

Karakterisasi selulase dari *Trichoderma harzianum* AA1

YOSEP LAW A

07/261467/PMU/5083

INTISARI

Jamur *Trichoderma sp* merupakan salah satu mikrobia yang mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis selulosa. Selulase merupakan nama trivial dari enzim yang memiliki tiga komponen enzim yang bekerja secara sinergis dalam menghidrolisis selulosa kristalin untuk menghasilkan glukosa. Laboratorium Bioteknologi, FTP, UGM, Yogyakarta telah berhasil memutasikan jamur *Trichoderma sp.* asal Indonesia yaitu *Trichoderma* PK1J2 menjadi *Trichoderma* AA1 untuk meningkatkan ekspresi enzim selulase. Jamur mutan *Trichoderma* AA1 ini merupakan mutan bebas represi katabolik dalam memproduksi enzim selulase dan setelah diidentifikasi morfologinya ternyata *Trichoderma harzianum* yang selanjutnya dalam penelitian ini mengalami perubahan nama menjadi *Trichoderma harzianum* AA1.

Pada penelitian sebelumnya jamur mutan *Trichoderma harzianum* AA1 baru pada tahap aplikasi mikrobia langsung pada pakan dan pengujian aktivitas selulasenya masih terbatas pada enzim kasarnya saja maka perlu melanjutkan penelitian ini dengan tujuan mempurifikasi dan mengkarakterisasi enzim selulase yang dihasilkannya. Metode purifikasi yang digunakan yaitu presipitasi dengan ammonium sulfat kemudian difraksinasi dengan kromatografi filtrasi gel dan karakterisasinya meliputi berat molekul, pH, suhu dan kinetika reaksi enzimnya.

Enzim kasar mempunyai aktivitas spesifik untuk CMCase sebesar 2,87 unit/mg protein, FPase sebesar 1,32 unit/mg protein dan Selobiase sebesar 0,64 unit/mg protein dan dipresipitasi bertingkat dengan garam ammonium sulfat yang tingkat kejenuhannya dimulai dari 40%-90% yang aktivitas spesifik CMCase, FPase dan selobiase, masing-masing maksimum pada tingkat kejenuhan 70% garam ammonium sulfat yaitu berturut-turut 3,17 unit/mg protein, 1,66 unit/mg protein, dan 0,92 unit/mg protein selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi filtrasi gel (Sephadex G-75) diperoleh aktivitas spesifik masing-masing sebesar 9,81 unit/mg protein, 3,86 unit/mg protein, dan 2,67 unit/mg protein. Berdasarkan karakterisasi dari CMCase, FPase dan selobiase dengan *SDS-PAGE* 12 % berturut-turut 12 kDa, 63 kDa dan 115 kDa. pH optimum aktivitas untuk CMCase pada pH 4.5, FPase pada pH 5.0 dan Selobiase pada pH 5.5. Suhu optimum aktivitas untuk ketiga komponen enzimnya sama-sama 50°C. Nilai K_m CMCase, FPase dan selobiase berturut-turut 40,5 mg/ml, 13,77 mg/ml dan 0,052 mg/ml dengan V_{maks} berturut-turut 0,5 :nmol.ml⁻¹.menit⁻¹, 76,9 μ mol.ml⁻¹.menit⁻¹ dan 1,11 mmol.ml⁻¹.menit⁻¹.

Kata kunci: *Trichoderma harzianum*, Selulase, Karakterisasi.

Characterization of cellulase from *Trichoderma harzianum* AA1

YOSEP LAW A

07/261467/PMU/5083

ABSTRACT

Trichoderma sp fungus is one of microbial which able to hydrolyses cellulose. Cellulose is trivial term of enzyme consist of three components that synergistically hydrolyses the crystalline cellulose to produce glucose. Biotechnology laboratory, FTP, UGM, Yogyakarta had been success mutating species *Trichoderma* fungus, Indonesia wild is *Trichoderma* PK1J2 become *Trichoderma* AA1, to increase cellulase enzyme expression. This *Trichoderma* AA1 fungus is free catabolic repression mutant in producing cellulose enzyme. Moreover, following its morphology identification, known as *Trichoderma harzianum*, within present research its term changed as *Trichoderma harzianum* AA1.

In previous research, the *Trichoderma* AA1 fungus mutant remains in direct microbial application stages at its feeding and cellulose activity experimental which limited at its rough enzyme. Therefore it is important to prolong present research by purified and characterized its cellulose enzyme production. Purification methods employ precipitations with sulfate ammonium followed by fractionated with gel filtration chromatography. Its characteristic consist of its molecular weight, pH and kinetic of enzyme reaction.

Crude enzyme has specific activities those were: for CMCase as 2.87 unit/mg protein; FPase as 1.32 unit/mg protein and celobiase as 0.64 unit/mg protein. The saturated level of its multilevel precipitation with sulfate ammonium salt was 40%-90% with specific activity CMCase, FPase and celobiase, each maximum saturated level of 70% sulfate ammonium salt those were 3.51 unit/mg protein, 1.66 unit/mg protein and 0.92 unit/mg protein, respectively. Hereafter it followed by diffraction with gel filtration chromatograph (Sephadex G-75) which reveals specific activity of each those were 9.81 unit/mg protein, 3.86 unit/mg protein and 2.67 unit/mg protein, respectively. Based on the characterizations of CMCase, FPase and celobiase, it obtains *SDS-PAGE* 12% of 12 kDa, 63 kDa and 115 kDa, respectively. Activity optimum of pH for CMCase, FPase and selobiase were at pH 4.5, pH 5.0, and pH 5.5, respectively. Activity temperature maximum for those three enzyme components was 50°C. CMCase Km values, FPase and selobiase were 40.5 mg/ml, 13.77 mg/ml and 0.052 mg/ml, respectively, with Vmax values 0.5 mmol.ml⁻¹.menit⁻¹, 76.9 µmol.ml⁻¹.menit⁻¹ and 1.11 mmol.ml⁻¹.menit⁻¹, respectively.

Key words: *Trichoderma harzianum*, Cellulase, Characterization