase asal CRS impor tidak menghambat aktivitas enzim. Beberapa ion logam dapat berfungsi sebagai aktivator antara lain seperti  $Co^{++}$  dan  $Fe^{++}$  pada selulase,  $Mn^{++}$ ,  $Co^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$ , dan  $Zn^{++}$  pada xilanase,  $Cu^{++}$ ,  $Co^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , dan  $Mn^{++}$  pada mananase, dan  $Fe^{++}$  dan  $Zn^{++}$  pada amilase.  $\beta$ -merkaptotanol hanya sedikit menurunkan aktivitas mananase dan amilase, sedangkan EDTA sedikit menurunkan aktivitas xilanase.

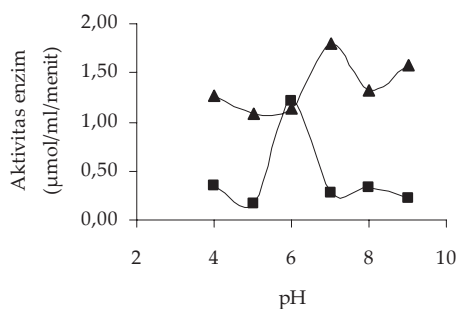
Sebagai implikasi dari keadaan di atas dalam kaitannya dengan penggunaan enzim cairan rumen sebagai *feed additive* dalam campuran pakan unggas, maka penambahan mineral-mineral ke dalam pakan atau ransum tidak akan mempengaruhi aktivitas enzim, bahkan beberapa mineral dapat berfungsi sebagai katalisator enzim. Beberapa peneliti melaporkan bahwa beberapa kation/senyawa menghambat aktivitas enzim antara lain pada selulase adalah  $Hg^{++}$  dan EDTA (Ajayi *et al.*, 2007; Bakare *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2008), xilanase antara lain  $Mg^{++}$ ,  $Na^{++}$  (Richana *et al.*, 2008),  $Ba^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,



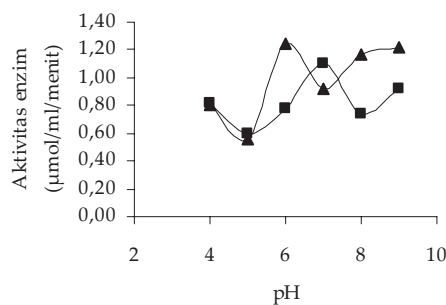
Gambar 5. Nilai pH optimum inkubasi selulase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



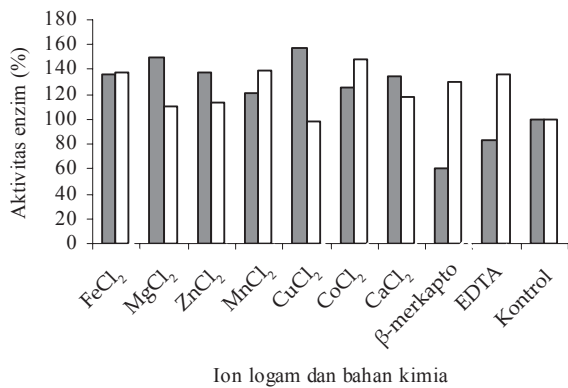
Gambar 6. Nilai pH optimum inkubasi xilanase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



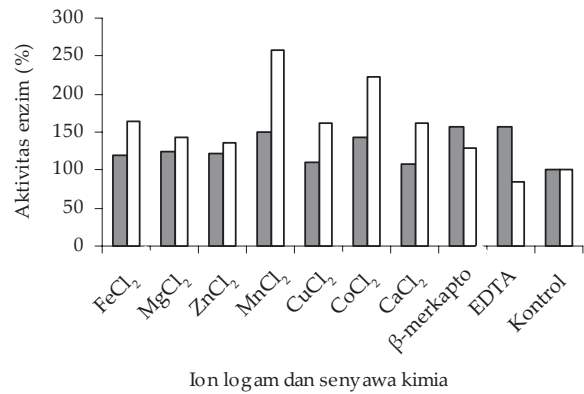
Gambar 7. Nilai pH optimum inkubasi mananase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



