

**UJI BIODEGRADABILITAS DAN KARAKTERISASI  
MIKROORGANISME SELULOLITIK PENDEGRADASI LIMBAH  
JERAMI PADI**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**PRASETYANING TYAS CHAKTI**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2018**

## **ABSTRACT**

### **BIODEGRADABILITY AND CHARACTERIZATION OF CELLULOLYTIC MICROORGANISM DEGRADING RICE STRAW WASTE**

**By**

**Prasetyaning Tyas Chakti**

The utilization of rice straw as one of animals feed ingredient has not been carried out optimally because of its high cellulose content. The aim of this research was to find isolates that be able to degrade the components of crude fiber from rice straw for improving the quality of nutrients and digestibility for animal feed. Isolation and screening were performed by the Congo Red staining method on CMC Agar from three kinds of samples. The degrading ability of the isolates was measured based on formation of clear zone around its colony, the highest activity of cellulase on CMC and rice straw as substrates, and of rice straw as raw substrate mass loss. Three out 23 isolates were selected had cellulase activity on solid and liquid medium, showed as fungal species. Isolate E-2-1, S-5-19 and S-5-24 had cellulolytic index on CMC and rice straw for 7,33 and 2,42; 8,25 and 2,94; and 7,56 and 2,73 respectively, and the highest activity of the cellulase of 2,55 U /mL; 1,59 U /mL; 0,90 U /mL respectively. The consortia of the third isolates were able to degrade 40,2% of rice straw in liquid culture within 6 days.

**Keywords:** isolation, biodegradation, cellulolitic, fungal, cellulase, rice straw

## ABSTRAK

### UJI BIODEGRADABILITAS DAN KARAKTERISASI MIKROORGANISME SELULOLITIK PENDEGRADASI LIMBAH JERAMI PADI

Oleh

**Prasetyaning Tyas Chakti**

Jerami padi merupakan limbah hasil pertanian yang sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai pakan ternak namun belum optimal karena tingginya kandungan serat kasar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat mikroorganisme yang mampu mendegradasi komponen serat kasar jerami padi untuk meningkatkan kualitas nutrisi dan pencernaan bagi pakan ternak. Isolasi dan skrining dilakukan dengan metode pewarnaan *Congo Red* pada medium CMC *Agar* dari tiga jenis sampel. Kemampuan mikroba dalam mendegradasi jerami padi diukur berdasarkan pembentukan indeks selulolitik koloni, aktivitas ekstrak kasar enzim selulase pada substrat CMC dan jerami padi serta melalui analisis pengurangan berat sampel. Hasil penelitian didapatkan 3 isolat terpilih dari 23 isolat yang memiliki aktivitas selulase tertinggi pada medium padat dan cair dari spesies jamur/ fungi. Isolat E-2-1, S-5-19 dan S-5-24 memiliki indeks selulolitik pada substrat CMC dan jerami padi berturut- turut sebesar 7,33 dan 2,42; 8,25 dan 2,94; dan 7,56 dan 2,73 serta memiliki aktivitas unit enzim selulase tertinggi berturut- turut sebesar 2,55 U/mL; 1,59 U/mL; dan 0,90 U/mL. Konsorsium ketiga isolat tersebut mampu mendegradasi 40,2% sampel jerami padi pada kultur cair dalam waktu 6 hari.

**Kata Kunci :** isolasi, biodegradasi, selulolitik, fungi, selulase, jerami padi

**UJI BIODEGRADABILITAS DAN KARAKTERISASI  
MIKROORGANISME SELULOLITIK PENDEGRADASI LIMBAH  
JERAMI PADI**

**Oleh**

**PRASETYANING TYAS CHAKTI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

Judul Skripsi : **UJI BIODEGRADABILITAS DAN  
KARAKTERISASI MIKROORGANISME  
SELULOLITIK PENDEGRADASI LIMBAH  
JERAMI PADI**

Nama Mahasiswa : **Prasetyaning Tyas Chakti**

No. Pokok Mahasiswa : 1317011057

Jurusan : Kimia

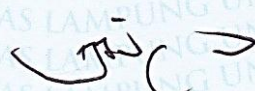
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Ketua Jurusan Kimia

Pembimbing

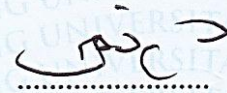
  
**Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP 19740705 200003 1 001

  
**Mulyono, Ph.D.**  
NIP 19740611 200003 1 002

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

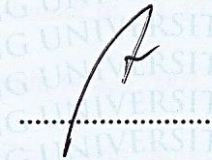
Ketua : **Mulyono, Ph.D.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dra. Aspita Laila, M.S.**



### 2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.**

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **31 Januari 2018**

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada 15 Juni 1995, sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, putri dari Doso Surono, S.Pd. dan Ambar Sari S.Pd.

Jenjang pendidikan diawali dari Taman Kanak-kanak di TK IT Qurrota A'yun Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) di SD Al- Kautsar Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2007. Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 29 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Al-Azhar 3 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2013. Tahun 2013, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung (Unila) melalui jalur SBMPTN tertulis (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Pada tahun 2017 Penulis melakukan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Unila di Bandar Lampung. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar Jurusan Kehutanan tahun 2015, Kimia Dasar jurusan Teknologi Hasil Pertanian tahun 2016, Kimia Dasar jurusan Teknik Pertanian tahun 2016, dan asisten praktikum Biokimia Jurusan Biologi 2017. Penulis juga terdaftar sebagai Kader Muda Himaki (KAMI)

periode kepengurusan 2013/2014. Aktif sebagai anggota bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO) Himaki kepengurusan 2014/2015 hingga kepengurusan 2015/2016. Penulis juga aktif di beberapa lembaga kemahasiswaan lain seperti Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila sebagai Anggota Departemen Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM) tahun kepengurusan 2014/2015, dan Rohani Islam (ROIS) FMIPA Unila sebagai Anggota Muda Rois (AMAR) kepengurusan 2013/2014. Pada tahun 2016 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Tematik di Desa Way Petai Kecamatan Sumber Jaya, Lampung Barat pada bulan Juli sampai Agustus 2016.



## *MOTTO*

*Sesungguhnya Allah SWT mencintai seorang hamba yang apabila ia bekerja, dia itqan (menyempurnakan) pekerjaannya*  
(HR. Thabrani)

Ketahuiilah bahwa dalam jasad itu terdapat sekerat darah, yang apabila ia baik maka baik pula seluruh jasadnya. Dan apabila ia rusak, maka rusak pula seluruh jasadnya. Ketahuiilah bahwa sekerat darah tersebut adalah hati.  
(HR. Bukhari Muslim)

*“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (nikmat) kepadamu”*  
(QS. Ibrahim : 7)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Dengan Rahmat Allah yang Maha Pengasih dan Penyayang  
Kupersembahkan Karya Sederhanaku ini sebagai wujud sayang, bakti dan  
tanggung jawab*

*Kepada:*

*Kedua orang tuaku  
Papaku Doso Surono, S.Pd. dan Mamaku Ambar Sari S.Pd.  
tercinta dan tersayang,*

*Adik-adikku tersayang  
Adjie Pandu Pamungkas dan Muhammad Jalu Satrio Hutomo,*

*Segenap Keluarga besarku yang selalu mendoakan keberhasilanku,*

*Guru-guru dan Dosen-Dosen yang selalu membagi ilmunya untukku,*

*Sahabat- sahabat terbaik yang berjuang bersamaku,*

*dan Almamater tercinta Universitas Lampung*

## SANWACANA

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan karunia-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam semoga Allah SWT sampaikan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan umatnya yang istiqomah mengamalkan ajaran dan sunnahnya.

Skripsi dengan judul "**Uji Biodegradabilitas dan Karakterisasi Mikroorganisme Pedegradasi Limbah Jerami Padi**" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam pelaksanaannya, penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan. Namun, dapat penulis lalui berkat rahmat dan ridha Allah SWT serta bantuan dan semangat dari orang-orang yang hadir dikehidupan penulis. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih setulus-tulusnya kepada :

1. Kedua orang tua yang sangat aku cintai, mamaku Ambar Sari, S.Pd. dan papaku Doso Surono, S.Pd. yang selalu memberikan motivasi, kasih sayang, semangat dan selalu mendoakan keberhasilanku.
2. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku pembimbing utama yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, gagasan, bantuan, dukungan,

semangat, kritik dan saran kepada penulis dalam proses perencanaan dan pelaksanaan penelitian serta dalam penulisan skripsi ini.

3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., dan Ibu Dra. Aspita Laila, M.Si., selaku pembahas yang telah memberikan kritik, saran dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila.
6. Bapak Drs. R. Supriyanto, M.S. selaku Pembimbing Akademik atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, bantuan, nasehat dan informasi yang bermanfaat kepada penulis.
7. Seluruh dosen dan staff administrasi di Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membantu, mendidik dan memberikan ilmu pengetahuan yang sangat berguna kepada penulis selama kuliah.
8. Kedua adik kebangganku, Adjie Pandu Pamungkas dan Muhammad Jalu Satrio Hutomo, terima kasih atas kebahagiaan, motivasi, dan canda tawa yang tercipta selama ini. Kehadiran kalian adalah hal yang tak ternilai dalam hidupku.
9. Keluarga besarku yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan doa untuk keberhasilanku.
10. Sahabat- sahabatku “Brambang” Widya Aryani S.Si., Siti Nabilla Shofa S.Si., Vyna Ayu Ramadian Saputri S.Si., Melia Tri Anggraini dan Monica Dhamayanti, terimakasih untuk segala dukungan, kebahagiaan, kesedihan, kasih sayang,

kebersamaan, keceriaan dan canda tawa yang selalu hadir disetiap hari-hariku, aku sangat bersyukur dan bangga mengenal kalian, semoga Allah selalu memberikan rahmat-Nya untuk keberhasilan kita. Sukses Selalu.

11. Teman- temanku “Sambalado” Fika, Mia, Kiki, Esti, Melia, Monica, Nabilla, Widya dan Vyna terimakasih untuk segala keceriaan, waktu, pengalaman dan ‘cerita- cerita’ yang telah dibagikan.
12. Mulyono’s *Research Group* mba Ayu Imani, mba Meta, kak Aziez, Shelta, Ryan, Vyna, Monica, Melia terimakasih atas kerjasama, motivasi yang selalu diberikan.
13. Teman-teman Kimia angkatan 2013, Aulia, Badiatul, Dewi Rumondang, Fatimah, Fera, Fika, Hermayana, Khalimatus, Indah, Yudha, Esti, Kiki, Nova, Linda, Lulu, Anita, Dona, Megafit, Mawar, Nabilla, Renita, Siti, Tya, Yulia, Uut, Vero, Widya, Yunitri, Della, Eky, Yuvica, Inggit, Awan, Vicka, Arief, Oci, Maya, Nora, Atun, Diki, Shela, Vyna, Bara, Padila, Wahyuni, Kurnia, Yolanda, Murnita, Nurma, Erva, Ismi, Eka Oso, Febri, Paul, Fentri, Riska, Eka, Shelta, Nia, Nurul, Ana, Nita, Anggi, Gesa, Tika, Yuni, Celli, Riyan, Anggun, Radho, Arni, Sinta, Anton, Melita, Melia, Monica, Citra, Kartika, Ezra, Ridho, Yunita, Verdi, Korina, Doddy, dan Amha.
14. Teman- teman KKN khususnya wanita- wanita “Bu Tini” Sasa, Koy, Eka, Chilli, Lala terimakasih untuk motivasi dan pengalaman luar biasa serta kebersamaan yang telah terjalin.
15. Teman berbagi ilmu pengetahuan di Laboratorium Biokimia, Sinta, Maya, Nia, Ezra, Atun, mba Putri, teh Didi, mba Fifi, mba Syatira.

