

**UJI AKTIFITAS SELULASE ISOLAT BAKTERI Rpe 5 DAN Rpe 11 ASAL
SALURAN PENCERNAAN RAYAP *Cryptotermes cycocephalus* Light.**



DISUSUN OLEH:

**NUR AFIFAH ZHAFIRAH
H041181301**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI AKTIFITAS SELULASE ISOLAT BAKTERI Rpe 5 DAN Rpe 11 ASAL
SALURAN PENCERNAAN RAYAP *Cryptotermes cycocephalus* Light.**

S K R I P S I

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*

NUR AFIFAH ZHAFIRAH

H041 18 1301

DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIFITAS SELULASE ISOLAT BAKTERI Rpe 5 DAN Rpe 11 ASAL
SALURAN PENCERNAAN RAYAP *Cryptotermes cycocephalus* Light.**

Disusun dan diajukan oleh

NUR AFIFAH ZHAFIRAH

H041 18 1301

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana yang dibentuk
dalam rangka Penyelesaian Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin

Universitas Hasanuddin

Pada tanggal 03-06-2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dr. Nur Haedar, M.Si
NIP. 19680129 199702 2 001

Pembimbing Pertama



Dr. Eva Johanes, M.Si
NIP. 19610217 198601 2 001

Ketua Program Studi,



Dr. Nur Haedar, M.Si
NIP. 19680129 199702 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Afifah Zhafirah
NIM : H041181301
Program Studi : Biologi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul:

UJI AKTIFITAS SELULASE ISOLAT BAKTERI Rpe 5 DAN Rpe 11 ASAL

SALURAN PENCERNAAN RAYAP *Cryptotermes cycocephalus* Light.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 03-06-2022

Yang menyatakan



Nur Afifah Zhafirah

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Warohmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kelimpahan rahmat, nikmat serta hidayah dan kehadiran Allah SWT. Sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir ini. Tak lupa pula kita kirimkan salam dan shalawat kepada baginda Rasulullah SAW. Beserta keluarga dan sahabat-sahabatnya yang membawa ajaran islam sehingga dapat mengangkat derajat manusia dari peradaban jahiliah menuju peradaban yang penuh dengan ilmu pengetahuan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan judul **“Uji Aktifitas Selulase Isolat Bakteri Rpe 5 dan Rpe 11 Asal Saluran Pencernaan Rayap *Cryptotermes cycocephalus* Light.”**.

Skripsi ini merupakan salah satu tugas akhir yang penulis ajukan untuk memenuhi syarat yang berlaku dalam proses menyelesaikan program studi pendidikan sarjana (S1) tepatnya pada Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar. Penulisan skripsi ini dapat berhasil tentunya dengan dukungan serta semangat dan doa yang tak pernah putus yang dihanturkan untuk penulis. Berdasarkan itu, dengan sangat rendah hati penulis mengucapkan banyak terima kasih terutama kepada kedua orang tua tercinta Sumariyono, ST. Dan Siti Arfah Pelu yang selalu memberikan dukungan, doa dan kasih sayang yang tak henti-hentinya kepada penulis serta berbagai nasihat yang dihanturkan untuk penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan proses perkuliahan dan penulisan tugas akhir ini. Tak lupa pula penulis menghanturkan banyak terima kasih kepada anggota keluarga serta kerabat

yang terus memberikan semangat selama penulis melangsungkan proses perkuliahan hingga menyelesaikan tugas akhir ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan juga penulis hanturkan kepada ibu Dr. Nur Haedar, M.Si selaku Pembimbing Utama dan Ibu Dr. Eva Johanes, M.Si selaku pembimbing pertama dimana atas berkat ilmu, nasihat dan bimbingannya juga waktu yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Tanpa nasihat, saran dan bimbingan dari beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada proses penulisan skripsi ini, berbagai macam kendala yang penulis alami namun dengan bantuan, doa dan dukungan dari berbagai pihak yang membantu penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dan mengatasi berbagai kendala yang dihadapi. Oleh karena itu, penulis dengan tulus mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak, diantaranya:

- Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A, selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
- Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin serta selaku pembimbing utama dalam penulisan skripsi ini.
- Ibu Dr. Syahribulan, M.Si selaku Penasihat Akademik (PA) yang senantiasa memberikan nasihat beserta arahannya selama kurang lebih 3 tahun sejak penulis memulai proses studinya serta sebagai tim penguji dalam penulisan skripsi ini.

