

**OPTIMASI KONSENTRASI SUMBER KARBON PADA
PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI BAKTERI
INDIGEN LARVA *Leucinodes orbonalis* Guenee**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



disusun oleh

Zawiyah

13640004

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UIN SUNAN KALIJAGA

YOGYAKARTA

2017



PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1451/Un.02/DST/PP.00.9/08/2017

Tugas Akhir dengan judul : Optimasi Konsentrasi Sumber Karbon pada Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Indigen Larva Leucinodes orbonalis Guenee

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : ZAWIYAH
Nomor Induk Mahasiswa : 13640004
Telah diujikan pada : Senin, 14 Agustus 2017
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR

Ketua Sidang

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si
NIP. 19791217 200901 2 004

Penguji I

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech.
NIP. 19760624 200501 2 007

Penguji II

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 001

Yogyakarta, 14 Agustus 2017

UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
DEKAN



Dr. Murtono, M.Si
NIP. 19691212 200003 1 001



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal :

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Zawiyah

NIM : 13640004

Judul Skripsi : Optimasi Sumber Karbon pada Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Indigen Larva *Leucinodes orbonalis* Guenee.

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 07 Agustus 2017

Pembimbing

Erny Qurotul Ainy, M. Si

NIP. 19791217 200901 2 004



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal :

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Zawiyah

NIM : 13640004

Judul Skripsi : Optimasi Sumber Karbon pada Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Indigen Larva *Leucinodes orbonalis* Guenee.

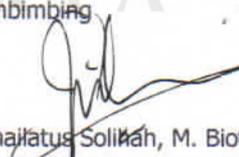
sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY *Wassalamu'alaikum wr. wb.*
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 07 Agustus 2017

Pembimbing


Jumafatus Solikhah, M. Biotech

NIP. 19760624 200501 2 007

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zawiyah

NIM : 13640004

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Optimasi Sumber Karbon pada Produksi Enzim Selulase Dari Bakteri Indigen Larva *Leucinodes orbonalis* Guenee**" merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak pernah terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 08 Agustus 2017

Pembuat pernyataan,



Zawiyah
NIM. 13640004

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan [5] Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan [6] Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain) [7] dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(Q.S Al- Insyirāh: 5-8)

“Mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan Shalat. Sungguh Allah beserta orang-orang yang sabar[153]”

(Q.S Al- Baqarah: 153)

“Jagalah Allah, niscaya engkau dapati Dia di hadapanmu. Jika engkau meminta, mintalah kepada Allah. Jika engkau meminta pertolongan, mintalah pertolongan kepada Allah. Dan ketahuilah, sesungguhnya seandainya umat ini bersatu untuk memberikan suatu kemanfaatan kepadamu, maka mereka tidak akan dapat memberinya, kecuali dengan sesuatu yang telah Allah tetapkan atasmu. Dan seandainya mereka bersatu untuk mendatangkan suatu kemudharatan kepadamu, maka mereka tidak dapat mendatangkannya, kecuali dengan sesuatu yang telah Allah tetapkan atasmu. Pena telah diangkat dan lembaran-lembaran telah mengering.”

(Jami At- Tirmidzi No. 2706)

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur pada Allah SWT Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya Ayahanda Muhammad Hasan Husein dan Ibunda Mariana yang telah mendidik dan membesarkan kami dengan penuh cinta dan kasih sayang, serta menyertai setiap langkah kami dengan doa dan harapan

Karya ini juga saya persembahkan untuk para pencari ilmu yang selalu dahaga akan ilmu pengetahuan, yang tak pernah lelah belajar untuk mengenal Sang pencipta alam.



OPTIMASI SUMBER KARBON PADA PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI BAKTERI INDIGEN LARVA *Leucinodes orbonalis* Guenee

Zawiyah
13640004

ABSTRAK

Enzim selulase merupakan enzim yang memiliki potensi di bidang industri. Salah satu sumber enzim selulase yaitu bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik dapat diperoleh dari lingkungan, di antaranya dari larva serangga fitofagus. Pada penelitian ini, bakteri selulolitik diisolasi dari larva *Leucinodes orbonalis* Guenee. Isolat dengan aktivitas selulolitik tertinggi digunakan untuk optimasi produksi enzim selulase dan karakterisasi isolat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi sumber karbon yang optimum dalam memproduksi enzim selulase dari bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih dan mengetahui genus dari bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih. Media basal fermentasi untuk optimasi enzim terdiri dari *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, pepton, dan $(NH_4)_2SO_4$. Optimasi produksi enzim dilakukan dengan variasi konsentrasi sumber karbon pada media fermentasi. Sumber karbon yang digunakan pada penelitian ini, yaitu CMC dengan konsentrasi 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%. Optimasi dilakukan pada suhu 35°C selama 24 jam dan agitasi 140 rpm. Selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat terpilih. Karakterisasi bakteri selulolitik terpilih dilakukan dengan mengamati morfologi koloni, morfologi sel, dan karakter biokimiawi bakteri. Berdasarkan hasil penelitian diketahui konsentrasi karbon yang optimum pada produksi enzim selulase, yaitu 2% CMC dengan aktivitas selulolitik $2,623 \times 10^{-3}$ UI/mL. Hasil karakterisasi isolat C7 menunjukkan bahwa isolat merupakan anggota dari genus *Azomonas*.

Kata kunci: Bakteri selulolitik, enzim selulase, larva *Leucinodes orbonalis*.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji bagi Allah yang memberi rahmat serta kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tulisan ini. Shalawat beriringan salam semoga senantiasa terlantunkan pada Baginda Rasulullah Muhammad SAW. serta keluarga dan sahabat beliau.

Skripsi yang berjudul “**Optimasi Sumber Karbon pada Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Indigen Larva *Leucinodes orbonalis* Guenee**” ditulis untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat sarjana strata satu pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Terlepas daripada itu, penulis berharap skripsi ini tidak terhenti sampai disini melainkan sebagai stimulus serta langkah awal untuk terus mencari dan mengupgrade ilmu guna dapat memberikan kontribusi dan manfaat bagi sekitar. Penulis sadar bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan, sehingga penulis sangat menerima saran dan kritik yang membangun demi kebaikan tulisan ini kedepannya.