16. Teman-teman Angkatan 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, dan 2015 yang telah membantu serta mendoakan.

17. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memiliki nilai guna khususnya rekan-rekan mahasiswa dan pembaca pada umumnya. Amin.

Bandar Lampung, Januari 2018  
Penulis

**Prasetyaning Tyas Chakti**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>i</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>v</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	5
C. Manfaat Penelitian .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
A. Jerami Padi.....	6
B. Biodegradasi .....	7
C. Bioaktivator .....	10
D. Selulosa .....	12
E. Enzim.....	14
F. Enzim Selulase.....	21
G. Mikroorganisme Selulolitik.....	23
H. Metode Pewarnaan Congo Red .....	24
I. Analisa Gula Reduksi .....	26
J. Identifikasi Mikroorganisme .....	27
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
B. Alat dan Bahan .....	29
C. Prosedur Penelitian .....	30
1. Tahap Persiapan .....	30
a. Persiapan Alat .....	30
b. Persiapan Sampel .....	30
c. Pembuatan Medium CMC.....	31
d. Pembuatan Medium Agar Miring NA-CMC dan PDA-CMC ..	31
e. Pembuatan Medium Khusus Jamur/ Actinomyces.....	31

f. Pembuatan Perekasi Uji DNS .....	32
2. Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa.....	32
3. Sricing/ Penapisan Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa Secara Kualitatif .....	33
4. Pembuatan Kurva Standar Glukosa .....	33
5. Uji Aktivitas Enzim Selulase .....	34
6. Uji Biodegradabilitas Mikroorganisme Selulolitik pada Jerami Padi	35
7. Penentuan Kurva Pertumbuhan .....	36
8. Identifikasi Morfologi Isolat .....	36
D. Diagram alir prosedur penelitian .....	38
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>39</b>
A. Isolasi dan Skrining Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa .....	39
B. Pengujian Mikroorganisme Pendegradasi Jerami Padi Secara Kualitatif.....	45
C. Pengujian Aktivitas Enzim Selulase .....	51
D. Penentuan Kurva Pertumbuhan dan Waktu Optimum Aktivitas Enzim Selulase Isolat Terpilih .....	54
E. Uji Biodegradabilitas Isolat Terpilih Pada Limbah Jerami Padi ....	58
F. Karakterisasi Morfologi Isolat Terpilih .....	61
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan .....	65
B. Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>68</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>74</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur selulosa.....	13
2. Hubungan antara suhu dan aktivitas enzim.....	18
3. Hubungan kecepatan reaksi dengan pH .....	19
4. Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim .....	19
5. Teori kunci- gembok dan kecocokan induksi .....	21
6. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase .....	23
7. Struktur DNS .....	27
8. Koloni yang tumbuh dari sampel probiotik starbio waktu inkubasi 48 jam.....	40
9. Koloni yang tumbuh dari sampel EM4 pakan ternak waktu inkubasi 48 jam .....	40
10. Koloni yang tumbuh dari sampel jerami padi waktu inkubasi 48 jam .....	40
11. Koloni yang ditumbuhkan pada medium padat baru waktu inkubasi 72 jam sebelum pewarnaan .....	41
12. Koloni yang ditumbuhkan pada medium padat baru waktu inkubasi 72 jam setelah pewarnaan .....	42
13. Metode <i>streak plate</i> .....	42
14. Dua belas mikroorganisme hasil skrining pada medium agar miring..	43
15. Dua belas isolat hasil skrining waktu inkubasi 72 jam sebelum Pewarnaan .....	44

16. Dua belas isolat hasil skrining waktu inkubasi 72 jam setelah pewarnaan .....	44
17. Uji aktivitas selulase kelima isolat sebelum pewarnaan pada substrat CMC waktu inkubasi 72 jam .....	46
18. Uji aktivitas selulase kelima isolat setelah pewarnaan pada substrat CMC waktu inkubasi 72 jam .....	47
19. Uji aktivitas selulase kelima isolat sebelum pewarnaan pada substrat jerami padi waktu inkubasi 72 jam .....	47
20. Uji aktivitas selulase kelima isolat setelah pewarnaan pada substrat jerami padi waktu inkubasi 72 jam .....	48
21. Perbandingan indeks selulolitik yang dihasilkan pada substrat CMC dan jerami .....	50
22. Kurva standar glukosa .....	52
23. Aktivitas unit enzim selulase (U/mL) kelima isolat pada substrat CMC dan substrat jerami padi waktu inkubasi 24 jam .....	53
24. Grafik profil pertumbuhan sel (OD 600) dan aktivitas unit enzim selulase isolat E-2-1, S-5-19 dan S-5-24 terhadap waktu inkubasi .....	55
25. Grafik profil pertumbuhan sel isolat E-2-1, S-5-19 dan S-5-24 pada substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi .....	57
26. Grafik aktivitas unit enzim selulase isolat E-2-1, S-5-19 dan S-5-24 pada substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi .....	57
27. Perbandingan hasil analisis kemampuan biodegradabilitas variasi isolat terhadap jerami padi pada hari ke 3 dan hari ke 6 .....	60
28. Hasil pengecatan <i>lactophenol metilen blue</i> isolat E-2-1 .....	62
29. Hasil pengecatan <i>lactophenol metilen blue</i> isolat S-5-19 .....	63
30. Hasil pengecatan <i>lactophenol metilen blue</i> isolat S-5-24 .....	63
31. Sampel analisis aktivitas enzim selulase metode Mandels (1976) .....	80
32. Uji biodegradabilitas variasi isolat terhadap jerami padi .....	81

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan jerami padi .....	7
2. Beberapa enzim yang dihasilkan mikroba dan aplikasinya .....	15
3. Asal sampel, indeks selulolitik dan spesies 23 isolat mikroorganisme hasil skrining waktu inkubasi 72 jam .....	43
4. Indeks selulolitik dan spesies 12 isolat mikroorganisme selulolitik waktu inkubasi 72 jam .....	45
5. Indeks selulolitik 5 isolat pada substrat CMC waktu inkubasi 72 jam	48
6. Indeks selulolitik 5 isolat pada substrat jerami padi waktu inkubasi 72 jam .....	48
7. Nilai absorbansi larutan standar glukosa .....	51
8. Hasil analisis biodegradabilitas variasi isolat terhadap substrat jerami padi .....	59
9. Absorbansi glukosa pada berbagai untuk penentuan kurva standar glukosa .....	75
10. Data absorbansi, kadar glukosa dan aktivitas unit enzim selulase Isolat E-2-1; S-5-19 dan S-5-24 pada 510nm .....	77
11. Data waktu inkubasi dan jumlah sel isolat E-2-1; S-5-19 dan S-5-24 pada 600nm .....	78
12. Data waktu inkubasi, berat kering sampel, berat kering kontrol, dan % degradasi .....	79

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kandungan kimia dari limbah pertanian berpotensi besar untuk dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Limbah pertanian umumnya merupakan limbah biomassa yang kaya akan kandungan bahan organik seperti lignoselulosa, lemak, karbohidrat dan protein. Lignoselulosa adalah komponen utama limbah pertanian yang terdiri atas tiga polimer yaitu selulosa (42-45%), hemiselulosa (27-30%), dan lignin (20-28%) (Soerawidjaja, 2005). Kandungan selulosa yang tinggi berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan kertas, pembuatan senyawa turunan selulosa untuk digunakan sebagai serat, plastik, makanan dan produk farmasetik (Zugenmaier, 2008). Selain itu hidrolisis selulosa menjadi glukosa dapat dimanfaatkan untuk bahan baku produksi ethanol dan biofuel (Lokhande, 2015).

Perkembangan disektor pertanian dan industri pertanian (Agroindustri) di Indonesia seringkali disertai dengan melonjaknya jumlah limbah hasil pertanian. Hal ini diketahui berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (2013) yang melaporkan jumlah total limbah pertahunnya sekitar 52.087.830 ton limbah jerami padi, 10.910.104 ton limbah jerami jagung, 55.915.860 ton limbah kelapa sawit, 1.876.600 ton limbah tebu dan 630.000 ton limbah kakao. Novia (2014)

melaporkan bahwa pemanfaatan limbah pertanian sebagai pakan ternak belum dimanfaatkan secara optimal, sebagian hanya digunakan sebagai bahan bakar, pupuk organik dan sisanya dibiarkan membusuk atau dibakar. Hal ini akan menghasilkan polutan ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ ) yang dapat merusak lingkungan dan penyumbang gas rumah kaca. Menurut Parlina (2015) limbah-limbah pertanian tersebut memiliki kandungan serat kasar yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut melalui sentuhan teknologi untuk mengkonversi bahan baku tersebut menjadi sumber energi dan pakan bergizi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi ternak. Nutrisi yang terkandung dalam pelepah kelapa sawit yaitu protein kasar 1,9% BK, lemak 0,5% dan lignin 17,4 % BK, sedangkan daun mengandung protein kasar 14,8 BK, lemak 3,2% BK dan lignin 27,4% BK. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa kedua bahan pangan tersebut mengandung lignin yang sangat tinggi dibandingkan dengan jerami padi yang hanya mengandung 13% BK. Tingginya kadar lignin didalam pakan akan mengakibatkan rendahnya palatibilitas, nilai gizi, dan daya cerna terhadap pakan.

Jerami padi merupakan limbah hasil pertanian yang sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Namun demikian pemanfaatan jerami padi sebagai pakan ternak belum optimal karena rendahnya kandungan protein kasar (3-4%) dan tingginya kandungan serat kasar (32-40%) sehingga memiliki tingkat pencernaan yang rendah yaitu berkisar antara (35-37%) (Anam *et al.*, 2014). Oleh karena itu penggunaan mikroorganisme selulolitik atau enzim selulase untuk mendegradasi kandungan serat kasar dapat digunakan sebagai alternatif untuk meningkatkan kualitas nutrisi dan pencernaan pakan jerami padi.

Enzim selulase berperan dalam menghidrolisis selulosa dengan memecah ikatan -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligosakarida maupun glukosa. Enzim selulase dapat diperoleh dari berbagai sumber, misalnya tanaman dan hewan serta beberapa mikroorganisme seperti fungi, bakteri dan protozoa. Beberapa jenis jamur selulolitik yang menghasilkan enzim selulase yaitu jenis *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase yaitu *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, *Sporosphytophaga*, dan *Bacillus brevis* (Djajakirana, 2017). Selulase digunakan secara luas dalam berbagai industri seperti industri farmasi (Zaldivar *et al.*, 2001), industri tekstil, detergen, pulp, kertas (Achle, 2004), makanan, pakan ternak (Riswandi, 2014), sintesis asam organik dan zat kimia lainnya (Wang *et al.*, 2013), produksi bioetanol untuk mengatasi kekurangan bahan bakar fosil (Lokhande, 2015). dan pengolahan limbah (Sadia, 2015).