- Ibu Dr. Zohra Hasyim, M.Si selaku tim penguji yang senantiasa telah memberikan kritik dan saran yang sangat bermanfaat bagi penulis.
- Bapak/Ibu Dosen dan pegawai-pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis.
- Kepada Kak Fuad Gani, S.Si dan kak Heryadi, S.Si, penulis juga hanturkan terima kasih atas segala saran dan bantuannya yang diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan proses penyusunan tugas akhir ini .
- Kepada Muh. Fajrul Rezkyawan yang senantiasa membantu dan menemani penulis dalam proses penulisan tugas akhir ini.
- Kepada Tasya Nurul Safira, Nurrachmah Ariqalita, Amalia Tan Zulaika terima kasih atas dukungan serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis yang sangat bermanfaat bagi penulis.
- Teman-teman yang senantiasa menemani dan membantu penelitian di Lab Mikrobiologi, Jumariah, Sitti Khadijah dan Mutia Putri, penulis mengucapkan terima kasih atas bantuannya selama ini.
- Kepada Mutiara Hikmah Shabrina yang senantiasa menemani dan membantu penulis sejak awal perkuliahan hingga menyelesaikan penulisan tugas akhir ini.
- Teman-teman Biologi 2018 terima kasih atas segala cerita yang menarik, baik suka ataupun duka serta berbagai pelajaran yang telah diberikan kepada penulis selama penulis menjalani masa studinya.
- Semua pihak yang turut membantu dalam bentuk apapun, baik terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat saya tuliskan satu persatu.

Akhir kata, saya harapkan skripsi ini dapat berguna serta dapat memberikan wawasan baru dan memberikan manfaat bagi berbagai pihak yang membutuhkan terutama dalam pengembangan ilmu pengetahuan yang berkembang dengan pesat di zaman ini. Sekali lagi saya ucapkan terima kasih.

Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Makassar, 11 April 2021

Nur Afifah Zhafirah

ABSTRAK

Selulosa merupakan salah satu polisakarida yang sangat umum dapat dijumpai di bumi. Degradasi selulosa ini dapat dilakukan dengan penggunaan enzim selulase. Selain dalam manfaatnya untuk mendegradasi selulosa, enzim selulase ini banyak digunakan dalam beberapa bidang industri. Perolehan enzim selulase ini dapat diperoleh dari beberapa sumber salah satunya adalah bakteri. Bakteri yang dapat melakukan proses sintesis enzim selulase disebut sebagai bakteri selulolitik. Kemampuan enzim yang diekstraksi dari bakteri pendegradasi selulosa dalam aktivitas selulasenya berbeda-beda bergantung pada bakteri itu sendiri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim selulase bakteri pendegradasi selulosa Rpe 5 dan Rpe 11 yang diisolasi dari pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cycocephalus* Light. Uji aktifitas selulase ini dilakukan dengan metode NS (*Nelson-Somogyi*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan aktifitas enzim selulolitik maksimum pada isolat bakteri Rpe 5 adalah 1,25716 U/mL sedangkan pada isolat bakteri Rpe 11 adalah 0,73610 dengan masa inkubasi 12 hari.

Kata Kunci: Bakteri Selulolitik, Uji Aktifitas Enzim, Rayap *Cryptotermes cycocephalus* Light.