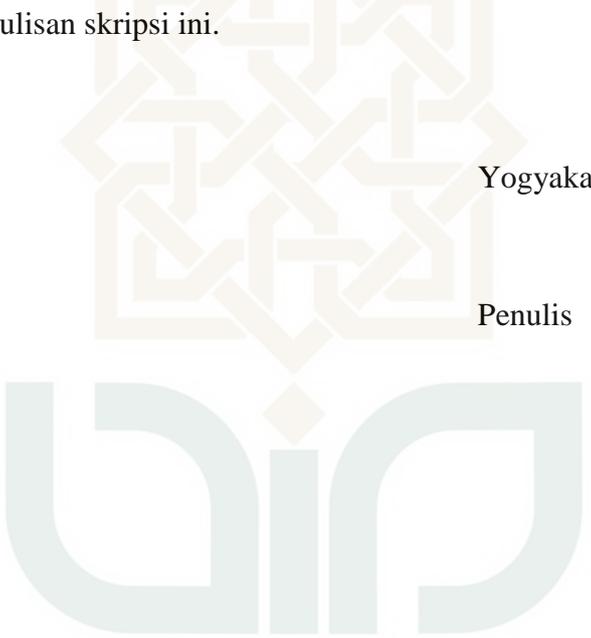
Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Dr. Murtono, M. Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Erny Qurotul Ainy, S. Si., M. Si selaku Ketua Program Studi Biologi sekaligus dosen Pembimbing I yang telah dengan sabar membimbing penulis, meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing penulis, serta memberikan motivasi bagi penulis.
3. Ibu Dr. Maizer Said Nahdi, S. Si., M, Si. selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama masa studi.
4. Ibu Jumailatus Solihah, S. Si., M. Biotech. selaku dosen Pembimbing II sekaligus Penguji I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan kepada penulis.
5. Ibu Dr. Arifah Khusnuryani, S, Si., M. Si. selaku Penguji II yang telah bersedia memberikan saran-saran yang membangun demi kebaikan skripsi ini dan bimbingan.
6. Kedua orang tua penulis, Bapak M. Hasan Husein, S, Ag. dan Ibu Mariana yang menyertai setiap langkah penulis dengan doa dan nasehat.
7. Kedua kakak penulis Nur Hasanah, S. Pd. I dan Nur Mala, S. SiT, serta keluarga

8. Mbak Ethik Susiawati, S. Si, Bapak. Dony Eko Saputro, S. Pd. I, Mbak Anif Yuni Muallifah, S. Pd. I, dan Bapak Sutriyono, S. Si. selaku PLP Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
9. Teman-teman Mikrofilik UIN Sunan Kalijaga khususnya Rini, Santi, Risza, Romli, Subkhan, dan Mba Rifa yang telah memberi banyak masukan bagi penulis dan keceriaan selama masa penelitian di Laboratorium.
10. Teman-teman Program Studi Biologi angkatan 2013 yang senantiasa memberikan semangat
11. Teman-teman Asrama terkhusus Mba Ummu Salamah, S. Hum. Teh Syifa Nadia, S. H. Dian Widyastuti.
12. Rayhannisa Irawan, Masniar Sarwenda dan Raudhatul Jannah Baihaqi.
13. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Yogyakarta, 08 Agustus 2017

Penulis



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI/ TUGAS AKHIR	ii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
HALAMAN ABSTRAK	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	2
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. <i>Leucinodes orbonalis</i> Guenee	7
B. Enzim Selulase	10
C. Mikroba Selulolitik	14
D. Optimasi Produksi Selulase oleh Bakteri.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Alat dan Bahan.....	17
B. Prosedur Kerja.....	18
1. Isolasi dan <i>screening</i> bakteri (penapisan) selulolitik	18
2. Optimasi umur inokulum untuk produksi enzim selulase.....	19
3. Produksi enzim pada media fermentasi.....	20

4. <i>Enzyme assay</i>	20
5. Optimasi produksi enzim selulase.....	21
6. Karakterisasi bakteri selulolitik pilihan	22
7. Identifikasi isolat bakteri pilihan Tingkat Genus (<i>Generic Assignment</i>) dengan Metode <i>Profile Matching</i>	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Isolasi Bakteri Indigen Larva <i>Leucinodes orbonalis</i> (G.).....	30
B. Hasil <i>Sceening</i> dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik.....	31
C. Optimasi Produksi Enzim Selulase dari Isolat C7	34
1. Optimasi umur inokulum untuk produksi enzim selulase.....	34
2. Optimasi produksi enzim selulase.....	37
D. Karakterisasi Isolat Terpilih.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Telur <i>Leucinodes orbonalis</i>	8
Gambar 2. Larva <i>Leucinodes orbonalis</i>	9
Gambar 3. Pupa <i>Leucinodes orbonalis</i>	9
Gambar 4. <i>Leucinodes orbonalis</i>	10
Gambar 5. Mekanisme degradasi selulosa.....	11
Gambar 6. Faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim.....	13
Gambar 7. Struktur <i>Carboxymethyl Cellulose</i>	16
Gambar 8. Aktivitas selulolitik isolat.....	32
Gambar 9. Kurva pertumbuhan isolat C7.....	35
Gambar 10. Produksi enzim selulase dan jumlah sel isolat C7.....	38
Gambar 11. Mekanisme <i>Feed Back Inhibition</i>	39
Gambar 12. Morfologi koloni dan sel isolat C7.....	41
Gambar 13. Kurva laju pertumbuhan isolat C7.....	53
Gambar 14. Kurva laju pertumbuhan isolat C7.....	54
Gambar 15. Metode pembuatan reagen DNS.....	55
Gambar 16. Kurva standar glukosa.....	56

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakter yang diujikan pada bakteri selulolitik terpilih.....	22
Tabel 2. Morfologi koloni isolat bakteri	30
Tabel 3. Morfologi koloni bakteri hasil purifikasi	30
Tabel 4. Aktivitas selulolitik bakteri indigen larva.....	32
Tabel 5. Hasil <i>profile matching</i> isolat bakteri C7	43
Tabel 6. Jumlah sel dan laju pertumbuhan isolat C7	52
Tabel 7. Hasil pengukuran absorbansi glukosa.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media.....	51
Lampiran 2. Pertumbuhan Isolat C7	52
Lampiran 3. Laju Pertumbuhan Isolat C7	53
Lampiran 4. <i>Enzyme Assay</i>	55
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	57



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim merupakan molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan berfungsi sebagai katalisator pada berbagai proses kimia (Rifai, 2004). Salah satu jenis enzim yang berperan besar dalam kehidupan adalah enzim selulase. Enzim selulase berfungsi mendegradasi selulosa (Murashima *et al.*, 2002 dalam Al-Arif *et al.*, 2012) dengan cara mengkatalisis terjadinya reaksi hidrolisis pada selulosa (Andhikawati *et al.*, 2014).