Isolasi dan pemanfaatan mikroorganisme selulolitik yang mampu mendegradasi limbah pertanian untuk dikonversi sebagai pakan ternak telah banyak dilaporkan. Lamid *et al.* (2011), mengisolasi 7 bakteri asal cairan rumen sapi potong sebagai bahan inokulum pembuatan pakan ternak dari limbah pertanian. Widanarni *et al.* (2015), melakukan seleksi dan identifikasi bakteri selulolitik yang mampu mendegradasi daun singkong yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan gurame dan pemanfaatannya sebagai pakan ikan. Mudita *et al.* (2015), pada penelitiannya menguji kemampuan degradasi senyawa lignoselulosa dari isolat lokal limbah isi rumen sapi bali untuk meningkatkan pencernaan pakan ternak. Akan tetapi sejauh ini belum dilaporkan penelitian mengenai kemampuan biodegradabilitas komponen

limbah pertanian oleh mikroorganisme yang terkandung dalam bioaktivator pakan ternak komersil yang dijual dipasaran. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan uji biodegradabilitas dari mikroorganisme yang terkandung dalam bioaktivator pakan ternak terhadap limbah jerami padi untuk mengetahui kualitas bioaktivator pakan ternak komersil. Data yang diperoleh dapat dijadikan acuan dalam melakukan inovasi produk - produk bioaktivator pakan ternak dengan memanfaatkan mikroorganisme lokal lainnya yang dapat diisolasi dari berbagai sumber dan memiliki kemampuan biodegradabilitas dan aktivitas selulase yang lebih potensial sehingga dapat mengoptimalkan fungsi dari bioaktivator pakan ternak komersil.. Pemanfaatan mikroorganisme dengan aktivitas selulase yang tinggi dan kemampuan biodegradabilitas yang baik akan lebih efektif dan efisien dalam mendegradasi kandungan serat kasar pada jerami padi sehingga meningkatkan pencernaan pakan ternak dan meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak dengan waktu yang lebih singkat. Mikroorganisme selulolitik penghasil enzim selulase akan diisolasi dari beberapa sampel menggunakan metode skrining/ penapisan pada medium CMC (*carboxyl methyl cellulose*) padat dan dilakukan identifikasi morfologi serta dilakukan uji biodegradabilitas terhadap selulosa menggunakan metode Mandels.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan mikroorganisme selulolitik pendegradasi jerami padi.
2. Mengetahui kemampuan biodegradabilitas mikroorganisme terhadap jerami padi.
3. Mengetahui karakteristik mikroorganisme pendegradasi jerami padi.

## **C. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah mengetahui keanekaragaman spesies mikroba selulolitik dan dapat mengetahui kualitas bioaktivator pakan ternak berdasarkan kemampuan biodegradabilitasnya terhadap limbah jerami padi.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Jerami Padi

Jerami adalah hasil samping usaha pertanian berupa tangkai dan batang tanaman sereal yang telah kering, setelah biji-bijiannya dipisahkan. Massa jerami kurang lebih setara dengan massa biji-bijian yang dipanen. Jerami memiliki banyak fungsi, di antaranya sebagai bahan bakar, pakan ternak, alas atau lantai kandang, pengemas bahan pertanian (misal telur), bahan bangunan (atap, dinding, lantai), mulsa, dan kerajinan tangan. Jerami umumnya dikumpulkan dalam bentuk gulungan, diikat, maupun ditekan. Mesin baler dapat membentuk jerami menjadi gulungan maupun kotak.

Limbah-limbah hasil pertanian memiliki komponen utama lignoselulosa yang terdiri atas tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin (Meryandini, 2009). Selulosa merupakan komponen utama yang terkandung dalam dinding sel tumbuhan dan mendominasi hingga 50% berat kering tumbuhan. Pada jerami padi terkandung 42% C, 39.1% selulosa, 27.5% hemiselulosa, 12,5% lignin, 0,55% polifenol, 0,6% N, 0,1% P dan 1,3% K. Komposisi kimia limbah pertanian maupun limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan tempat tumbuh dan langkah pemrosesan. Kandungan jerami padi dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 1.** Kandungan jerami padi (Karimi, 2006).

Komponen	Kandungan (%)
Hemiselulosa	27,5
Selulosa	39,1
Lignin	12,5
Abu	11,5

Penggunaan jerami padi sebagai pakan ternak mengalami kendala terutama disebabkan adanya faktor pembatas dengan nilai nutrisi yang rendah yaitu kandungan protein rendah, serat kasar tinggi, serta pencernaan rendah. Untuk mengatasi hal tersebut maka pemanfaatan jerami padi sebagai pakan ternak perlu diefektifkan, yaitu dengan cara penambahan suplemen atau bahan tambahan lain agar kelengkapan nilai nutrisinya dapat memenuhi kebutuhan hidup ternak secara lengkap sekaligus meningkatkan daya cerna pakan. Kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi pada jerami padi memberikan peluang pemanfaatan bakteri selulolitik untuk percepatan laju dekomposisi (Nur, 2008).

## **B. Biodegradasi**

Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses penguraian oleh aktivitas mikroba yang mengakibatkan transformasi struktur suatu senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekuler. Pada umumnya proses ini terjadi karena senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi untuk tumbuh kembang mikroorganismenya. Dalam proses biodegradasi terjadi konversi yang lengkap dari

bahan-bahan kimia kompleks menjadi produk-produk yang termineralisasi seperti air dan karbondioksida (Sumarsono 2011).

Salah satu proses biodegradasi yaitu penguraian polisakarida selulosa menjadi monosakarida (glukosa). Secara enzimatik degradasi selulosa terdiri dari beberapa komponen enzim yang bekerja secara bertahap untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Degradasi polimer pada dasarnya berkaitan dengan terjadinya perubahan sifat karena ikatan rantai utama makromolekul.

Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradasi antara lain :

#### 1. Substrat

Ukuran dan komponen senyawa yang menyusun substrat merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi degradasi. Degradasi akan berlangsung lebih cepat bila ukuran substrat lebih kecil dan senyawa penyusunnya lebih sederhana. Sebaliknya, jika ukuran substrat lebih besar dan senyawa penyusunnya lebih kompleks dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasinya.

#### 2. Sumber Nitrogen

Nitrogen diperlukan karena dapat mempengaruhi aktivitas fungi untuk menghasilkan enzim ekstraseluler. Bahan yang banyak digunakan sebagai sumber nitrogen adalah ammonium nitrat, ammonium sulfat, dan urea. Jika enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh fungi banyak, maka degradasi akan berlangsung lebih cepat. Sebaliknya, jika enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh fungi sedikit, maka degradasi akan berlangsung lebih lama.

### 3. pH

Dalam proses degradasi, pH merupakan faktor yang sangat penting karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai suatu substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu. Umumnya fungi menyukai pH di bawah 7 (Gandjar, 2006). Jika pH sesuai dengan aktivitas enzim, maka kerja enzim ekstraseluler untuk mendegradasi substrat akan optimal.

### 4. Suhu

Selain pH, suhu juga mempengaruhi kerja enzim untuk mendegradasi substrat. Peningkatan suhu menyebabkan energi kinetik pada molekul substrat dan enzim meningkat, sehingga degradasi juga meningkat. Namun suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan rusaknya enzim yang disebut denaturasi, sedangkan suhu yang terlalu rendah dapat menghambat kerja enzim. Bila kerja terhambat atau struktur enzim rusak maka degradasi tidak dapat berlangsung dengan baik.

### 5. Kelembaban

Kelembaban merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan fungi, biosintesis, dan sekresi enzim. Kelembaban yang rendah menyebabkan berkurangnya kelarutan nutrisi di dalam substrat, derajat pertumbuhan rendah, dan tegangan air tinggi. Sedangkan level kelembaban yang lebih tinggi dapat menyebabkan berkurangnya enzim yang dihasilkan karena dapat mereduksi porositas (jarak interpartikel) pada matriks padatan, sehingga menghalangi transfer oksigen. Jika jumlah enzim berkurang, maka proses degradasi akan berlangsung lebih lama (Dias *et al.*, 2007).

### C. Bioaktivator

Bioaktivator adalah inokulum campuran berbagai jenis mikroorganisme selulolitik dan lignolitik untuk mempercepat laju degradasi senyawa organik. Dalam bioaktivator ini terdapat berbagai macam mikroorganisme fermentasi dan dekomposer. Mikroorganisme tersebut dapat bekerja secara efektif dalam memfermentasi dan menguraikan bahan organik (Susilo, 2012).

Menurut Wahyono (2010), bioaktivator bukan merupakan pupuk, melainkan bahan yang mengandung mikroorganisme efektif yang secara aktif dapat berfungsi untuk :

1. Membantu mendekomposisi dan memfermentasi limbah organik dan limbah ternak.
2. Menghambat pertumbuhan hama dan penyakit tanaman dalam tanah.
3. Membantu meningkatkan kapasitas fotosintesis tanaman.
4. Menyediakan nutrisi bagi tanaman serta membantu proses penyerapan dan penyaluran hara.
5. Meningkatkan kualitas bahan organik.
6. Memperbaiki kualitas tanah.
7. Meningkatkan kualitas pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman.
8. Menghasilkan energi, misalnya pada pembuatan biogas.

Kelebihan penggunaan bioaktivator yaitu bioaktivator mengandung strain terpilih berdaya adaptasi tinggi dan dikemas dalam bahan pembawa alami sehingga dapat mempertahankan daya hidup mikroba hingga satu tahun, tidak mencemari

lingkungan, mempercepat proses pengomposan, lebih mudah, lebih murah dan tidak memerlukan bahan tambahan lain (Sutoro, 2010).

Di pasaran banyak beredar beberapa jenis bioaktivator khususnya bioaktivator pakan ternak, yaitu:

1. *Effective Microorganism-4* (EM4)

Produk EM-4 merupakan kultur *effective microorganism-4* dalam medium cair berwarna coklat kekuning-kuningan yang menguntungkan untuk pertumbuhan dan produksi ternak dengan ciri-ciri berbau asam manis. EM4 peternakan mampu memperbaiki jasad renik didalam saluran pencernaan ternak sehingga kesehatan ternak akan meningkat, tidak mudah stres dan bau kotoran akan berkurang. Pemberian EM4 pada pakan dan air minum ternak akan meningkatkan nafsu makan ternak karena aroma asam manis yang ditimbulkan. EM4 peternakan tidak mengandung bahan kimiawi, sehingga aman bagi ternak. EM4 adalah campuran kultur yang mengandung *Lactobacillus*, jamur fotosintetik, bakteri fotosintetik, Actinomycetes, dan ragi. Telah dibuktikan bahwa EM4 memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar serat kasar dan meningkatkan palatabilitas bahan pakan ( Santoso, 2008).