ABSTRACT

Cellulose is one type of polysaccharide that we often find. Degradation of cellulose can be conducted by cellulase enzyme. On the other side, cellulase enzyme usually use in many type of industrial. The acquisition of cellulase enzyme can be obtained from various sources one of which is can be extracted from bacterial. The type of bacteria that can synthesize the cellulase enzyme usually known as cellulolytic bacteria. The ability of cellulase enzyme that extracted from bacteria to degrade the cellulose is different each other depend on the bacteria. This study aims to know the ability of cellulase enzyme that extracted from cellulolytic bacteria strain Rpe 5 and Rpe 11 which is obtained from the digestive tract of the worker caste *Cryptotermes cycocephalus* Light. this cellulase enzyme activity test done by NS methode (*Nelson-Somogyi*). The result showed that maximum cellulolytic enzyme activity ability from Rpe 5 is 1,25716 U/mL while the ability from Rpe 11 is 0,73610 U/mL with incubation period for 12 days.

Keywords: Cellulolytic Bacteria, Enzyme Activity Ability, Termites *Cryptotermes cycocephalus* Light.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	3
I.3 Manfaat Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tinjauan Umum Selulosa	4
II.1.1 Proses Delignifikasi Selulosa	7
II.1.2 Degradasi Selulosa	8
II.2 Enzim Selulase.....	8
II.2.1 Mekanisme Kerja Enzim Selulase.....	10
II.2.2 Aktivitas Enzim Selulase.....	12
II.2.3 Sumber Enzim Selulase.....	13
II.3 Bakteri Selulolitik Asal Rayap	13
II.4 Potensi Bakteri Selulolitik dalam Menghasilkan Enzim Selulase.....	15
BAB III	18
METODE PENELITIAN	18
III.1 Jenis Penelitian	18
III.2 Alat	18
III.3 Bahan.....	18

III.4 Prosedur Kerja	19
III.4.1 Sterilisasi Alat	19
III.4.2 Pembuatan Media Nutrient Broth.....	19
III.4.3 Pembuatan Media CMC	19
III.4.4 Peremajaan Isolat	19
III.4.5 Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri	20
III.4.6 Penentuan Aktifitas Selulase.....	20
III.4.6.1 Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase	20
III.4.6.2 Penentuan Kadar Protein Total (Lowry, 1951)	21
d. Pengujian Kadar Protein.....	22
III.4.6.3 Pengujian Kadar Glukosa (Nelson-Somogyi, 1952)	22
III.4.6.4 Penentuan Kadar Aktifitas Spesifik Enzim Selulase.....	24
III.4.6.5 Perhitungan Total Bakteri	24
III.3.4 Analisis Data	24
IV.1 Peremajaan Bakteri Isolat Rpe 5 dan Rpe 11	25
IV.2 Perhitungan Kurva Pertumbuhan.....	27
IV.3 Uji Aktifitas Enzim Selulase	31
IV.3.1 Pengukuran Kadar Protein Terlarut.....	32
IV.3.2 Penentuan Aktifitas Enzim Selulase	34
IV.3.3 Perhitungan Aktifitas Spesifik Enzim	38
IV.3.4 Perhitungan Total Bakteri	39
V.1 Kesimpulan	41
V.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Konsentrasi Larutan Stok BSA dalam Pembuatan Standar Protein	21
Tabel 2. Konsentrasi Larutan Glukosa Pada Pembuatan Standar Glukosa	23
Tabel 3. Hasil Perhitungan Kurva Pertumbuhan.....	53
Tabel 4. Hasil Perhitungan Total Bakteri	53
Tabel 5. Hasil Perhitungan Kadar Protein Total	55
Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Glukosa.....	56
Tabel 7. Hasil Perhitungan Aktifitas Enzim	57
Tabel 8. Hasil Perhitungan Nilai Aktifitas Spesifik Enzim.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur selulosa	5
Gambar 2. Struktur α -selulosa	6
Gambar 3. Struktur β -selulosa	6
Gambar 4. Tahapan pemecahan selulosa (Karmakar dan Ray, 2018).....	8
Gambar 5. Kompleks Enzim Selulase	11
Gambar 6. Mekanisme hidrolisis selulosa dengan enzim (Thomas dkk., 2010).....	12
Gambar 7. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Rpe 5 dan Rpe 11	28
Gambar 8. Grafik Hasil Perhitungan Total Bakteri.....	40
Gambar 9. Kurva Standar BSA.....	33
Gambar 10. Kadar Protein Terlarut	34
Gambar 11. Kurva Standar Glukosa	35
Gambar 12. Aktifitas Selulase Isolat Bakteri Rpe 5 dan Rpe 11	36
Gambar 13. Aktifitas Enzim Spesifik Isolat Bakteri Rpe 5 dan Rpe 11	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	49
Lampiran 2. Peremajaan Bakteri Selulolitik.....	50
Lampiran 3. Uji Aktifitas Enzim Selulase	51
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Protein Total	52
Lampiran 5. Hasil Perhitungan.....	53
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Protein Total	54
Lampiran 7. Perhitungan Kadar Glukosa	56
Lampiran 8. Perhitungan Aktifitas Selulase	57
Lampiran 9. Perhitungan Nilai Aktifitas Spesifik.....	58
Lampiran 10. Foto Prosedur Penelitian	59
Lampiran 11. Foto Kultur Bakteri Selulolitik Rpe 5 dan Rpe 11	60
Lampiran 12. Foto Ekstrak Kasar Enzim Selulase Isolat Bakteri Rpe 5 dan Rpe 11	61
Lampiran 13. Foto Hasil Pengujian.....	58