Menurut Andhikawati *et al.*, (2014), enzim selulase banyak digunakan di bidang industri, seperti industri kertas, detergen, tekstil, makanan, pakan ternak, dan pembuatan bahan bakar alternatif yang bersumber dari biomassa selulosa. Selain itu, enzim selulase juga dapat digunakan pada industri agrikultural, ekstraksi minyak zaitun, ekstraksi karotenoid, farmasi dan medis, serta rekayasa genetika (Sharada *et al.*, 2014). Penggunaan enzim selulase di bidang industri bertujuan agar proses produksi lebih efisien dan produk yang dihasilkan lebih berkualitas.

Tingginya aplikasi enzim selulase dalam industri berdampak pada tingkat perdagangannya secara global. Jaradat *et al.* (2008) memperkirakan perdagangan enzim selulase mencapai 20% dalam perdagangan enzim di

dunia. Adapun menurut Rakhmawati *et al.*, (2014) penggunaan enzim selulase pada periode 2004-2014 mengalami peningkatan hingga 100%.

Salah satu faktor yang menyebabkan peningkatan penggunaan enzim selulase di bidang industri yaitu lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan penggunaan katalis kimia, seperti H_2SO_4 dan HCl (Taherzadeh & Karimi, 2007). Selain itu penggunaan enzim selulase di bidang industri dapat mengurangi penggunaan bahan kimia dan menurunkan pengolahan residu dari bahan kimia (Rismijana *et al.*, 2003).

Menurut Andhikawati *et al.*, (2014), enzim selulase dapat diproduksi dari makroorganisme dan mikroorganisme selulolitik. Enzim selulase dapat diisolasi dari hewan dan tumbuhan. Namun demikian produksi enzim dari mikroorganisme lebih unggul dibandingkan dengan makroorganisme karena beberapa alasan, seperti mikroorganisme lebih mudah untuk dikultur dan waktu produksi yang relatif cepat dibandingkan dengan makroorganisme, produksi enzim lebih mudah untuk ditingkatkan, biaya produksi relatif lebih ekonomis, dan proses produksi tidak ditentukan oleh musim (Poernomo, 2003 *dalam* Sianturi, 2008).

Mikroorganisme selulolitik dapat berupa kapang atau bakteri. Produksi enzim selulase oleh bakteri memiliki beberapa keunggulan, yaitu pertumbuhan bakteri dan tingkat produksi enzim lebih cepat serta enzim yang diproduksi lebih kompleks dan multi enzim sehingga dapat meningkatkan fungsi enzim (Rakhmawati *et al.*, 2014). Selain itu hasil produksi enzim dapat ditingkatkan melalui pengaturan kondisi pertumbuhan

dan rekayasa genetika (Yusriah & Kuswytasari, 2013 *dalam* Rakhmawati *et al.*, 2014).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, bakteri selulolitik dapat diperoleh dari berbagai lingkungan diantaranya serasah daun (William & Govind 2003), limbah sagu (Yanti & Munir, 2014), kayu yang telah membusuk (Paudel & Qin, 2015), padang pasir Tengger Bromo (Sonia & Kusnadi, 2015), saluran pencernaan keong (Al-Arif *et al.*, 2012), saluran pencernaan ikan (Ray *et al.*, 2007), dan rayap (Purwadaria *et al.*, 2003). Menurut Maryanto *et al.*, (2013), mikroba selulolitik juga dapat ditemukan pada larva, pupa, dan isi perut kumbang. Penemuan mikroba selulolitik pada serangga disebabkan sebagian besar serangga tergolong sebagai serangga fitofagus atau pemakan tanaman (Hadi *et al.*, 2009). Serangga pemakan tanaman biasanya dikenal sebagai hama tanaman karena kemampuannya yang tinggi dalam merusak tanaman.

Kemampuan serangga dalam mencerna tanaman memungkinkan terjadinya simbiosis mutualisme antara serangga dengan mikroba selulolitik yang berperan membantu proses pencernaan (Suheriyanto, 2008). Pernyataan ini juga didukung oleh hasil analisis enzim pada larva kumbang yang menunjukkan adanya enzim amilase, selulase, invertase, maltase, hemiselulase, laktase, dan proteinase (Maryanto *et al.*, 2013). Saha dan Ray (2015), melaporkan telah berhasil mengisolasi 3 jenis bakteri selulolitik dari *Larva leucinodes orbonalis* (G.). Akan tetapi belum sampai pada tahap optimasi dan identifikasi.

Pelczar dan Chan (2006) melaporkan kandungan enzimatis pada sel bakteri sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Hal ini terbukti pada *Escherichia coli* yang ditumbuhkan pada kondisi lingkungan yang berbeda-beda menghasilkan jenis enzim yang berbeda dengan jumlah yang berbeda pula (Pelczar & Chan, 2006). Menurut Immanuel *et al.*, (2006) dalam Sethi *et al.*, (2013) dan Ray *et al.*, (2007), produksi enzim selulase oleh mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi inokulum, pH media pertumbuhan, temperatur lingkungan, keberadaan inducer, komposisi media pertumbuhan, ketersediaan oksigen, waktu pertumbuhan mikroorganisme, dan lain-lain. Oleh karena itu penelitian organisme secara fisiologis harus dilakukan pada keadaan yang telah ditetapkan, baik berupa kandungan atau komposisi media yang berfungsi sebagai tempat sel ditumbuhkan maupun keadaan fisik pada saat inkubasi.

Media merupakan sumber nutrisi bagi mikroba yang dikultivasi. Nutrisi memiliki peran penting dalam pertumbuhan mikroba karena nutrisi dapat mempengaruhi proses metabolisme mikrobia (Madigan *et al.*, 2012). Salah satu nutrisi yang memiliki peranan sangat penting bagi mikroba adalah karbon (Pelczar & Chan, 2006). Sumber karbon yang biasa digunakan untuk produksi selulase oleh mikroba dapat berupa *starch*, glukosa, maltosa, laktosa, atau fruktosa (Sethi *et al.*, 2013). Selain itu, sumber karbon dapat berupa polisakarida yang bersumber dari limbah pertanian, seperti bonggol jagung dan sekam padi (Rahmadani & Susanti,

2013). Menurut Abou- Taleb *et al.*, (2009) dalam Putri (2014) CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) merupakan substrat terbaik untuk produksi selulase karena dapat menginduksi mikroba untuk menghasilkan selulase. CMC adalah polimer yang terdiri dari unit selulosa (Kamal, 2010).

Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk memperoleh bakteri selulolitik yang berbeda pada larva serangga *Leucinedes orbonalis* dan optimasi sumber karbon pada produksi enzim selulase dari bakteri indigen larva *Leucinedes orbonalis*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan sebelumnya, masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah:

1. Berapakah konsentrasi sumber karbon yang optimum dalam produksi enzim selulase oleh bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih?
2. Termasuk ke dalam genus manakah bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui konsentrasi sumber karbon yang optimum dalam memproduksi enzim selulase dari bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih.
2. Mengetahui genus dari bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi dari bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) sebagai bakteri selulolitik, sehingga potensinya dapat dikembangkan sebagai penghasil enzim selulase untuk memenuhi kebutuhan enzim selulase di bidang industri.
2. Memberikan informasi ilmiah mengenai konsentrasi sumber karbon optimum bagi bakteri indigen *L. orbonalis* (G.) dalam memproduksi enzim selulase.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Konsentrasi karbon optimum dalam produksi enzim selulase oleh bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih pada penelitian ini, yaitu CMC 2% dengan aktivitas selulase sebesar $2,623 \times 10^{-3}$ IU/mL.
2. Bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) terpilih diduga termasuk ke dalam genus *Azomonas*.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan optimasi produksi enzim lebih lanjut untuk mengetahui potensi bakteri indigen larva *L. orbonalis* (G.) sebagai penghasil enzim selulase
2. Perlu dilakukan karakterisasi enzim selulase untuk mengetahui pH, suhu, konsentrasi substrat, dan jenis substrat yang optimum untuk enzim selulase, sehingga enzim selulase dari bakteri indigen *L. orbonalis* (G.) dapat dioptimalkan penggunaannya di bidang industri.
3. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut pada isolat terpilih. Baik karakterisasi biokimiawi bakteri maupun identifikasi secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26, 1-20.
- Al-Arif, M. A., Darmanto, W., Puspaningsih, N. N. T., & Suwarno. (2012). Isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik dengan aktivitas tinggi dalam saluran pencernaan keong emas (*Pomacea canaliculata*). *JBP*, 14 (2), 86-92.
- Anand, A. A. P., Vennison, S. J., Sankar, S. G., Prabhu, D. I. G., Vasani, P. T., Raghuraman, T. *et al.* (2010). Isolation and characterization of bacteria from the gut of *Bombyx mori* that degrade cellulose, xylan, pectin and starch and their impact on digestion [Electronic version]. *Journal of Insect Science*, 10 (107).
- Andhikawati, A., Oktavia, Y., Ibrahim, B., & Tarman, K. (2014). Isolasi dan penapisan kapang laut endofit penghasil selulase. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6 (1), 219-227.
- Boleng, D. T. (2015). *Bakteriologi: Konsep-konsep Dasar*. Malang: UMM Press.
- Chakraborti, S., & Sarkar, P. K. (2011). Management of *Leucinodes orbonalis* Guenee on eggplants during the rainy season in India. *Journal of Plant Protection Research*, 51 (4), 325-328.
- Dias, P. V. S., Ramos, K. O., Padilha, I. Q. M., Araújo, D. A. M., Santos, S. F. M., & Silva, F. L. H. (2014). Optimization of cellulase production by *Bacillus* sp. isolated from sugarcane cultivated soil. *Chemical Engineering Transaction*, 38, 277-282.
- Dini, I. R., & Munifah, I. (2014). Produksi dan karakterisasi enzim selulase ekstrak kasar dari bakteri yang diisolasi dari limbah rumput laut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 6 (3). Diakses 7 Oktober, 2016, dari <http://dx.doi.org/10.17969/jtipi.v6i3.2315>.
- Ghose, T. K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure and Appl, Chem*, 59 (2), 257-268.
- Hadi, M., Tarwojto, U., & Rahadian, R. (2009). *Biologi Insekta Entomologi*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Harley, J. P., & Prescott, L. M. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology* (5th ed). London: Mc-Graw Hill.
- Hidayat, N., Padaga, M. C., & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: penerbit ANDI.

- Horikoshi, K. (1999). Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiol of Mol Biol Rev*, 63 (4), 735-750.
- Hu, X., Yu, J., Wang, C., & Chen, H. (2014). Cellulolytic bacteria associated with the gut *Dendroctonus armandi* larvae (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Forests*, 5, 455-465.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q., & Nadeem, M. (2012). Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity [Electronic version]. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem*, 37 (3), 287-293.
- Jacquelyn, G., & Black, L. (2008). *Microbiology: Principles and Explorations*. American: John Wiley & Sons, Inc.
- Jaradat, Z., Dawagreh, A., Ababneh, Q., & Saadoun, I. (2008). Influence of culture condition on cellulose production by *Streptomyces* sp (strain J2). *Jordan Jbiol Sci*, 1, 141-146.
- Johnson, T. R., & Case, C. L. (2013). *Laboratory Experiments in Microbiology* (10th ed). New York: Pearson.
- Kamal, N. (2010). Pengaruh bahan aditif CMC (Carboxyl Methyl Cellulose) terhadap beberapa larutan parameter pada larutan sukrosa. *Jurnal Teknologi*, 1 (17), 78-84.
- Khatiwada, P., Ahmed, J., Sohag, M. H., Islam, K., & Azad, A. K. (2016). Isolation, screening and characterization of cellulase producing bacterial isolates from municipal solid waste and rice straw waste. *J Process Biotech*, 6 (4). Diakses 6 Maret, 2017, dari <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9821.1000280>.
- Kuhad, R. C., Gupta, R., & Singh, A. (2011). Mikrobial cellulases and their industrial application. *SAGE-Hindawi Acces to Research, Enzyme Research*., 2011, 1-10.
- Lamid, M., Nugroho, T. P., Chusniati, S., & Rochiman, K. (2011). Eksplorasi bakteri selulolitik asal cairan rumen sapi potong sebagai bahan inokulum limbah pertanian. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*, 4 (1), 37-42.
- Lynd, L. R., Weimer, J. P., Zyl, W. H. V., & Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamental and biotechnology. *Microbial and Molecular Biology Reviews*, 66 (3), 506-577.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). *Brock Biology of Microorganism* (13th ed.). New York: Benjamin Cummings.
- Mainali, R. P. (2014). Biology and mangement of eggplant fruit and shoot borer, *Leucinodes orbonalis* Guenee. (Lepidoptera: Pyralidae): A Review.