2. Starbio

Starbio diproduksi oleh CV. Lembah Hijau Multifarm Indonesia, Solo. Probiotik Starbio mengandung mikroba proteolitik selulolitik, lignolitik, lipolitik, aminolitik, dan nitrogen fiksasi non simbiosis. Probiotik starbio

adalah koloni bibit mikroba (berasal dari lambung sapi) yang dikemas dalam campuran tanah dan akar rumput serta daun-daun atau ranting-ranting yang dibusukkan. Penggunaan starbio pada pakan mengakibatkan bakteri yang ada pada starbio akan membantu memecahkan struktur jaringan yang sulit terurai sehingga lebih banyak zat nutrisi yang dapat diserap dan ditransformasikan ke produk ternak (Hutabarat, 2005).

#### **D. Selulosa**

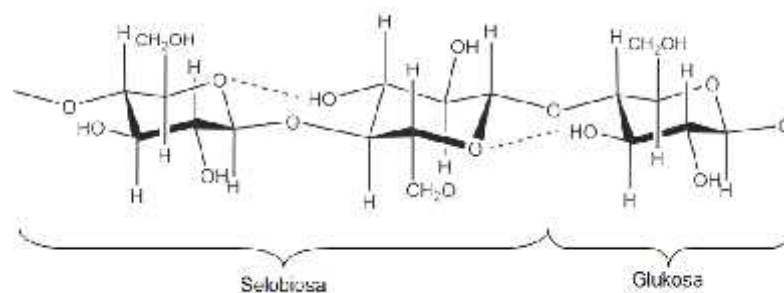
Selulosa ditemukan dengan jumlah yang melimpah di alam dan merupakan unsur utama penyusun kerangka tumbuhan. Diperkirakan sekitar  $10^{11}$  ton selulosa dibiosintesis tiap tahun (Koolman, 2001). Molekul selulosa merupakan mikrofibril dari glukosa yang terikat satu dengan lainnya membentuk rantai polimer yang sangat panjang. Selulosa memiliki struktur berupa polisakarida yang linier berasal dari unit monomer glukosa yang dihubungkan melalui ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida (Howard *et al.*, 2003).

Selulosa hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain yaitu lignin dan hemiselulosa. Serat selulosa alami terdapat di dalam dinding sel tanaman dan material vegetatif lainnya.

Selulosa murni mengandung 44,4% C; 6,2% H dan 49,3% O. Rumus empiris selulosa adalah  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , dengan banyaknya satuan glukosa yang disebut dengan derajat polimerisasi (DP), dimana jumlahnya mencapai 1.200-10.000 dan panjang molekul sekurang-sekurangnya 5.000 nm. Berat molekul selulosa rata-rata sekitar 400.000. Mikrofibril selulosa terdiri atas bagian amorf (15%) dan

bagian berkristal (85%). Hidrolisis sempurna dari selulosa akan menghasilkan monosakarida yaitu glukosa, sedangkan hidrolisis yang tidak sempurna akan menghasilkan oligosakarida dari selulosa yaitu selobiosa. Namun, proses hidrolisis yang sempurna sangat sulit untuk dilakukan. Hal ini dikarenakan keberadaan hemiselulosa dan lignin dapat menghambat proses hidrolisis (Kusnandar, 2010).

Hidrolisis selulosa terjadi dengan memutuskan ikatan silang  $\beta$  (1-4)-glikosida antara rantai yang satu dengan yang lainnya sehingga terjadi pemecahan selulosa menjadi rantai selulosa yang lebih pendek dengan memutus ikatan sampai akhirnya menjadi monomer glukosa. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi gula reduksi (glukosa, fruktosa, selbiosa) dengan menggunakan katalis asam atau enzim yang dihasilkan oleh mikroba selulolitik (Huber *et al.*, 2006).



**Gambar 1.** Struktur selulosa.

Selulosa merupakan komponen struktural utama pada dinding sel. Selulosa dicirikan dengan kekuatan mekanisnya yang tinggi, tinggi daya tahannya terhadap zat-zat kimia dan relatif tidak larut dalam air. Sifat ini memungkinkan selulosa diterapkan ke berbagai bidang (Hu, 2013). Oleh karena itu banyak peneliti yang



berusaha keras untuk mengeksplorasi selulosa menjadi produk baru seperti bahan kimia diantaranya etilen glikol (Ji *et al.*, 2008), asam levulinat (Peng *et al.*, 2010) dan asam laktat (Wang *et al.*, 2013) serta konversi selulosa menjadi bahan bakar (Zhang, 2014).

### **E. Enzim**

Enzim merupakan biomolekul berupa protein berbentuk bulat (globular) yang terdiri atas satu rantai polipeptida atau lebih dari satu rantai polipeptida berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi dalam suatu reaksi kimia (Wirahadikusumah, 2001). Suatu enzim dapat mempercepat reaksi  $10^8$  sampai  $10^{11}$  kali lebih cepat dibandingkan dengan reaksi yang dilakukan tanpa katalis. Keunggulan enzim sebagai biokatalisator antara lain memiliki spesifitas tinggi, mempercepat reaksi kimia tanpa pembentukan produk samping, produktivitas tinggi dan dapat menghasilkan produk akhir yang tidak terkontaminasi sehingga mengurangi biaya purifikasi dan efek kerusakan lingkungan, bekerja pada pH yang relatif netral dan suhu yang relatif rendah, aman, mudah dikontrol, dapat menggantikan bahan kimia yang berbahaya, serta dapat didegradasi secara biologis (Poedjiadi dan Supriyatin, 2006).

**Tabel 2.** Beberapa enzim yang dihasilkan mikroba dan aplikasinya.

Enzim	Sumber	Aplikasi
Amilase	<i>Bacillus subtilis</i>	Tekstil, pelarutan pati,
	<i>Aspergillus oryzae</i>	Produksi glukosa
Penicillinase	<i>Penicillium roquefort</i>	Degradasi penisilin
	<i>Aspergillus niger</i>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	
Invertase	<i>Aspergillus oryzae</i>	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Industri permen
Selulase	<i>Aspergillus niger</i>	Pengurang viskositas,
	<i>Tricoderma</i> sp.	membantu sistem pencernaan
Pektinase	<i>Aspergillus niger</i>	Klarifikasi wine dan jus buah
Protease	<i>Clostridium</i> sp.	Pelunak, membantu sitem
		Pencernaan

### 1. Klasifikasi enzim

Klasifikasi enzim dapat dibedakan sebagai berikut :

- a. Berdasarkan tempat bekerjanya enzim dibedakan menjadi dua, yaitu:
  1. Endoenzim, disebut juga enzim intraseluler, yaitu enzim yang bekerja di dalam sel.
  2. Eksoenzim, disebut juga enzim ekstraseluler, yaitu enzim yang bekerja di luar sel.

- b. Berdasarkan cara terbentuknya dibedakan menjadi dua, yaitu:
1. Enzim konstitutif, yaitu enzim yang jumlahnya dipengaruhi kadar substratnya, misalnya enzim amilase.
  2. Enzim adaptif, yaitu enzim yang pembentukannya dirangsang oleh adanya substrat, contohnya enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik yang ditumbuhkan di dalam medium yang mengandung amilum .
- c. Berdasarkan fungsinya enzim dapat dibedakan menjadi enam kelas dan tiap kelas mempunyai beberapa subkelas. Dalam tiap subkelas, nama resmi dan nomor klasifikasi dari tiap enzim melukiskan reaksi yang dikatalisis berdasarkan IUPAC yaitu :
1. Oksidoreduktase, mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi, meliputi reaksi pemindahan elektron, hidrogen atau oksigen.
  2. Transferase, mengkatalisis perpindahan gugus molekul dari suatu molekul ke molekul yang lain, seperti gugus amino, karbonil, metil, asil, glikosil atau fosforil.
  3. Hidrolase, mengkatalisis pemutusan ikatan antara karbon dengan berbagai atom lain dengan adanya penambahan air.
  4. Liase, mengkatalisis penambahan gugus fungsi dari suatu molekul tanpa melalui proses hidrolisis.
  5. Isomerase, mengkatalisis reaksi isomerisasi.

6. Ligase, mengkatalisis reaksi penggabungan dua molekul dengan dibebaskannya molekul pirofosfat dari nukleosida trifosfat (Lehninger, 2005).

## 2. Sifat katalitik enzim

Sifat-sifat katalitik dari enzim ialah sebagai berikut:

- a. Enzim mampu meningkatkan laju reaksi pada kondisi biasa (fisiologik) dari tekanan, suhu dan pH.
- b. Enzim mempunyai selektifitas tinggi terhadap substrat (substansi yang mengalami perubahan kimia setelah bercampur dengan enzim) dan jenis reaksi yang dikatalisis.
- c. Enzim memberikan peningkatan laju reaksi yang tinggi dibanding dengan katalis biasa.

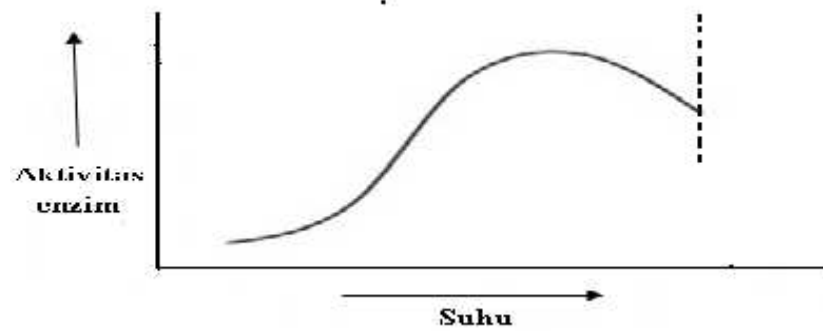
## 3. Faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim

Faktor- faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim antara lain

- a. Suhu

Pengaruh suhu sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalisis suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Meningkatnya suhu akan semakin meningkatkan aktivitas enzim. Peningkatan suhu yang melebihi suhu optimumnya menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim secara struktural (Pratiwi, 2008). Reaksi yang paling cepat terjadi pada suhu optimum (Rodwell, 2011). Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan enzim terdenaturasi. Pada suhu 0°C, enzim menjadi tidak aktif dan dapat

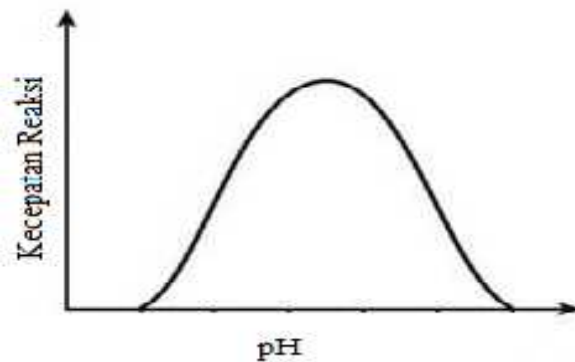
kembali aktif pada suhu normal (Poedjiadi dan Supriyatin, 2006). Hubungan antara aktivitas enzim dengan suhu ditunjukkan dalam Gambar 2 .