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Selulosa merupakan salah satu polisakarida yang sangat umum dapat dijumpai di bumi. Adapun keberadaan selulosa ini dapat ditemukan baik dari jamur ataupun dari tumbuh-tumbuhan (Liu dkk., 2019). Menurut Klemm, dkk. (2015) perkiraan jumlah produksi selulosa dapat mencapai $10^9 - 1,5 \times 10^{12}$ ton/tahun dimana angka produksi ini lebih tinggi dibandingkan dengan angka produksi kitin, pati, kitosan serta polisakarida lainnya. Produksi selulosa ini merupakan bahan yang bersumber dari alam dimana selulosa ini memiliki kelebihan yaitu dapat terdegradasi secara biologis.

Degradasi selulosa ini dapat dilakukan dengan penggunaan enzim selulase. Enzim selulase ini merupakan suatu enzim yang termasuk dalam enzim ekstraseluler berupa enzim yang diperoleh dari dalam sel yang kemudian dikeluarkan ke media fermentasi di luar sel untuk mendegradasi senyawa polimer sehingga lebih mudah larut dan dapat dengan mudah diserap melalui dinding sel (Stanbury dan Whitaker, 1984). Enzim selulase ini terdiri dari tiga tipe enzim yang bekerja secara sinergi diantaranya adalah endoglukanase (endo-1,4- β -D-glukanase), eksoglukanase (ekso-1,4- β -D-glukanase) serta selobiase (β -D-glukosidase) dimana ketiga enzim ini akan bekerja dalam proses mendegradasi selulosa (Murashima dkk., 2019). Enzim selulase ini memiliki kemampuan dalam mendegradasi selulosa melalui proses katalis dimana enzim ini bekerja secara sinergis untuk menghasilkan molekul glukosa (gula) (Santos dkk., 2012).

Selain dalam manfaatnya untuk mendegradasi selulosa, enzim selulase ini banyak digunakan dalam beberapa bidang industri. Menurut Jannah dkk. (2018) enzim selulase dapat diaplikasikan dalam proses penghalusan bubur kertas yang kemudian dapat digunakan sebagai bahan utama pembuatan suatu kerajinan. Selain itu, menurut Soeka dan Sulistyani dkk. (2018) enzim selulase juga dapat dimanfaatkan dalam bidang tekstil dimana pada industri tekstil enzim selulase ini dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas kain baik dari warna ataupun serat kain. Manfaat enzim selulase lainnya dapat diaplikasikan pada bidang pakan ternak dimana menurut Wahyuningsih dan Zulaika dkk. (2019) enzim selulase ini dapat digunakan sebagai dekomposer bahan-bahan organik yang dapat digunakan sebagai bahan baku pakan ternak dengan adanya peningkatan nutrisi yang terkandung dalam pakan ternak tersebut. Adapun dari sisi lingkungan hidup, enzim selulase ini dapat dimanfaatkan dalam proses biokonversi selulosa menjadi berbagai komoditas senyawa kimia serta dapat mengurangi dampak negatif dari sejumlah polusi limbah yang berdampak pada lingkungan (Sher dkk., 2021).