- International Journal of Applied Sciences and Biotechnology (IJASBT)*, 2 (1), 18-28.
- Maryanto, I., Rahajoe, J. S., Munawar, S. S., Dwiyanto, W., Asikin, D., Ariati, S. R. *et al.* (2013). *Bioresources untuk Pembangunan Ekonomi Hijau*. Jakarta: LIPI Press.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., & Satria, H. (2009). Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara, Sains*, 13 (1), 33-38.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31 (3), 426-428.
- Moat, A. G., Foster, J. W., & Spector, M. P. (2002). *Microbial Physiology* (4th ed). New York: United States of America.
- Paudel, Y. P., & Qin, W. (2015). Characterization of novel cellulase-producing bacteria isolated from rotting wood sampel. *Appl Biochem Biotechnol*, 177, 1186-1198.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2006). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-press.
- Pramono, Y. B., Harmayani, E., & Utami, T. (2003). Kinetika pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus* sp pada media MRS cair. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 16 (1), 46-50.
- Purwadaria, T., Marbun, P. A., Sinurat, A. P., & Ketaren, P. P. (2003). Perbandingan aktivitas enzim selulase dari bakteri dan kapang hasil isolasi dari rayap. *JITV*, 8 (4), 213-219.
- Purwoko, T. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putri, F. I. C. E. (2014). Optimasi produksi selulase dari bakteri laut *Bacillus cereus*. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahmadani, A. H., & Susanti, E. (2013). Kajian potensi limbah pertanian sebagai sumber karbon pada produksi avicelase dan CMCase dari *Bacillus circulans*. *Valensi*, 3 (2). 82-87.
- Rakhmawati, A., Yulianti, E., & Rohaeti, E. (2014). Seleksi bakteri termofilik selulolitik pasca erupsi merapi. *J. Kaunia*, 10 (2), 92-102.
- Ray, A. K., Bairagi, A., Ghosh, K. S., & Sen, S. K. (2007). Optimization of fermentation conditions for cellulase production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 37 (1), 47-53.

- Rifai, M. A. (2004). *Kamus Biologi*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Rismijana, J., Indriani, I. N., & Pitriyani, T. (2003). Penggunaan enzim selulase-hemiselulase pada proses deinking kertas koran bekas. *Jurnal Matematika dan Sains*, 8 (2), 67-71.
- Saha, P., & Ray, R. R. (2015). Production polysaccharide degrading enzyme by the gut microbiota *Leucinodes orbonalis* and *Bactrocera dorsalis*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3 (1), 122-125.
- Sandanayake, W. R. M., & Edirisinghe, J. P. (1992). Trathala flavoorbitalis: parasitization and development in relation to host-stage attacked. *Insect Sci. Applic*, 13 (3), 287-292.
- Sari, S. L. A., Pangastuti, A., & Winarseh, S. (n.d). penapisan bakteri selulolitik dari saluan pencernaan *Attacus atlas* L. makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional Mikrobiologi- Fakultas Biologi UKSW. Salatiga.
- Sarkar, D., & Chaki, S. (2013). Studis of antifungal activity of a bacterial strain on some food spoilege fungus. *Int J Pharm Bio Scie*, 4 (4), 299-303.
- Saropah, D. A., Jannah, A., & Maunatin, A. (2012). Kinetika reaksi enzimatik ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *ALCHEMY*, 2 (1). 34-45.
- Sethi, S., Datta, A., Gupta, B. L., & Gupta, S. (2013). Optimization of cellulase production from bacteria isolated from soil. *ISRN Biotechnology*, 2013. Diakses 20 Maret, 2016, dari <http://dx.doi.org/10.5402/2013/985685>.
- Sharada, R., Venkateswarlu, G., Venkateswar, S., & AnandRao, M. (2014). Applications of cellulases-review. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 4 (2), 424-437.
- Shil, R. K., Mojumder, S., Sadida, F. F., Uddin, M., & Sikdar, D. (2014). Isolation and identification cellulolytic bacteria from the gut of tree phytopagus insect species. *Braz. Arch. Biol. Tecnol*, 57 (6), 927-932.
- Sianturi, D. C. (2008). Isolasi bakteri dan uji aktivitas amilase termofil kasar dari sumber air panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara. [Tesis]. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Sonia, N. M. O., & Kusnadi, J. (2015). Isolasi dan karakterisasi parsial enzim selulase dari isolat bakteri OS-16 asal padang pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (4), 11-19.
- Srinivasan. R. (2009). *Insect and Mite Pests on Eegplant: A field guide for identification and management*. Taiwan: AVRDC-The World Vegetable Center.

- Suheriyanto, D. (2008). *Ekologi Serangga*. Malang: UIN-Malang Press.
- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources*, 2 (3), 472-499.
- Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K. K., De, R., Saxena, A. K., Nautiyal, C. S. *et al.* (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, 89 (1), 136-150.
- Wijayani, A., Ummah, K., & Tjahjani, S. (2005). Karakterisasi karboksimetil selulosa (CMC) dari enceng gondok (*Eichornia carassipes* (Mart) Solms). *Indo. J. Chem*, 5 (3), 228-231.
- William, R., & Govind, N. S. (2003). Identification of carbohydrate degrading bacteria in sub-tropical regions. *Rev. Biol. Trop.*, 51 (4), 205-210.
- Yanti, N. A., & Munir, A. (2014). *Sceening* bakteri amilolitik dan selulolitik dari limbah sagu. *Biowallacea*, 1 (1), 1-6.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media

Media Isolasi Selektif Bakteri Selulolitik

Pepton	1,0%
K ₂ HPO ₄	0,2%
CMC	1,0%
Agar	1,8%
Akuades	100mL

(Apun *et al.*, 2000 dalam Yanti & Munir, 2014)

Media Purifikasi Selektif

CMC	1,0%
Agar	1,8%
Akuades	100mL

(Apun *et al.*, 2000 dalam Yanti & Munir, 2014)

Media Penapisan (*Screening*) Bakteri Selulolitik

MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05%
Na ₂ HPO ₄ .2 H ₂ O	0,5%
NaCl	0,23%
Yeast Extract	0,2%
CMC	1,0%
Agar	2,0%
Akuades	100mL

(Ji *et al.*, 2003 dalam Al-Arif *et al.*, 2012)

Media Fermentasi Produksi Enzim

CMC	1%
K ₂ HPO ₄	0,2%
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,03%
Pepton	1%
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,25%
Akuades	100mL

(Irfan *et al.*, 2014)