**Gambar 2.** Hubungan antara suhu dan aktivitas enzim (Poedjiadi dan Supriyatin, 2006).

b. pH

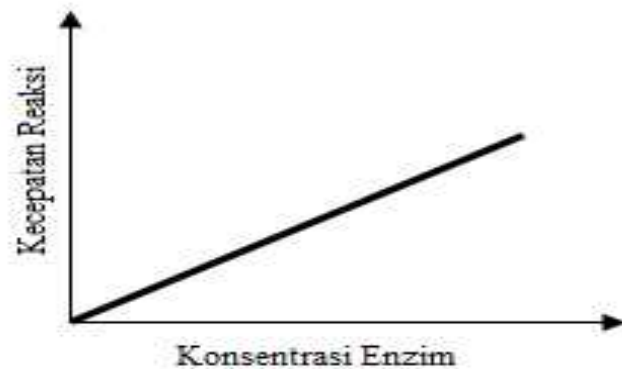
Struktur ion enzim bergantung pada pH lingkungan. Enzim dapat berbentuk ion positif dan negatif (*Zwitter ion*). Dengan demikian perubahan pH akan mempengaruhi efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim-substrat. Selain itu, pH yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Pada beberapa enzim memiliki aktivitas maksimum pada kisaran pH antara 4,5- 8,0 (Winarno, 2002).



**Gambar 3.** Hubungan kecepatan reaksi dengan pH (Winarno, 2002).

c. Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim secara langsung mempengaruhi kecepatan laju reaksi enzimatik dimana laju reaksi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi enzim (Poedjiadi dan Supriyatin, 2006). Hubungan antara laju reaksi enzim dengan konsentrasi enzim ditunjukkan dalam Gambar 4.



**Gambar 4.** Hubungan laju reaksi dengan konsentrasi enzim (Poedjiadi dan Supriyatin, 2006).

d. Konsentrasi Substrat

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi dari substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi substrat meningkat.

Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil hingga tercapai suatu titik batas yang pada akhirnya penambahan konsentrasi substrat hanya akan sedikit meningkatkan kecepatan reaksi (Lehninger, 2005).

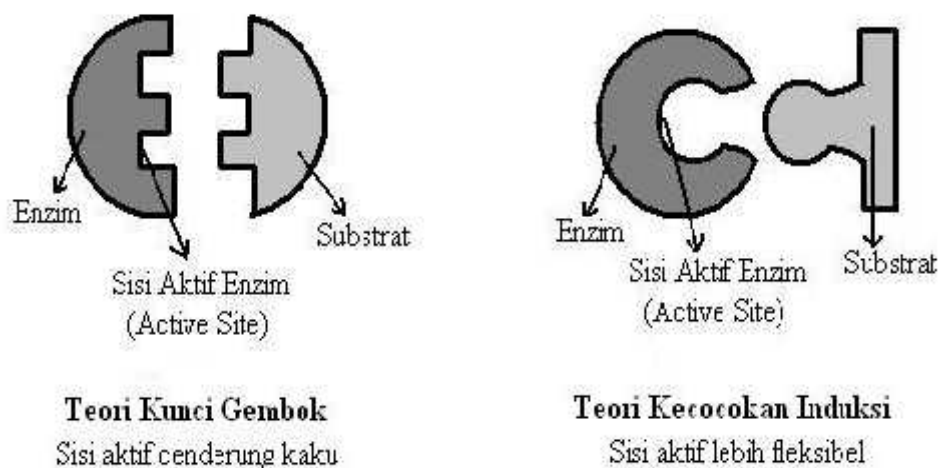
e. Aktivator dan Inhibitor

Aktivator adalah senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Beberapa enzim memerlukan aktivator dalam reaksi katalisisnya. Komponen kimia yang membentuk enzim disebut juga kofaktor. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Zn, Fe, Ca, Mn, Cu atau Mg atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut koenzim). Menurut Wirahadikusumah (2001), inhibitor merupakan suatu zat kimia tertentu yang dapat menghambat aktivitas enzim.

#### **4. Teori pembentukan enzim-substrat**

Cara kerja enzim dapat dijelaskan dengan dua teori, yaitu teori kunci-gembok (*lock and key theory*) dan teori kecocokan yang terinduksi (*induced fit theory*). Menurut teori kunci-gembok, enzim dan substrat bergabung bersama membentuk kompleks, seperti kunci yang masuk dalam gembok. Hal ini dikarenakan adanya kesesuaian bentuk ruang antara substrat dengan sisi aktif enzim, sehingga sisi aktif enzim cenderung kaku. Di dalam kompleks, substrat dapat bereaksi dengan energi aktivasi yang rendah. Setelah bereaksi, kompleks lepas dan melepaskan produk serta membebaskan enzim. Sedangkan menurut teori kecocokan yang terinduksi, sisi aktif enzim merupakan bentuk yang fleksibel. Ketika substrat

memasuki sisi aktif enzim, bentuk sisi aktif termodifikasi melingkupi substrat membentuk kompleks. Ketika produk sudah terlepas dari kompleks, enzim tidak aktif menjadi bentuk yang lepas. Sehingga, substrat yang lain kembali bereaksi dengan enzim tersebut seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 5



**Gambar 5.** Teori kunci-gembok dan teori induksi (Shahib, 2005).

## F. Enzim Selulase

Enzim selulase adalah biokatalisator yang berperan mengkatalis proses hidrolisis selulosa menjadi rantai selulosa yang lebih pendek atau oligosakarida yang selanjutnya diubah menjadi glukosa. Selulase merupakan nama kelompok enzim yang memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4-glukosidik pada selulosa, selodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Selulase terdiri dari enzim-enzim yang bekerja bersama-sama dalam menghidrolisis selulosa secara sinergis (Zhang and Zhang, 2013).



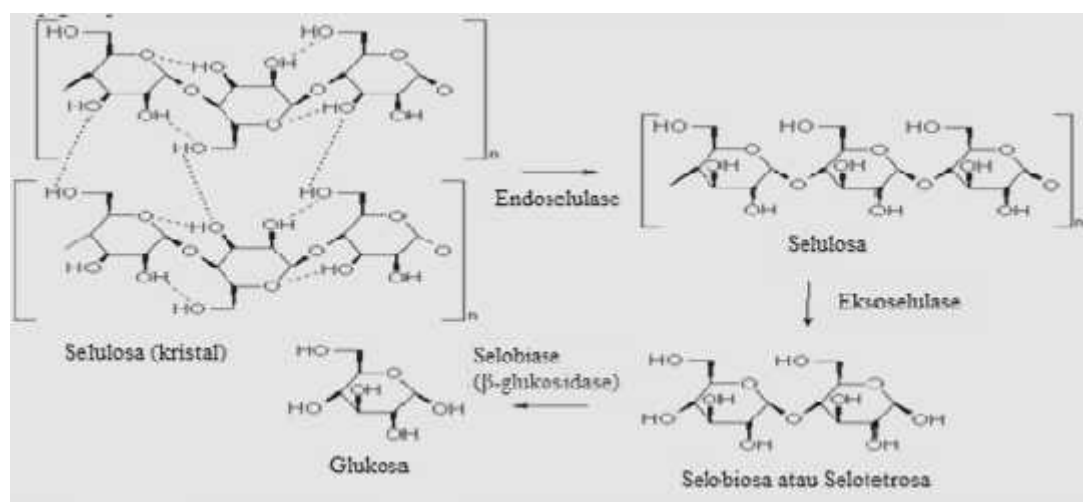
Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara konsisten melewati dua tahap penting dalam sistem enzimatik, yaitu pemecahan ikatan glukosidik pada selulosa menjadi selobiosa oleh  $\beta$ -1,4-glukanase dan pemecahan ikatan  $\beta$ -1,4-glukosidik pada selobiosa menjadi glukosa oleh  $\beta$ -glukosidase. Enzim selulase dikenal sebagai multienzim yang terdiri dari tiga komponen, yaitu:

1. Ekso-  $\beta$ -1,4-glukanase dikenal sebagai faktor  $C_1$ . Faktor ini diperlukan untuk menghidrolisis selulosa dalam bentuk kristal.
2. Endo-  $\beta$ -1,4-glukanase dikenal sebagai faktor  $C_x$ . Faktor ini diperlukan untuk menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-glukosida (selulosa amorf).
3.  $\beta$ -1,4-glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.

Mekanisme pemotongan rantai ikatan oleh enzim selulase sangat kompleks karena melibatkan sinergitas kerja 3 komponen besar yaitu endo-1.4- $\beta$ -D-glukanase yang berfungsi memutuskan ikatan selulosa secara random dengan memulai serangan acak pada sisi internal daerah amorf dari serat selulosa sehingga sisi yang terbuka dapat diserang oleh *cellobiohydrolase*. Kemudian kerja dari ekso- $\beta$ -1.4-glukanase yang memotong ujung-ujung rantai individu selulosa. ekso- $\beta$ -1.4-glukanase atau disebut *cellobiohydrolase* menyerang bagian luar *non-reducing* dari selulosa sehingga dihasilkan selobiosa sebagai struktur utamanya. Selanjutnya adalah kerja dari  $\beta$ -glukosidase yang berfungsi memotong selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa (Kodri, 2013).

Enzim selulase banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan industri karena biaya produksinya murah, waktu produksi singkat, menghasilkan kompleks multienzim dan cenderung stabil pada kondisi ekstrem. Selulase banyak

digunakan dalam industri pulp dan kertas untuk modifikasi serat, penghilangan warna, dan peningkatan drainase (Ladeira *et al.*, 2015), industri tekstil sebagai bio-polishing kain dan detergen yang digunakan untuk meningkatkan kelembutan dan kecerahan kain (Shadu and Maiti, 2013) serta produk biofuel (Sadia, 2015). Aplikasi selulase di bidang peternakan telah dilakukan untuk peningkatan kualitas bahan pakan ternak. Selulase digunakan untuk meningkatkan pencernaan bagas tebu (Rayhan *et al.*, 2013), eceng gondok (Riswandi, 2014), daun singkong (Widanarni *et al.*, 2015) dan bahan baku lainnya.



**Gambar 6.** Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase (Ikram, 2005).

### G. Mikroorganisme Selulolitik

Mikroorganisme selulolitik adalah suatu mikroorganisme baik kapang maupun bakteri yang dapat memproduksi enzim selulase. Mikroba yang mampu menghasilkan komponen selulase diantaranya adalah kapang *Trichoderma*. *Trichoderma harzianum* dikenal sebagai kapang paling potensial dibandingkan

kapang lain dalam mengkonversi selulosa sehingga jamur ini sering disebut sebagai selulolitik sejati (Nasution, 2017) jenis lain yang dikenal, yaitu kapang seperti *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Pemilihan kapang pendegradasi komponen selulosa didasarkan pada beberapa ketentuan diantaranya tidak toksik, mudah dalam aplikasi, biaya murah dan produknya cukup baik (Hatta et al., 2014). Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, *Sporosphytophaga*. dan *Bacillus brevis* (Djajakirana, 2017).

Mikroorganisme selulolitik mampu menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Glukosa tersebut digunakan sebagai sumber karbon dan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroorganisme ini (Anggraeni, 2012). Mikroorganisme selulolitik mensintesis seperangkat enzim yang mampu menghidrolisis kompleks selulosa. Enzim tersebut adalah kompleks enzim selulase. Enzim ini disintesis oleh mikroba selulolitik selama tumbuh dalam media selulosa. Setiap mikroorganisme selulolitik menghasilkan kompleks enzim yang berbeda- beda tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Selain itu jumlah komponen selulase yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis substrat, konsentrasi substrat dan suhu (Aguilar, 2011).