Perolehan enzim selulase ini dapat dilakukan dari beberapa sumber salah satunya adalah bakteri. Bakteri dapat menyintesis enzim yang akan digunakan kembali untuk mempercepat proses metabolisme bakteri itu sendiri. Bakteri yang dapat melakukan proses sintesis enzim selulase disebut sebagai bakteri selulolitik. Menurut Pratiwi dkk. (2016), bakteri selulolitik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam mencerna selulosa dengan mengubah monomer-monomer glukosa menjadi sumber karbon dan sumber energi. Beberapa bakteri selulolitik dapat bersimbiosis dengan organisme lain dimana dilaporkan bahwa salah satunya adalah rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light. Rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* ini merupakan salah satu golongan rayap dengan ciri

umum memiliki warna pucat serta lapisan kutikula yang mengalami sedikit penebalan. Peranan bakteri selulolitik dalam pencernaan rayap ini untuk menghasilkan enzim selulase yang akan merombak selulosa dalam proses pencernaan rayap (Irsyah, 2021).

Kemampuan enzim yang diekstraksi dari bakteri pendegradasi selulosa dalam aktivitas selulasenya berbeda-beda bergantung pada bakteri itu sendiri. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui aktivitas enzim selulase bakteri pendegradasi selulosa Rpe 5 dan Rpe 11 yang diisolasi dari pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cycocephalus* Light.

I.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur aktifitas enzim selulase pada bakteri selulolitik Rpe 5 dan Rpe 11 yang diisolasi dari pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cycocephalus* Light.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai sumber informasi ilmiah mengenai aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik Rpe 5 dan Rpe 11 yang diisolasi dari pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cycocephalus* Light.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

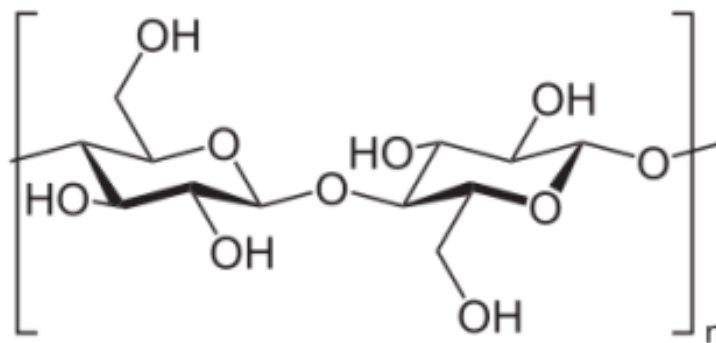
II.1 Tinjauan Umum Selulosa

Selulosa adalah polisakarida glukosa utama yang dapat ditemukan di tumbuhan dimana selulosa ini berperan dalam penyusun nutrisi struktural pada tumbuhan. Selulosa adalah salah satu bahan organik yang paling mudah ditemukan pada senyawa penyusun biosfer. Diperkirakan ada sekitar 10^{15} selulosa disintesis dan didegradasi di bumi setiap tahunnya (Murray dkk., 2013). Selulosa ini dapat disintesis dalam organisme hidup melalui distribusi yang luas pada tanaman yang lebih tinggi seperti ganggang, jamur, bakteri, invertebrata bahkan beberapa hewan laut seperti tunicata (Wen-Jing dkk., 2016).