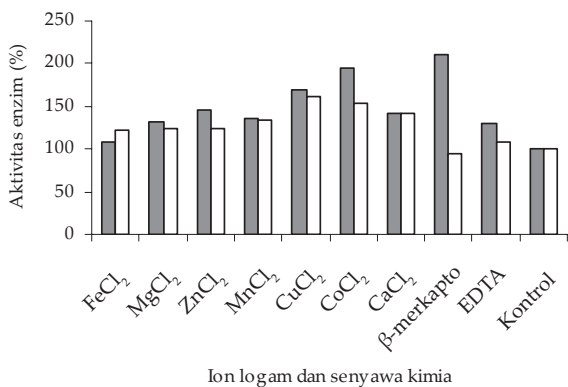
Gambar 8. Nilai pH optimum inkubasi amilase cairan rumen sapi lokal (—▲—) dan sapi impor (—■—)



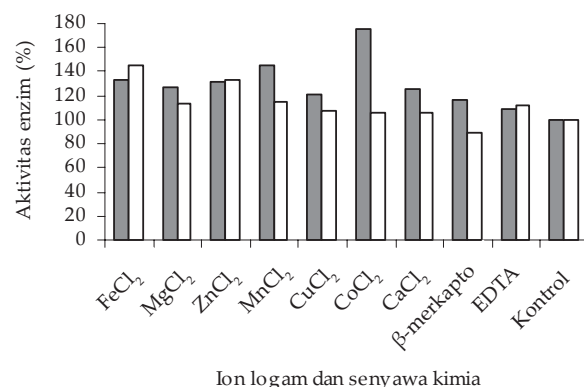
Gambar 9. Aktivitas selulase cairan rumen sapi lokal (■) dan sapi impor (□) pada berbagai ion logam dan senyawa kimia



Gambar 10. Aktivitas xilanase cairan rumen sapi lokal (■) dan sapi impor (□) pada berbagai ion logam dan senyawa kimia



Gambar 11. Aktivitas mannanase cairan rumen sapi lokal (■) dan sapi impor (□) pada berbagai ion logam dan senyawa kimia



Gambar 12. Aktivitas amilase cairan rumen sapi lokal (■) dan sapi impor (□) pada berbagai ion logam dan senyawa kimia

Zn<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, dan Fe<sup>++</sup> (Damaso *et al.*, 2002), mananase antara lain Fe<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup>, Pb<sup>++</sup>, Hg<sup>++</sup> dan Cd<sup>++</sup> (Takeda *et al.*, 2004), sedangkan amilase dihambat antara lain oleh Mn<sup>++</sup>, Hg<sup>++</sup>, EDTA (Freer, 1993), Hg<sup>++</sup> (McWethy & Hartman, 1977).

Berdasarkan substrat yang dihidrolisis enzim karbohidrase cairan rumen di atas dapat digolongkan ke dalam enzim hidrolase. Enzim selulase cairan rumen tersebut dalam klasifikasi enzim termasuk ke dalam EC 3.2.1.4 (selulase) yang menghidrolisis selulosa. Enzim xilanase termasuk ke dalam kelas EC 3.2.1.8 (Endo β-1,4 xylanase) yang menghidrolisis β-1,4 xylan, enzim mananase termasuk ke dalam kelas EC 3.2.1.78 (Endo β-1,4 mananase) yang menghidrolisis β-1,4 manan dan enzim amilase termasuk ke dalam kelas EC 3.2.1.1 (α-1,4 amilase) yang menghidrolisis pati (Lee *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003).

Hasil karakterisasi terhadap enzim CRS di atas menunjukkan bahwa aktivitas enzim pendegradasi serat (selulase) dan xilanase pada CRS lokal lebih tinggi daripada CRS impor, sedangkan mananase dan amilase baik pada CRS lokal maupun CRS impor aktivitas enzimnya relatif sama.