#### **H. Metode Pewarnaan Congo Red (Teather and Wood 1982)**

Metode pewarnaan yang digunakan untuk mendapatkan mikroba selulolitik pada penelitian ini adalah metode pewarnaan *Congo Red* yang dipublikasikan oleh

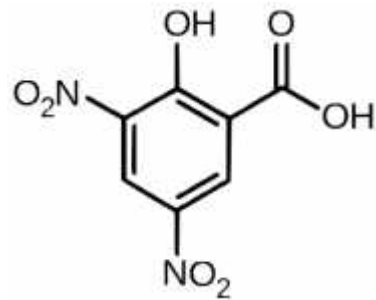
Teather and Wood (1982). Congo red dengan rumus  $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$  dan mempunyai berat molekul 696,66 g/mol pertama kali disintesis pada tahun 1883 oleh Paul Botiger yang bekerja di Bayer Company di Elberfeld, German. Congo red merupakan zat warna yang larut dalam air dan etanol. Congo red adalah garam sodium dari benzydinediazo-bis-1-naphthylamine-4-sulfonic acid yang bersifat karsinogenik dan dapat menyebabkan beberapa respon alergi terhadap manusia (Rasouli, 2017).

Mikroba penghasil enzim selulase ekstraseluler akan menghidrolisis CMC (*carboxy methyl cellulose*) sebagai substrat, sehingga ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida selulosa yang terdapat pada CMC menjadi terputus/terdegradasi dan mengakibatkan terbentuknya senyawa yang lebih sederhana, seperti glukosa. Pada saat dilakukan pewarnaan menggunakan indikator *Congo Red*, substrat yang terhidrolisis tersebut tidak dapat mengikat indikator *Congo Red*, sedangkan substrat yang belum terhidrolisis masih dapat berikatan dengan *Congo Red*, sehingga setelah dibilas dengan aquades dan direndam beberapa menit menggunakan NaCl 1M, maka daerah di sekitar mikroba akan terbentuk zona bening (halozone). Kemampuan bakteri dalam menghidrolisa selulosa dinyatakan dalam bentuk indeks aktivitas selulolitik. Aktivitas enzim secara kualitatif dilihat dari intensitas warna orange dan semi kualitatif dinilai dari rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni (Astrisni, 2017).

## I. Analisis Gula Reduksi

Pengujian aktivitas selulase dilakukan dengan metode Mandels (Mandels *et al.*, 1976), yaitu berdasarkan pembentukan produk glukosa dimana karboksimetil selulosa sebagai substratnya. Semakin tinggi absorbansi sampel semakin baik aktivitasnya. Penentuan komposisi gula reduksi dalam sampel yang mengandung karbohidrat dapat ditentukan dengan menggunakan pereaksi asam dinitro salisilat / 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS). Metode ini adalah metode kimiawi. DNS merupakan senyawa aromatis yang akan bereaksi dengan gula reduksi maupun komponen pereduksi lainnya untuk membentuk 3-amino-5-nitrosalicylic acid, suatu senyawa yang mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada 510-540 nm. Semakin banyak komponen pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka akan semakin banyak pula molekul 3-amino-5-nitrosalicylic acid yang terbentuk dan mengakibatkan serapan semakin tinggi.

Reaksi gula pereduksi dengan pereaksi DNS merupakan reaksi redoks yang terjadi pada gugus aldehyd gula dan teroksidasi menjadi gugus karboksil. Sementara itu DNS sebagai oksidator akan tereduksi membentuk 3-amino-5-nitrosalicylic acid pada suasana basa. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, maka larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan. Hal ini disebabkan oleh reduksi gugus nitro (-NO<sub>2</sub>) menjadi amina (-NH<sub>2</sub>) oleh ujung gula pereduksi hasil degradasi selulosa oleh enzim selulase.



**Gambar 7.** Struktur 3,5-dinitrosalicylic acid

Dalam pembuatan reagen DNS, kita perlu menambahkan NaOH ke dalam larutan yang bertujuan untuk memberikan suasana basa. Karena nantinya reaksi dari reagen DNS ini bekerja pada suasana basa. Selain menambahkan NaOH, juga ditambahkan kalium natrium tartrat 40% (Rochelle Salt). Fungsi dari penambahan ini adalah untuk menstabilkan warna yang terbentuk pada saat reaksi terjadi yaitu merah bata/kecoklatan (Lehninger, 2005).

## **J. Identifikasi Mikroorganisme**

Identifikasi morfologi isolat mikroba yang didapatkan pada penelitian ini terbatas pada pengamatan bentuk sel dan pewarnaan mikroba. Untuk membedakan bentuk sel bakteri dan jamur, dapat dilakukan dengan cara pengamatan bentuk sel secara langsung menggunakan mikroskop. Perbedaan yang paling menonjol antar bakteri dan jamur adalah: ukuran, struktur dinding sel, bahan nukleus, ada tidaknya organel, respon genetik dan hifa (jalinan benang yang berisi sejumlah nukleus, hanya terdapat pada jamur sedangkan bakteri tidak mempunyai hifa). Bentuk bakteri dibedakan menjadi 3, yaitu bentuk bulat (kokus), bentuk batang (basil) dan bentuk spiral (Pelczar dan Chan, 2006).

Basil berbentuk serupa tongkat pendek silindris. Sebagian besar bakteri berbentuk basil. Basil dapat bergandeng-gandeng panjang, bergandeng dua-dua atau terlepas satu sama lain. Kokus merupakan bakteri dengan bentuk serupa bola-bola kecil. Golongan ini tidak sebanyak golongan basil. Sedangkan untuk bakteri spiral memiliki bentuk yang bengkok atau berbengkok-bengkok serupa spiral. Bakteri golongan ini merupakan golongan yang jumlahnya paling sedikit (Dwidjoseputro, 2005).

Pewarnaan bakteri dilakukan dengan menggunakan zat pewarna khusus untuk bakteri seperti yang telah dilakukan oleh Cristian Gram pada tahun 1884. Zat pewarna tersebut adalah pewarna diferensial, karena dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok fisiologi, yaitu Gram-positif dan Gram-negatif. Sedangkan untuk pewarnaan jamur dilakukan cara pemeriksaan langsung (preparat basah) dengan menggunakan *lactophenol cotton blue* (Lay dan Sugyo,1992).

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus- Desember 2017 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

#### B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, neraca digital, *autoclave* (model S-90N), *laminar air flow* (CURMA model 9005-FL), inkubator, *waterbath shaker incubator* STUART SSL2, *waterbath incubator* HAAKE, *magnetic stirrer*, vortex, lemari pendingin, mikropipet Eppendorff, penangas air, pembakar spiritus, sentrifuga, tabung sentrifuga, spektrofotometri *UV- Vis* Cary Win *UV* 32, mikroskop cahaya, kaca preparat, kasa, kapas, rak tabung dan jarum ose.

Bahan-bahan yang digunakan adalah NaCl, pepton, *yeast extract*, agar, CMC (*carboxy methyl cellulose*),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , urea, glukosa, akuades, NA (*nutrient agar*), PDA (*potato dextrosa agar*) buffer fospat



0,01 M, akuades, alkohol, indikator *Congo Red*, NaOH, Na(K) tartarat,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , DNS (*dinitrosalisilic acid*), fenol,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  dan *lactophenol cotton blue*.

Sedangkan sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah dua jenis bioaktivator pakan ternak komersil yaitu EM4 Pakan Ternak dan Probiotik Starbio serta filtrat limbah jerami padi yang telah terdekomposisi.

## C. Prosedur Penelitian

### 1. Tahap Persiapan

#### a. Persiapan Alat

Seluruh alat gelas yang digunakan dicuci, dikeringkan dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  dan tekanan 1 atm. Sterilisasi ini bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang tidak diinginkan.

#### b. Persiapan Sampel

Sampel EM4 Pakan Ternak dan Probiotik Starbio masing- masing diambil sebanyak 50 ml dilarutkan kedalam 500 ml larutan molase modifikasi yang dibuat dari campuran gula merah sebagai sumber karbon dan air cucian beras sebagai sumber vitamin kemudian difermentasikan selama satu malam. Filtrat limbah jerami padi diambil dari desa Hajimena, Lampung Selatan dengan menggunakan sendok yang dimasukkan kedalam plastik kedap udara.

c. Pembuatan Medium CMC

Isolasi mikroba dilakukan dengan menggunakan medium padat yang mengandung substrat CMC. Medium ini disiapkan dengan cara menimbang 1,5 g agar, 0,2 g *yeast extract*, 1 g CMC(*Carboxy Methyl Cellulose*), 0,02 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,004 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,05 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,075 g  $\text{KNO}_3$ , 0,002 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Mulyasari *et al.*, 2015) dalam 100 ml akuades lalu dipanaskan hingga mendidih menggunakan *hot magnetic stirrer* kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dan tekanan 1 atm selanjutnya dituang dalam cawan petri dan didinginkan hingga memadat.

d. Pembuatan Medium Agar Miring NA-CMC dan PDA- CMC

Medium agar miring digunakan sebagai medium penyimpanan mikroba hasil skrining. Medium agar miring NA (nutrient agar) digunakan untuk penyimpanan bakteri sedangkan medium agar miring PDA (potato dextrose agar) digunakan sebagai medium penyimpanan jamur. Medium NA dibuat dengan melarutkan 28 g NA dan 10 g CMC, dalam 1 liter akuades. Medium PDA dibuat dengan melarutkan 39 g PDA dan 10 g CMC dalam 1 liter air lalu dituang dalam tabung reaksi dan ditutup dengan sumbat kemudian medium disterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$  tekanan 1 atm lalu dimiringkan dan didinginkan hingga memadat.

e. Pembuatan Medium Khusus Jamur/ Actinomycetes

Medium padat disiapkan dengan cara melarutkan sejumlah 1,5g agar, 1,4 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,3 g urea, 2 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,3 g  $\text{CaCl}_2$ , 0,3 g  $\text{MgCl}_2$ , 0,005 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,016 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0,014 g  $\text{ZnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,m 0,002 g

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 g *yeast ekstrak*, 0,2 g pepton dan 1 g CMC (Mandels, 1976) kedalam 100 ml akuades lalu dipanaskan hingga mendidih menggunakan *hot magnetic stirrer* kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu  $121^\circ \text{C}$  dan tekanan 1 atm selanjutnya dituang dalam cawan petri dan didinginkan hingga memadat.

Untuk pembuatan medium cair atau medium fermentasi khusus jamur/actinomycetes digunakan komposisi medium yang sama dengan komposisi pada medium padat hanya saja medium cair dibuat tanpa penambahan agar.

#### f. Pembuatan Pereaksi Uji DNS

Pereaksi uji DNS digunakan untuk menguji aktivitas enzim selulase dari mikroba pendegradasi selulosa hasil skrining. Ke dalam labu ukur 100 ml, dimasukkan 1 g DNS (*dinitrosalisilic acid*), 1 g NaOH lalu dikocok hingga larut, kemudian ditambahkan 0,4 g Na(K) tartarat, 0,2 g fenol dan 0,05 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades hingga tanda batas.

## 2. Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa

Isolasi dilakukan pada medium *CMC agar* menggunakan metode *Spread Plate*. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  sampel dengan pengenceran  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dan  $10^{-10}$  dituangkan pada medium padat cawan petri dan diratakan dengan menggunakan batang L dan diinkubasi selama 48 jam dilanjutkan dengan pemurnian mikroba menggunakan metode *Streak Plate* untuk memperoleh koloni tunggal.