Selulosa $[C_6H_{10}O_5]_n$ merupakan suatu homopolimer yang terdiri atas unit β -D-glukopiranosida dimana gugus ini berikatan dengan (1,4)-glikosida, dimana n merupakan derajat polimerisasi glukosa (DP) (Klemm dkk., 2015). Adapun kandungan dari molekul glukosa menurut penelitian Hames dan Hooper (2005) selulosa terkandung atas karbon (44,44%), hidrogen (6,17%) dan oksigen (49,39%). Namun, kandungan dari selulosa ini dapat berbeda yang diakibatkan banyak faktor diantaranya adalah tempat tumbuh, jenis biomassa, umur tumbuhan, letak dalam batang tumbuhan serta faktor yang mempengaruhi.

Selulosa ini merupakan salah satu polisakarida yang paling banyak ditemukan dimana terdiri dari unit *D-glycosidic*. Selulosa ini dapat ditemukan pada dinding sel tumbuhan dimana epidermis pohon yang berupa kayu biasanya tersusun atas selulosa dan polimer lain yang disebut sebagai lignin (Conn, dkk., 1976).

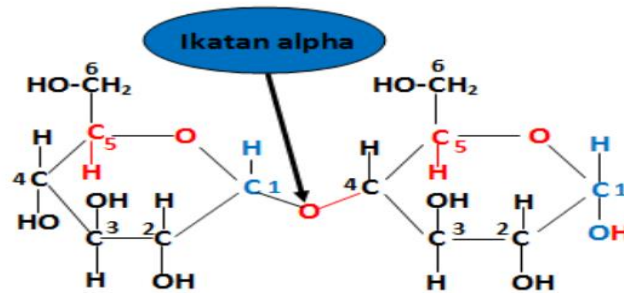
Menurut rumus kimianya, molekul selulosa ini terdiri atas unsur C, O dan H (Pikukuh, 2011) dan memiliki rumus kimia generik $(C_6H_{12}O_5)_n$ (Phuong dkk., 2015). Rantai panjang penyusun molekul selulosa diperkirakan tersusun atas 100 – 14.000 unit molekul sehingga dapat diperkirakan pula selulosa memiliki berat molekul rata-rata sekitar 300.000 – 500.000 (Zhao dkk., 2018). Rantai selulosa ini terikat oleh ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dari molekul yang berdekatan dan gaya Van der Waals sehingga bersifat tidak mudah larut (Philippidis, 1991).



Gambar 1. Struktur selulosa

Berat molekul suatu selulosa tergantung dari panjangnya rantai penyusun molekul selulosa tersebut. Selain itu, berat molekul suatu selulosa juga dipengaruhi oleh panjang dari suatu rantai serat jenis bahan penyusun molekul selulosa tersebut dimana dinyatakan dengan *derajat polimerisasi*. Berdasarkan derajat polimerisasi dari suatu selulosa serta kelarutan dalam senyawa natrium hidroksida (NaOH) 17,5%, selulosa ini dapat dibedakan atas tiga jenis yaitu α -selulosa (*Alpha cellulose*), β – selulosa (*Betha cellulose*) dan γ – selulosa (*Gamma cellulose*). Adapun penjelasan dari masing-masing jenis selulosa tersebut dapat diuraikan sebagai berikut (Nuringtyas, 2010):

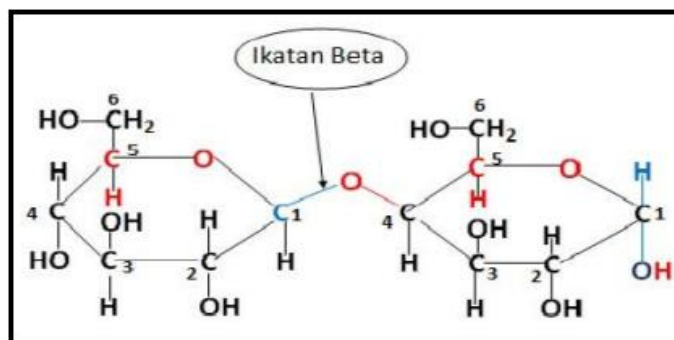
1. α -selulosa (*Alpha cellulose*)