Lampiran 2. Optimasi pertumbuhan isolat C7

Tabel 6. Jumlah sel dan laju pertumbuhan isolat C7

t (jam)	absorbansi				Cell/mL (10e6)				Log Cell/mL				μ (Laju Pertumbuhan Bakteri)			
	0,50%	1%	1,50%	2%	0,50%	1%	1,50%	2%	0,50%	1%	1,50%	2%	0,50%	1%	1,50%	2%
0	0,009	0,034	0,004	0,005	45	170	20	25	7,65	8,23	7,3	7,39	0	0	0	0
3	0,011	0,047	0,02	0,016	55	235	100	80	7,74	8,37	8	7,9	0,066890231	0,107929025	0,536479304	0,387716936
6	0,083	0,103	0,077	0,028	415	515	385	140	8,61	8,71	8,58	8,14	0,370269338	0,184728077	0,49291851	0,287127766
9	0,206	0,217	0,214	0,132	1.030	1.085	1070	660	9,01	9,03	9,03	8,82	0,347850176	0,205948536	0,44218685	0,363707112
12	0,374	0,391	0,385	0,286	1.870	1.955	1.925	1.430	9,27	9,29	9,28	9,15	0,310585935	0,203528919	0,380579081	0,337212824
15	0,476	0,482	0,495	0,323	2.380	2.410	2.475	1.615	9,37	9,38	9,39	9,2	0,264546218	0,176772239	0,32121756	0,27788096
18	0,588	0,608	0,556	0,353	2.940	3.040	2.780	1.765	9,46	9,48	9,44	9,24	0,232194576	0,160211908	0,27413744	0,236501674
21	0,65	0,968	0,662	0,426	3.250	3.490	3.310	2.130	9,51	9,54	9,51	9,32	0,203797513	0,143898027	0,243284342	0,211666734
24	0,688	0,747	0,72	0,602	3.440	3.735	3.600	3.010	9,53	9,57	9,55	9,47	0,180690177	0,128737694	0,216373202	0,19961748

Contoh perhitungan laju pertumbuhan bakteri:

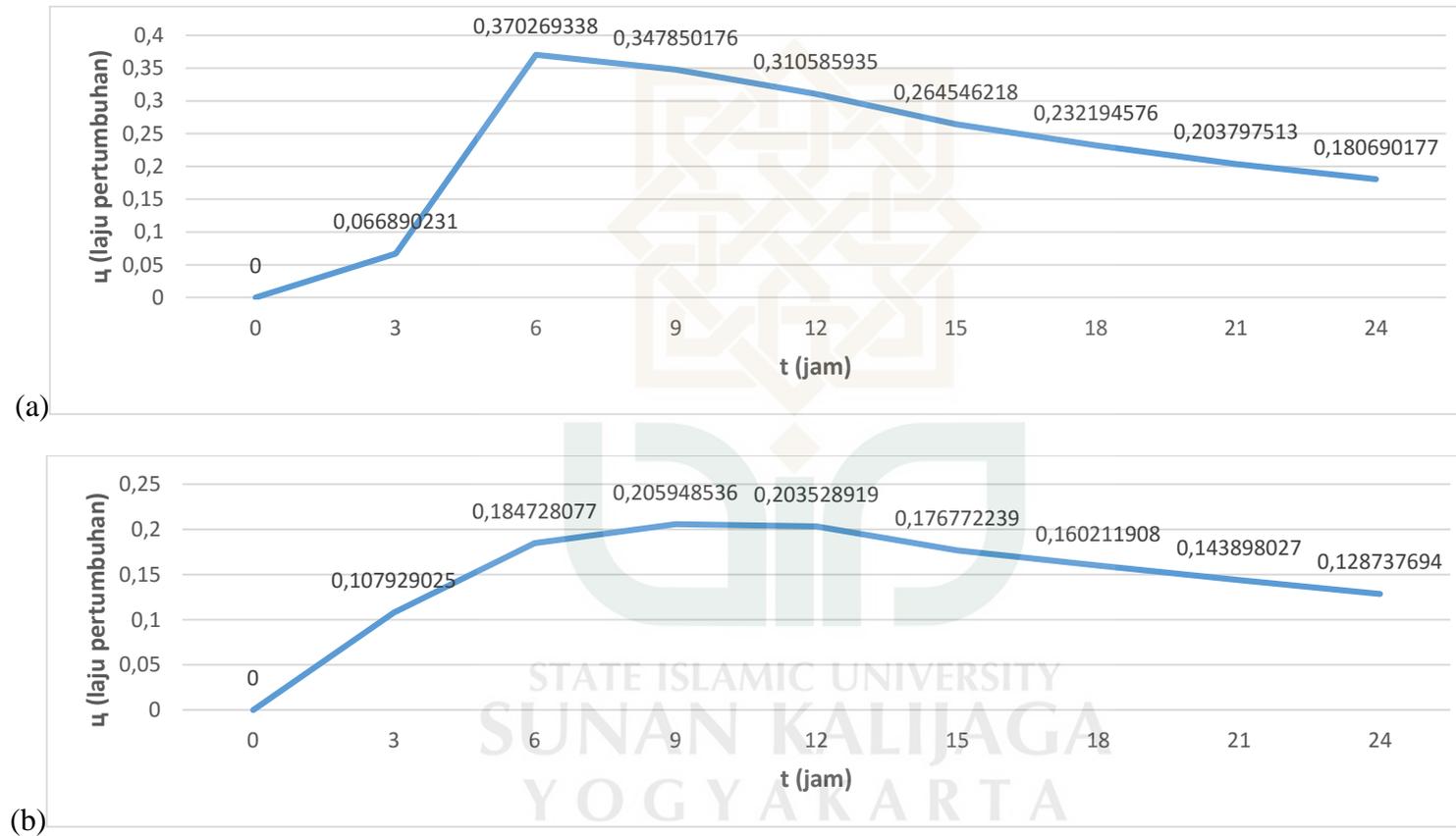
$$\mu = \frac{\ln Xt - \ln Xo}{\Delta t}$$