### **3. Skrining/ Penapisan Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa secara Kualitatif**

Koloni yang tumbuh dipindahkan ke medium padat CMC baru kemudian diinkubasi selama 72 jam pada suhu 37°C. Petri tersebut lalu diwarnai dengan cara direndam dengan *Congo Red* 0,1% selama 30 menit, kelebihan zat warna dibilas menggunakan akuades selanjutnya petri direndam dengan larutan NaCl 1M selama 15 menit dengan beberapa kali pengulangan. Koloni yang menghasilkan enzim selulase ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Teather and Wood, 1982).

Koloni yang paling besar membentuk zona bening dipindahkan ke dalam medium agar miring NA untuk bakteri dan medium agar miring PDA untuk jamur.

Pemindahan koloni tunggal tersebut dilakukan secara aseptik dengan metode *zig-zag*, kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam dan disimpan dalam lemari pendingin sebagai stok. Koloni- koloni yang disimpan dalam agar miring ini adalah kumpulan isolat yang akan diseleksi lebih lanjut untuk diperoleh beberapa isolat terbaik dan diuji aktivitas enzim selulase yang dihasilkan pada tahap penelitian selanjutnya.

### **4. Pembuatan Kurva Standar Glukosa**

Larutan standar glukosa dibuat dengan rentang konsentrasi 0,2-1,4 ppm. Sebanyak 0,5 mL larutan standar glukosa dengan masing-masing konsentrasi (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; dan 1,4 (mg/ml) ditambahkan 1 mL pereaksi *dinitrosalisilic acid* (DNS) dididihkan selama 10 menit pada penangas air dan didinginkan. Setelah

dingin, campuran ditambahkan 1,5 mL akuades dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Selanjutnya, absorbansi masing-masing larutan diplotkan terhadap konsentrasi sehingga diperoleh nilai *slope*, *intercept*, dan  $R^2$ .

### 5. Uji Aktivitas Enzim Selulase (Mandels, 1976)

Kedalam elenmeyer yang telah berisi medium cair dimasukkan 2% inokulum yang telah ditumbuhkan selama satu malam secara aseptis lalu dikocok pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm dan suhu 35°C selama 24 jam. Selanjutnya isolasi enzim dilakukan dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan putaran 5000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Filtrat yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim selulase. Ekstrak kasar enzim selulase kemudian diuji aktivitasnya dengan metode *Mandels* (1976).

Substrat jerami padi dan substrat CMC dilarutkan dalam buffer posfat pH 6,0. Sebanyak 0,25 mL larutan substrat, 0,25 mL enzim dicampur lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 50°C. Kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi *dinitrosalisilic acid* (DNS) dididihkan selama 10 menit pada penangas air dan didinginkan. Setelah dingin, campuran ditambahkan 1,5 mL akuades dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Besarnya kadar gula pereduksi yang dihasilkan dibandingkan dengan larutan standar glukosa 0,2-1,4 mg/ml. Kadar glukosa yang terbentuk ditentukan dengan menggunakan kurva standar glukosa.

Satu unit aktivitas selulase adalah jumlah dari enzim yang menghasilkan 1 umol glukosa dalam satu menit pada kondisi pengujian (Ghose, 1987). Nilai aktivitas unit enzim dan jumlah sel ditabulasi serta dibandingkan antara satu dengan lainnya, kemudian isolat terbaik dipilih dan diuji kondisi optimum produksi enzim selulasenya.

## **6. Uji Biodegradabilitas Mikroorganisme Selulolitik pada Jerami Padi**

Preparasi jerami sebagai substrat meliputi pencucian, pengeringan dibawah sinar matahari langsung, perajangan, dan pengayakan menggunakan saringan mesh 50. Sebanyak. 50 ml media cair atau media fermentasi ditambahkan 0,5 g jerami padi kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121° C dan tekanan 1 atm. Setelah itu 5 ml suspensi mikroorganisme hasil skrining diinokulasikan kedalam media fermentasi dan diinkubasi selama 6 hari menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm dan suhu 35°C. Pada hari ke 3 dan ke 6 waktu inkubasi kultur disaring dengan kertas saring dan dikeringkan didalam oven dengan suhu 105 °C selama 3 jam hingga diperoleh berat konstan. Kontrol positif disiapkan dengan perlakuan yang sama pada medium cair atau medium fermentasi menggunakan substrat jerami padi dengan penambahan mikroorganisme dari EM4 (*effective mikroorganism 4*) dan Starbio tanpa melalui tahap skrining. Kontrol negatif disiapkan dengan perlakuan yang sama namun tanpa penambahan mikroorganisme. Berat kering sampel dengan penambahan mikroorganisme dibandingkan dengan berat kontrol. Apabila terjadi degradasi pada limbah jerami padi oleh mikroorganisme selulolitik maka berat

kering sampel akan berkurang sehingga lebih kecil dari berat awal. Persentase degradasi limbah jerami padi ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{\text{BK kontrol} - \text{BK sampel}}{\text{BK kontrol}} \times 100\%$$

## 7. Penentuan Kurva Pertumbuhan

Penentuan pertumbuhan sel bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan sel bakteri. Sebanyak 0,3 mL kultur dan 2,7 mL akuades di masukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diukur serapannya menggunakan *spektrofotometer UV-VIS* pada panjang gelombang 600 nm.

## 8. Identifikasi Morfologi Isolat

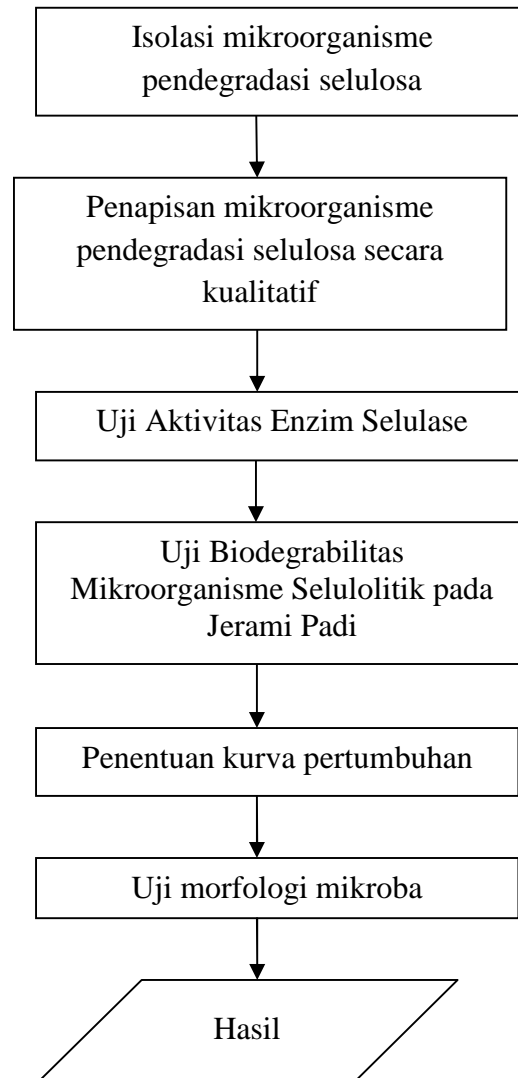
Isolat terpilih kemudian diidentifikasi morfologinya dengan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan mikroba (bakteri dan jamur/actinomycetes). Untuk membedakan bentuk sel bakteri dari jamur/actinomycetes dapat dilakukan dengan cara pengamatan bentuk sel secara langsung menggunakan mikroskop (Lay dan Hastowo, 1992).

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui bentuk dan struktur dinding sel dari bakteri. Secara aseptis, 1 ose bakteri di letakkan pada kaca preparat yang telah dibersihkan dengan alkohol, diratakan hingga membentuk lapisan tipis. Setelah kering, difiksasi dengan melewati kaca preparat di atas nyala api spritus, kemudian ditetesi dengan larutan kristal violet, setelah itu dicuci dengan air

mengalir, kemudian ditetaskan larutan iodine, setelah beberapa saat dibilas kembali menggunakan air mengalir, dicuci lagi menggunakan alkohol. Setelah kering, ditambahkan beberapa tetes larutan safranin, dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop.

Sedangkan untuk pewarnaan jamur dilakukan dengan cara pemeriksaan langsung (preparat basah) menggunakan *lactophenol cotton blue* (Lay dan Hastowo, 1992).



**D. Diagram Alir Prosedur Penelitian**

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Dari serangkaian proses skrining diperoleh tiga isolat pendegradasi jerami padi yang memiliki indeks selulolitik dan aktivitas enzim tertinggi yaitu isolat E-2-1 dari sampel EM4 pakan ternak, isolat S-5-19 dan S-5-24 dari sampel starbio.
2. Isolat S-5-19 menghasilkan indeks selulolitik sebesar 8,25 pada waktu inkubasi 72 jam dan mencapai aktivitas enzim optimum pada waktu inkubasi 24 jam dengan nilai aktivitas unit sebesar 1,59 U/mL pada medium khusus jamur/ actinomycetes.
3. Isolat E-2-1 menghasilkan indeks selulolitik sebesar 7,56 pada waktu inkubasi 72 jam dan mencapai aktivitas enzim optimum pada waktu inkubasi 48 jam dengan nilai aktivitas unit sebesar 2,55 U/mL pada medium khusus jamur/ actinomycetes.
4. Isolat S-5-24 menghasilkan indeks selulolitik sebesar 7,33 pada waktu inkubasi 72 jam dan mencapai aktivitas enzim optimum pada waktu

inkubasi 24 jam dengan nilai aktivitas unit sebesar 0,92 U/mL pada medium khusus jamur/ actinomycetes.

5. Dari uji aktivitas enzim selulase 3 isolat terpilih pada medium cair menggunakan substrat jerami padi didapatkan bahwa isolat E-2-1 merupakan isolat terbaik pendegradasi jerami padi karena memiliki nilai aktivitas unit terbesar dibandingkan dengan 2 isolat terpilih lainnya sebesar 2,55 U/mL.
6. Berdasarkan hasil analisis biodegradabilitas variasi kultur isolat terhadap jerami padi didapatkan bahwa konsorsium dengan 3 kultur isolat terpilih menghasilkan % degradasi terbesar yaitu 40,2%.
7. Dari pengujian morfologi isolat terpilih yaitu isolat E-2-1; S-5-19 dan S-5-24 memiliki bentuk morfologi dan alat reproduksi sesuai dengan mikroorganisme jenis jamur/ fungi.

## **B. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka untuk penelitian selanjutnya disarankan sebagai berikut :

1. Optimalisasi hasil pengujian dengan meremajakan stok isolat pada medium agar miring dengan waktu inkubasi minimal 24 jam dan maksimal 96 jam sebelum digunakan agar isolat yang digunakan selalu dalam kondisi pertumbuhan yang baik.