Gambar 2. Struktur α -selulosa

α -selulosa merupakan suatu jenis selulosa dengan rantai yang panjang dimana jenis selulosa ini tidak dapat larut kedalam larutan NaOH 17,5% atau larutan basa kuat lainnya dengan derajat polimerisasi 600-15000. α -selulosa sering digunakan sebagai penduga dan atau indikator tingkat kemurnian selulosa. Selulosa dengan derajat kemurnian $\alpha > 92\%$ dapat memenuhi syarat sebagai bahan baku utama pembuatan propelan ataupun bahan peledak. Sedangkan, selulosa dengan kualitas yang lebih rendah dapat digunakan sebagai bahan baku dalam industri pembuatan kertas ataupun industri pembuatan kain (serat rayon). Pada hal ini, semakin tinggi kadar alfa suatu selulosa maka dapat dikatakan pula bahwa semakin baik mutu bahan dari selulosa tersebut.

2. β – selulosa (*Betha cellulose*)



Gambar 3. Struktur β -selulosa

β – selulosa merupakan suatu selulosa dengan rantai yang pendek dimana selulosa jenis ini dapat larut kedalam larutan NaOH 17,5% ataupun basa kuat dengan derajat polimerisasi 15 – 90 serta dapat mengendap bila dinetralkan. Selulosa jenis ini memiliki sifat yang mudah larut dalam larutan NaOH yang memiliki kadar 17,55% pada suhu 20° C dan akan mengendap apabila larutan tersebut berubah menjadi larutan dengan suasana asam.

3. γ – selulosa (*Gamma cellulose*)

γ – selulosa adalah selulosa dengan memiliki rantai yang pendek dimana selulosa jenis ini dapat larut dalam larutan NaOH 17,5% ataupun basa kuat dengan derajat polimerisasi yang kurang dari 15 dengan kandungan utamanya adalah hamiselulosa. Selulosa ini memiliki sifat yang mudah larut dalam NaOH pada kadar 17,5% dengan suhu 20° C dan tidak akan membentuk endapan apabila larutan tersebut dinetralkan.

Selulosa ini tidak dapat ditemukan dalam keadaan murni di alam, namun selulosa ini dapat diperoleh dengan berasosiasi bersama polisakarida jenis lainnya seperti lignin, pektin, hemiselulosa ataupun xilan (Dini dkk., 2018). Namun, kebanyakan selulosa sering ditemukan berasosiasi dengan lignin sehingga dikenal dengan lignoselulosa.

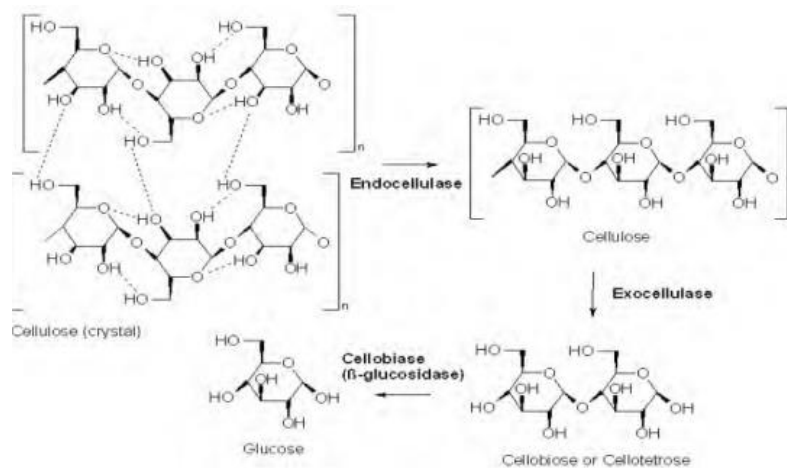
II.1.1 Proses Delignifikasi Selulosa

Delignifikasi merupakan sebuah proses dimana menghilangkan kandungan lignin dari suatu bahan dengan tujuan untuk menjadikan bahan tersebut mengandung selulosa dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Delignifikasi selulosa pada media ionik cair dapat memberikan hasil yang lebih maksimal dibandingkan proses delignifikasi yang dilakukan pada media tanpa kandungan ionik cair dimana

ionik cair ini merupakan garam cair pada suhu ruangan. Hal ini dapat terjadi akibat aktivitas ionik cair yang mengurangi derajat kristalinitas dan meningkatkan porositas sampel sehingga mengakibatkan proses lignifikasi pada bahan tersebut (Manurung dkk., 2018).