### KESIMPULAN

Karakteristik enzim cairan rumen sapi asal rumah potong hewan (RPH), baik cairan rumen sapi lokal maupun cairan rumen sapi impor, secara umum adalah memiliki suhu optimum berkisar antara 50–60 °C, kecuali suhu optimum enzim selulase cairan rumen sapi impor adalah 39 °C; pH optimum 6-7 kecuali enzim selulase pH 4, sebagian besar memerlukan ion-ion logam sebagai aktivator. EDTA dan β-merkaptotanol dapat menghambat aktivitas selulase cairan rumen sapi lokal, sedangkan pada cairan rumen sapi impor EDTA dapat menghambat aktivitas xilanase, dan β-merkaptotanol dapat menghambat aktivitas mananase dan amilase. Aktivitas enzim pendegradasi serat (selulase) pada cairan rumen sapi lokal lebih tinggi daripada cairan rumen sapi impor.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Ditjen Dikti atas dana penelitian yang diberikan

melalui program Hibah Bersaing Tahun 2008, dengan kontrak no. 007/SP2H/PP/DP2M/III/2008 tanggal 6 Maret 2008.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ajayi, A. A., A. O. Adejuwon, O. K. Awojobi, & P. O. Olutiola. 2007. Effect of cation and chemicals on the activity of partially purified cellulose from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruits deteriorated by *Aspergillus flavus* Linn. Pak. J. Nutr. 6: 198-200.
- Ajayi, A. O. & O. E. Fagade. 2007. Heat activation and stability of amylase from *Bacillus species*. Afr. J. Bacteriol. 6: 1181-1184.
- Alam, M. J., M. A. R. Howlider, M. A. H. Pramanik, & M. A. Haque. 2003. Effect of exogenous enzyme in diet on broiler performance. Int. J. Poult. Sci. 2: 168-173.
- AlZahal, O., E. Kebreab, J. France, M. Froetschel & B.W. McBride. 2008. Ruminant temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis. J. Dairy Sci. 91: 202-207.
- AlZahal, O., M. A. Steele, E. V. Valdes, & B. W. McBride. 2009. Technical note: The use of a telemetric system to continuously monitor ruminal temperature and to predict ruminal pH in cattle. J. Dairy Sci. 92: 5697-5701.
- Bakare, M. K., I. O. Adewale, A. Ajayi, & O. O. Shonukan. 2005. Purification and characterization of cellulose from the wild-type and two improved mutant of *Pseudomonas fluorescens*. Afr. J. Biotechnol. 4: 898-904.
- Causey, W. G. 2000. Sturkie's Avian Physiology. 5<sup>th</sup> Ed. Academic Press, San Diego.
- Chao, K. H., K. H. Yoon, D. W. Kim, H. G. Oh, & Y. P. Oh. 2001. *Bacillus sp.* WL-1 Strain producing mannanase. US Patent 6,984,406.
- Cotta, M. A. 1988. Amylolytic activity of selected spesies of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 54: 772-776.
- Damaso, M. C. T., M. M. Carolina, C. Andrade, & N. Pereira Jr. 2002. Production and properties of the cellulase-free xylanase from *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145. Braz. J. Microbiol. 33: 333-338.
- Ditjen Peternakan Deptan. 2007. Statistik Peternakan 2007.
- Fields, W. M. & J. B. Russell. 2001. The glucomannokinase of *Prevotella bryantii* B14 and its potential role in regulating b-glucanase expression. Microbiology 147: 1035-1043
- Freer, S. N. 1993. Purification and characterization of extracellular  $\alpha$ -amylase from *Streptococcus bovis* JB1. Appl. Environm. Microbiol. 59: 1398-1402.
- He, X., N. Liu, W. Liu, Z. Zhang, B. Zhang, & Y. Ma. 2008. Inducible and constitutive expression of a novel thermostable alkaline  $\beta$ -mannanase from alkaliphilic *Bacillus sp.* N16-5 in *Pichia pastoris* and characterization of the recombinant enzyme. Enzyme Microb. Technol. 43: 13-18.
- Hossain, H. Z., J. Abe, & S. Hizukuri. 1996. Multiple forms of  $\beta$ -mannanase from *Bacillus sp.* KK01. Enzyme Microb. Technol. 18:95-98.