2. Pada proses karakterisasi isolat yang diperoleh, zat warna metilen blue hanya memberikan warna yang maksimal pada spesies khamir/ yeast dan kurang maksimal jika digunakan untuk visualisasi kapang sehingga mempersulit pengamatan struktur kapang pada mikroskop, maka pada penelitian selanjutnya disarankan menggunakan zat warna lain yang lebih sesuai untuk pengamatan kapang yaitu zat warna cotton blue.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achle, H. and Sixta. 2004. *Handbook of Pulp and Paper Technologists*. Canadian Pulp and Paper Association. Canada.
- Aguiar, C. 2011. *Biodegradation of Cellulose From Sugarcane Bagasse by Fungal Cellulase*. *SciTechnol Aliment* 3:117-121.
- Anam, M. dan Lamid, M. 2014. *Kualitas Pakan Ruminansia yang Difermentasi Bakteri Selulolitik Actinobacillus sp.* Universitas Airlangga. Semarang.
- Anggraeni, A.C. 2012. *Asuhan Gizi Nutritional Care Process*. Graha Ilmu. Bandung.
- Astriani, M. 2017. *Skrining Bakteri Selulolitik Asal Tanah Kebun Pisang (Musa paradisiaca)*. Universitas Muhammadiyah. Palembang.
- Badan Pusat Statistik. 2013. *Statistik Indonesia*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Choi, Y.W., Hodgkiss, I.J. and Hyde, K.D. 2005. *Enzyme Production by Endophytes of Brucea javanica*. *Journal Agriculture Tech*. vol.1: 55-56.
- Dias, M.O.S., Maciel and Rossell, C.E.V. 2007. *Eficient Colling of Fermentationin Ethanol Production*. *Journal* vol (70) hal: 11.
- Djajakirana, G., Adryan, A.E. dan Widyastuti, R. 2017. *Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa dan Pektin dari Rhizosfer Aquilaria malaccencis*. IPB. Bogor.
- Dwidjoseputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Malang Halaman 180-181.

- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal and Oetari, A. 2006. *Mikrologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Ghose, T.K. 1987. *Measurement of Cellulase Activities Biochemical Engineering*. Research Centre. Indian Institute of Technology. New Delhi.
- Ikram, U., Mohsin M.J., Tehmina K. and Zafar. 2005. *Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of Aspergillus niger and Trichoderma viride*. Res. J. Agric & Biol. Sci. 1(3): 241-245.
- Ismatullah, J.M. 2014. *Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Kapang dari Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hatta, U., Sjojfan, O. dan Sundu, B. 2014. *Pengaruh Fermentasi Kombinasi Jamur Pleurotus ostreatus dengan Trichoderma viridae Terhadap Kandungan Nutrien dan Aktivitas Enzim Selulase Bungkil Kopra*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Howard, R.L., Abotsi, E., Rensburg, V.J., and Howard, S. 2013. *Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production*. J. Biotechnol 2:602-619.
- Hu, S. and Qiu, X. 2013. "Smart" Materials Based on Cellulose: A Review of The Preparations, Properties, and Applications. Materials Research Bulletin. 6: 738–781.
- Huber, G. W., Iborra, A. and Corma. 2006. *Synthesis of Transportation Fuels from Biomass Chemistry Catalysts and Engineering*. Chemical Sustainable Chemistry. 106: 4044–4098.
- Hutabarat, H. 2005. *Pengaruh Pemberian Starbio dalam Ransum*. Universitas HKPB Nomensen. Medan,
- Ji, N., Zhang, T., Zheng, M., Wang, A., Wang, H., Wang, H., and Chen, J.G. 2008. *Direct Catalytic Conversion of Cellulose into Ethylene Glycol using Nickel- Promoted Tungsten Carbide Catalysts*. Angewandte Chemie International Edition. 47(44): 8510–8513.
- Karimi, K., Kheradmandinia, S. and Taherzadeh, M.J. 2006. *Conversion of Rice Straw to sugar by Diluteacid Hydrolysis*. Biomass Bioenergy. 30: 274-253.

- Kodri, B.D.A. dan Rini, Y. 2013. *Pemanfaatan Enzim Selulase Dari Trichoderma Reesei Dan Aspergillus Niger Sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Dengan Pretreatment Microwave*. Jurnal Bioproses Komoditas Tropis. 1(1).
- Koesnandar, H. dan Nurhayati, N. 2008. *Recent Development in The Bioconversion of Lignocellulases Into Ethanol*. Microbiology Indonesia. 2(3): 101-102.
- Koolman, J. 2001. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia Terjemahan Septelia*. Penerbit Hipokrates. Jakarta.
- Kusnandar, F. 2010. *Kimia Pangan Komponen Makro*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Ladeira, S. A., Cruz, E., Delatorre, A.B., Barbosa, J.B. and Martins, M.L.L. 2015. *Cellulase Production by Thermophilic Bacillus sp. SMIA-2 and Detergent Compatibility*. Electronic Journal of Biotechnology. 18: 110-115.
- Lamid, M., Prasetyo, T. dan Chusniati. 2011. *Eksplorasi Bakteri Selulolitik Asal Cairan Rumen Sapi Potong Sebagai Inokulum Limbah Pertanian*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lay, B. W. and Sugyo, H. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Pers. Jakarta.
- Leck, A. 1999. *Preparation of Lactophenol Cotton Blue Slide Mounts*. International Centre for Eye Health. London.
- Lehninger, A.L. 2005. *Principle of Biochemistry*. W and H Company. United States: Freeman.
- Lynd, L.R., Weimer, P.J., Van, Z.W.H. and Pretorius, IS. 2002. *Microbial cellulose Utilization Fundamentals and biotechnology*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 66: 506-577.
- Lokhande, S. and Musadiq. *Isolation of Cellulolytic Bacterial Strains for Biokonversion of Municipal Solid Waste*. Shri Shivaji College. Akola.
- Mandels, M., A. Raymond, R. and Charles. 1976. *Measurement of saccharifying cellulose*. Biotech. and Bioeng. Symp. John Wiley & Sons Inc. 6.

- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T.C., Rachmania, N. dan Satria. 2009. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*. Makara Sains. 13 (1) : 33-38.
- Nasution, P. dan Nurmiati, P. 2017. *Kecepatan Pertumbuhan Kapang (Thichoferma harzianum Rifai AI300-F006) dan Aktivitas Selulase dalam Penanganan Sampah Selulosa*. Universitas Andalas. Padang.
- Nur, H.S., Meryandini, A. dan Hamim. 2009. *Pemanfaatan Bakteri Selulolitik dan Xilanolitik yang Potensial untuk Dekomposisi Jerami Padi*. Makara Sains. 14(1) : 71-80.
- Novia, A. dan Rosmawati. 2014. *Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi dengan Metode Ozonolisis– Simultaneus Sacchari Cation Fermentation (SFF)*. Jurnal Teknik Kimia No 3. FTI-ITS. Surabaya.
- Okoh, I.A. 2006. *Biodegradation Alternative in The Clean up of Petroleum Hydrocarbon Pollutans*. Biotech. and Molecular Biology Review 1 (2): 38-50.
- Parlina, D. 2015. *Pemanfaatan Limbah Pertanian Sebagai Pakan Ternak*. Dinas Pertanian dan Perkebunan Kabupaten Bangka Barat. Bangka Belitung.
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 2006. *Dasar- Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Peng, L., Lin L., Zhuang., Beixiao, Z. and Gong, Y. 2010. *Catalytic Conversion of Cellulose to Levulinic Acid by Metal Chlorides*. Molecules. 15(8): 5258-5272.
- Poedjiadi, A. dan Supriyatin. 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. UI-Press. Jakarta.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga (hal; 38- 43).
- Rachmadani, D.A. 2014. *Penapisan Mikroba Selulolitik Pendegradasi Sampah Organik dan Karakterisasi Aktivitas Katalitiknya*. Universitas Airlangga. Semarang.
- Riswandi. 2014. *Kualitas Silase Eceng Gondok (Eichomacrassipes) dengan Penambahan Dedak Halus dan Ubi Kayu*. Jurnal Peternakan Sriwijaya. 3(1) : 1-6.



- Rasouli, N. and Khalili, A. 2017. *Enhanced Adsorption Capability of Congo Red Dye onto Novel Polypyrrole/ ZnO/ ZnCr<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Composite*. Payame Noor University. Tehran.
- Rayhan, M., Suryapratama, W. dan Sutardi, T.H. 2013. *Fermentasi Ampas Tebu (Bagasse) Menggunakan Phanerochaete cryosporium Sebagai Upaya Meningkatkan Kecernaan Bhan Kering dan Kecernaan Bhan Organik Secara in vitro*. Balitbang Bogor. 1(2) 583-589.
- Rodwell, V.W. 2006. *Harper's Review of Biochemistry*. EGC Kedokteran. Jakarta.
- Sadia, S. and Ibrahim, S.A. 2015. *Studies on Cellulose Degrading Microorganisms Associated with Rumen of Ruminant Animals*. Shehu Shagari College. Nigeria.
- Santoso, U. dan Aryani. 2008. *Perubahan Komposisi Kimia Daun Ubi Kayu yang Difermentasi EM4*. Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Shadu, S. and Maiti, T.K. 2013. *Cellulase production by Bacteria*. *British Microbiology Research Journal*. London.
- Shahib, M.N. 2005. *Biologi Molekuler Medik I*. Universitas Padjajaran Press. Bandung.
- Sumarsono, T. 2011. *Biodegradasi Campuran Benzen, Toluena, dan Xilen (Btx) dalam Adsorben Clay oleh Konsorsium Mikroba dengan Penambahan Biosurfaktan Pseudomonas Putida T1(8)*. Departemen Biologi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Susilo, H. 2012. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Sutoro, Y., Soelaeman dan Iskandar. 2010. *Budidaya Tanaman Jagung*. Balitbang Tanaman Pangan. Bogor.
- Teather, R.M. and Wood, P.J. 1982. *Use of Congo-Red Polysaccharides Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from Bovine Rumen*. *Appl. Environ Microbiol.* 43: 777-780.
- Waluyo, L. 2010. *Mikrobiologi Umum*. UPT Penerbitan UMM. Malang.

- Wang, C.Y., Chang, C.C., and Shyu, T.T. 2013. *Activity of Cellulase from Thermoactinomyces and Bacillus sp. Isolated from Brassica Waste Compost*. Science of Agriculture. 66 (3): 304-308.
- Widanarni, M., Suprayudi, M., Junior, A. dan Sunarno, D. 2015. *Seleksi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Daun Singkong (Manihotesculenta) yang Diisolasi dari Saluran Pencernan Ikan Gurame*. Balitbang Budidaya Ikan Air Tawar. Bogor.
- Winarno, F.G. 2002. *Enzim Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. 2001. *Biokimia: Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. ITB. Press. Bandung.
- Zaldivar, J., Nielsen, J. and Olsson. 2008. *Fuel Ethanol Production from Lignocellulose*. Appl Microbiol. Biotechnol. 56:17-34.
- Zhang, T., Zheng, M., Pang, J. and Wang, A. 2014. *One Pot Catalytic Conversion of Cellulose to Ethylene Glycol and Other Chemicals: From Fundamental Discovery to Potential Commercialization*. Chinese Journal of Catalysis. 35: 602-613.
- Zhang, X.Z. and Zhang, Y.H.P. 2013. *Cellulases: Characteristics, Sources, Production and Applications*. Bioprocessing Technologies. In Yang.
- Zugenmaier, P. 2008. *Crystalline Cellulose and Derivatives*. Spring Verlag. Jerman.