$$\mu = \frac{\ln 55 \cdot 10^6 - \ln 45 \cdot 10^6}{3 - 0}$$

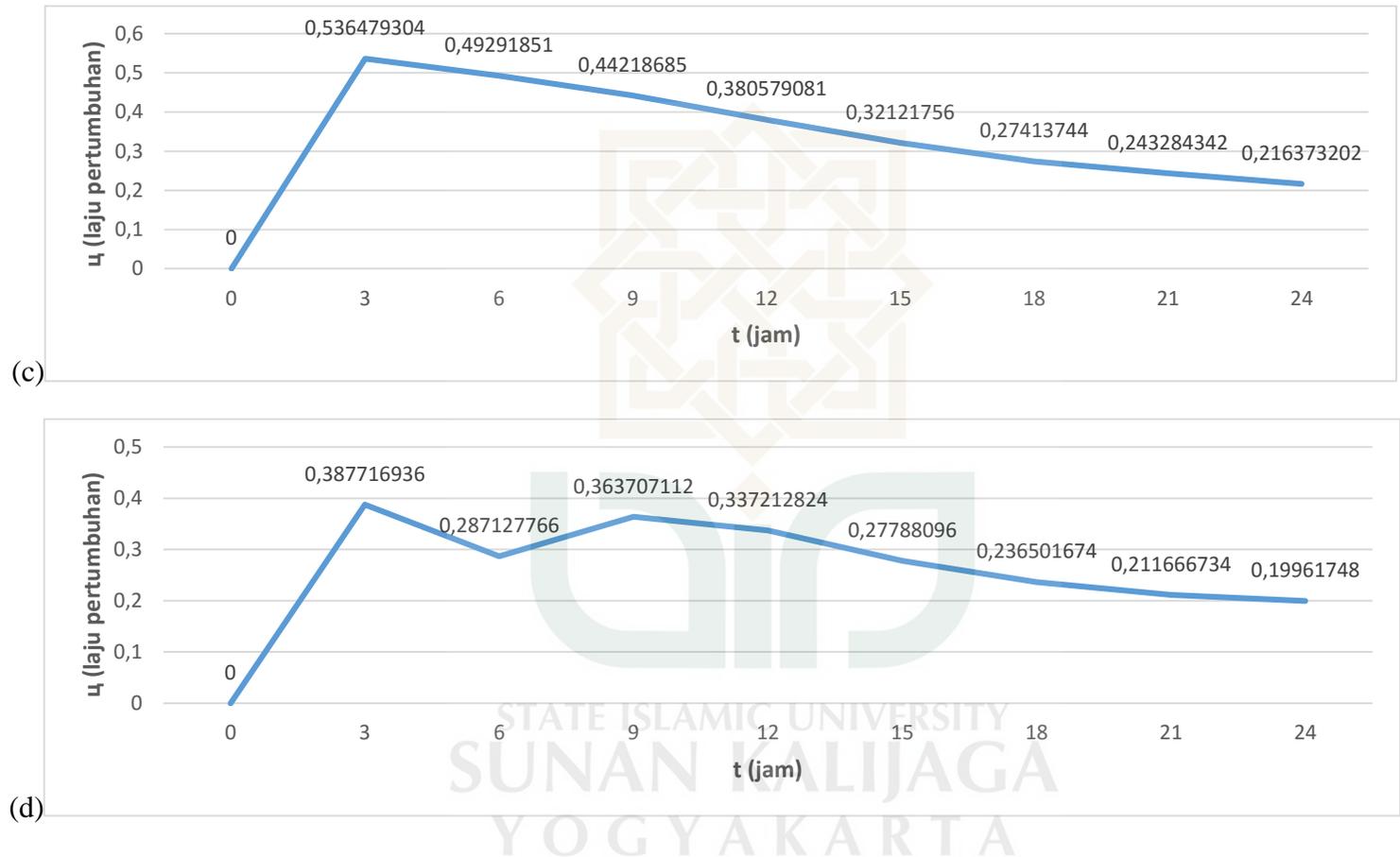
$$\mu = 0,066890231$$

keterangan: Xo = Jumlah sel awal; Xt = Jumlah sel yang bertambah; Δt = Interval waktu (Pramono *et al.*, 2003)

Lampiran 3. Laju Pertumbuhan Isoalat C7 pada Media Fermentasi



Gambar 13. Kurva laju pertumbuhan isolat C7 pada media fermentasi dengan konsentrasi CMC 0,5% (a) dan 1% (b)

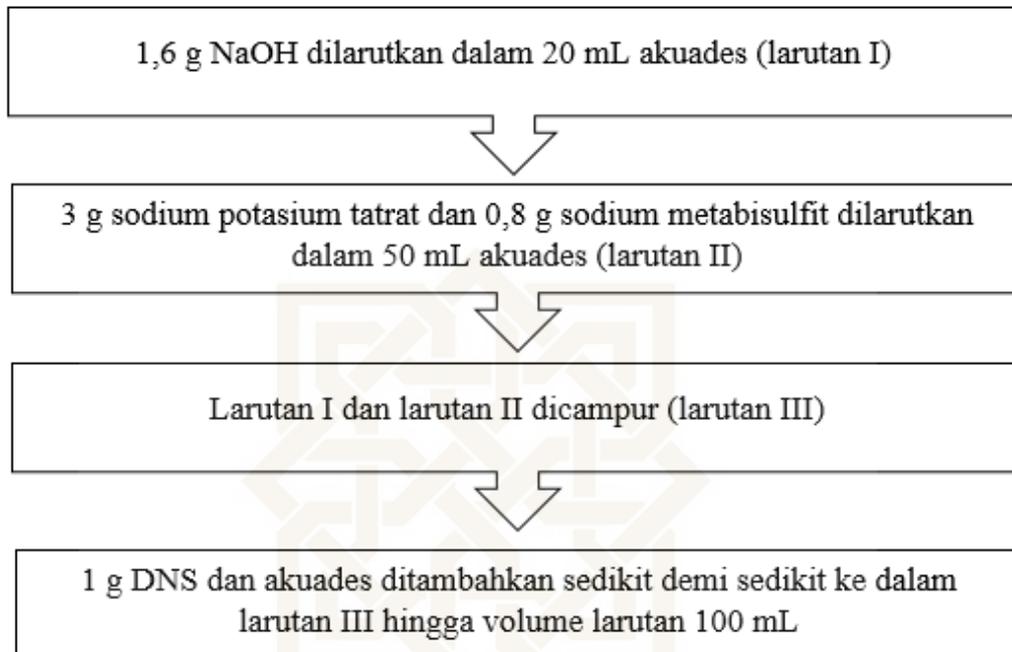


Gambar 14. Kurva laju pertumbuhan isolat C7 pada media fermentasi dengan konsentrasi CMC 1,5% (c) dan 2% (d).



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

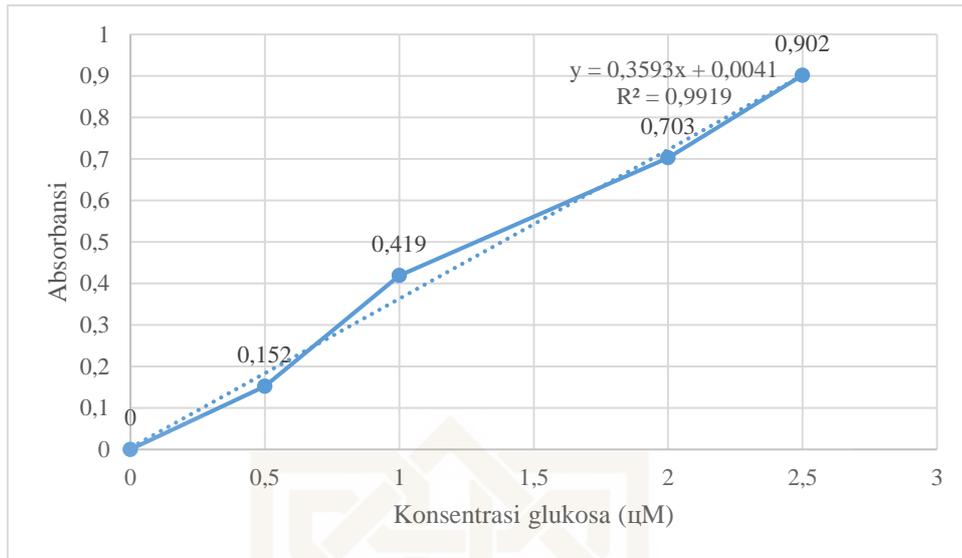
Lampiran 4. *Enzyme Assay*



Gambar 15. Metode pembuatan reagen 3, 5-*Dinitrosalicylic Acid* (Miller, 1959 yang dimodifikasi)

Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi glukosa pada pembuatan kurva standar glukosa

No	Konsentrasi karbon (%)	Nilai absorbansi glukosa (y)
1	0,5	0,028
2	1	0,018
3	1,5	0,022
4	2	0,055



Gambar 16. Kurva standar glukosa

Contoh perhitungan:

$$y = 0,3593x + 0,0041$$

$$0,028 = 0,3593x + 0,0041$$

$$0,3593x = \frac{0,028 - 0,0041}{0,3593}$$

$$x = \frac{0,0289}{0,3593}$$

$$x = 0,066518229$$

Keterangan

y = nilai absorbansi glukosa (produk aktivitas selulolitik)

$$IU = \frac{\mu\text{M glukosa}}{\text{mL} \times \text{waktu}}$$

$$IU = \frac{0,066518229}{1,8 \times 30}$$

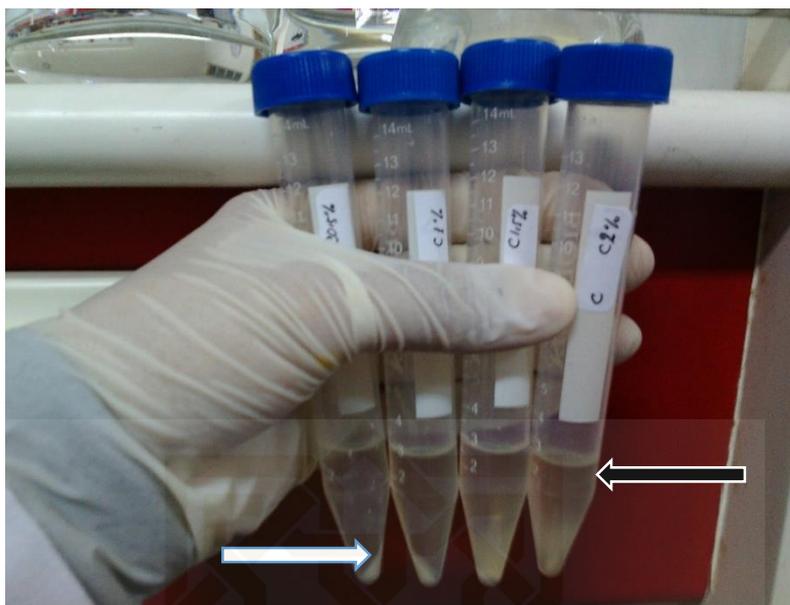
$$= 1,23 \times 10^{-3}$$

(Ghose, 1987)

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



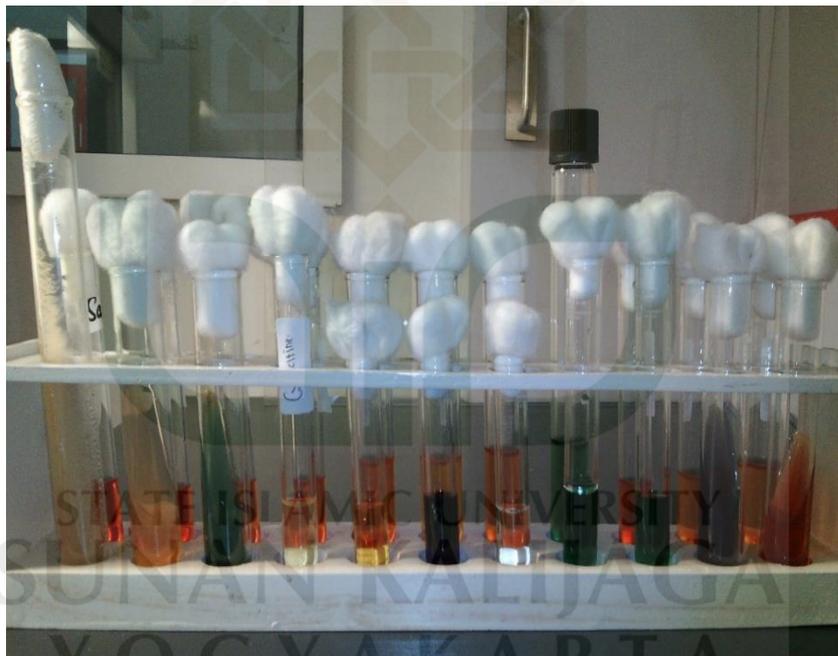
Gambar 16. Proses pengukuran aktifitas enzim selulase



Gambar 17. Hasil sentrifugasi kultur setelah dilakukan optimasi produksi enzim. Panah berwarna hitam Supernatan (*crude enzyme*), panah berwarna putih pelet



Gambar 18. Bahan yang digunakan untuk uji oksidase (*oxidase strips*), katalase (H_2O_2), dan sifat Gram (KOH 3%)



Gambar 19. Media uji biokimia sebelum diinokulasikan isolat



Gambar 20. Proses pengukuran aktivitas enzim selulase

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Lampiran 5

CURRICULUM VITAE

A. Identitas diri

1. Nama : Zawiyah
2. Tempat/Tanggal Lahir : Langsa, 23 Februari 1996
3. Nama Ayah : M.Hasan Husein
4. Nama Ibu : Mariana
5. Asal Sekolah : MA Negeri Lhokseumawe
6. Alamat kos : Sapen GK I/519 Yogyakarta
7. Alamat Rumah : Dusun Lampoh Goeng, Kel.Tanjong Selamat,
Kec, Darussalam, Kab. Aceh Besar.
8. Email : hasanzawiyah0@gmail.com
9. No. Hp : 082272268458

B. Riwayat Pendidikan Formal :

1. TK Tunas Harapan : tahun lulus 2001
2. SDN 2 Indra Makmu JRU : tahun lulus 2007
3. MTs Negeri Lhokseumawe : tahun lulus 2010
4. MA Negeri Lhokseumawe : tahun lulus 2013

C. Pengalaman Organisasi

1. PPK (Program Pendamping Keagamaan) '15

Yogyakarta, Agustus 2017

Zawiyah
NIM: 13640004