- Howard, R. L., E. Abotsi, E. L. Jansen van Rensburg, & S. Howard. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. Afr. J. Biotech. 2: 602-619.
- Kamra, D. N. 2005. Special section microbial diversity: Rumen microbial ecosystem. Curr. Sci. 89: 124 - 135.
- Khampa, S., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, N. Nontaso, & M. Wattiaux. 2006. Effects of energy sources and level supplementation on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in dairy steers. J. Sci. Technol. 28: 265-276.
- Krause, D. O., S. E. Denman, R. I. Mackie, M. Morrison, A. L. Rae, G. T. Attwood, & C. S. McSweeney. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. FEMS Microbiol. Rev. 27: 663-693.
- Lee, S. S., J. K. Ha, & K. J. Cheng. 2000. Relative contributions of bacteria, protozoa and fungi to in vitro degradation of orchard grass cell walls and their interactions. Appl. Environ. Microbiol. 6: 3807-3813.
- Lee, S. S., C. H. Kim, J. K. Ha, Y. H. Moon, N. J. Choi, & K. J. Cheng. 2002. Distribution and activities of hydrolytic enzymes in the rumen compartments of Hereford bulls fed alfalfa based diet. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 15: 1725-1731.
- Lee, Y. J., B. K. Kim, B. H. Lee, K. I. Jo, N. K. Lee, C. H. Chung, Y. C. Lee, & J. W. Lee. 2008. Purification and characterization of cellulose produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3 utilizing rice hull. Biores. Technol. 99: 378-386.
- Meng, X., B. A. Slominski, C. M. Nyachoti, L. D. Campbell, & W. Guenter. 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. Poult. Sci. 84: 37-47.
- McWethy, S. J. & P. A. Hartman. 1977. Purification and some properties of an extracellular alpha-amylase from *Bacteroides amylophilus*. J. Bacteriol. 129: 1537-1544.
- Miron, J., D. Ben-Ghedalia, & M. Morrison. 2001. Invited Review: Adhesion mechanisms of rumen cellulolytic bacteria. J. Dairy Sci. 84: 1294-1309
- Moharrery, A. & Tirta. K. Das. 2002. Correlation between microbial enzyme activities in the rumen fluid of sheep under different treatments. Reprod. Nutr. Dev. 41: 513 - 529.
- Morgavi, D. P., K. A. Bauchemin, V. L. Nseroko, L. M. Rode, A. D. Iwaasa, W. Z. Yang, T. A. McAlister, & Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. J. Dairy Sci. 83: 1310-1321.
- Pantaya, D. 2003. Kualitas ransum hasil pengolahan steam pelleting berbasis wheat pollard yang mendapat perlakuan enzim rumen pada broiler. Tesis. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Perez, C. F. 2004. Improving performance of sheep using fibrolytic enzymes in dairy ewes and malate in fattening lambs. Tesis Doctoral. Departement De Ciencia Animali Dels Aliments Universitat Autonomia de Barcelona.
- Priego, A., A. Wilson, & T. M. Sutherland. 1977. The effect on parameters of rumen fermentation, rumen volume and fluid rate of zebu bulls given chopped sugar cane supplemented with rice polishings or cassava root meal. Trop. Anim. Prod. 2: 292-299.
- Richana, N., T. T. Irawadi, A. Nur, & K. Syamsu. 2008. Isolasi identifikasi bakteri penghasil xilanase serta karakterisasi enzimnya. J. AgroBiogen 4: 24-34.
- Scopes, R. K. 1987. Protein Purification. Springer Verlag, New York.
- Takeda, N., K. Hirasawa, K. Uchimura, Y. Nogi, Y. Hatada, R. Usami, Y. Yoshida, W. D. Grant, S. Ito, & K. Horikoshi. 2004. Purification and enzymatic properties of a highly alkaline mannanase from alkaliphilic *Bacillus sp* strain JAMB-750. J. Biol. Macromol. 4: 67-74.
- Utarti, E. 2000. Produksi dan karakterisasi enzim xilanase bakteri termofilik *Bacillus sp.* M-35. Tesis. Program Pascasarjana IPB.