II.1.2 Degradasi Selulosa

Biodegradasi merupakan sebuah proses yang dilakukan untuk melakukan perubahan substrat oleh mikroorganisme dengan melibatkan sejumlah reaksi untuk menghasilkan produk yang lebih sederhana. Proses perombakan komponen substrat ini membutuhkan nutrisi yang diperoleh dari hasil perombakan sebelumnya.



Gambar 4. Tahapan pemecahan selulosa (Karmakar dan Ray, 2018)

II.2 Enzim Selulase

Enzim adalah polimer biologis yang dapat mengkatalisis reaksi kimia yang memungkinkan berlangsungnya kehidupan. Enzim yang mengkatalisis perubahan satu atau lebih senyawa (substrat) menjadi satu atau lebih senyawa lain (produk) meningkatkan laju reaksi setidaknya 10^6 kali dibandingkan jika tidak dikatalisis (Murray dkk., 2013). Selain itu, enzim juga dapat didefinisikan sebagai suatu kelompok protein yang memiliki peran penting dalam aktivitas biologis. Enzim ini

berfungsi sebagai senyawa katalisator alami. Enzim memiliki kemampuan untuk mengatur reaksi tertentu sehingga pada saat keadaan normal tidak terjadi penyimpangan hasil reaksi. Hal ini dapat terjadi karena enzim dapat mengkatalis reaksi-reaksi tanpa mengubah struktur reaksi tersebut yang menyebabkan enzim sering dikenal sebagai biokatalisator (Rachmawaty dan Madihah, 2007). Salah satu enzim yang dapat ditemukan dari alam adalah enzim selulase.

Enzim selulase atau yang dikenal juga dengan nama sistematis β -1,4 glukano-4-glukanohidrolase yang merupakan enzim dengan kemampuan untuk menghidrolisis selulosa dengan cara memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 dalam selulosa, selodektrin, selobiosa dan turunan selulosa lainnya sehingga menghasilkan gula sederhana atau yang dikenal dengan glukosa (Aryani, 2012).

Enzim selulase ini dapat digolongkan menjadi tiga kelas, diantaranya adalah endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Endoglukanase ini merupakan selulosa yang efektif dalam mendegradasi fase amorf selulosa. Adapun pada eksoglukanase merupakan selulosa yang secara progresif dapat mendegradasi fase kristal dan amorf selulosa menjadi disakarida (selobiosa). Sedangkan pada β -glukosidase adalah selulosa yang mampu dalam menghidrolisis disakarida dan tetrasakarida menjadi glukosa (Zhou dan Ingram, 2019).

Enzim selulase adalah biokatalisator yang berguna dalam mengkatalisis proses hidrolisis selulosa menjadi rantai selulosa yang lebih sederhana atau oligosakarida yang selanjutnya akan diubah menjadi glukosa. Selulase merupakan nama kelompok enzim yang dapat memutuskan ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa, selodektrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Selulase terdiri dari

enzim - enzim yang bekerja bersama- sama dalam menghidrolisis selulosa secara sinergis (Zhang and Zhang, 2013).

Enzim selulase ini sudah banyak digunakan dalam berbagai keperluan industri yang disebabkan oleh biaya produksinya yang relatif murah dengan waktu produksi yang cukup singkat serta dapat menghasilkan kompleks multienzim dan cenderung stabil pada kondisi yang ekstrem (Rayhan dkk., 2013).

II.2.1 Mekanisme Kerja Enzim Selulase

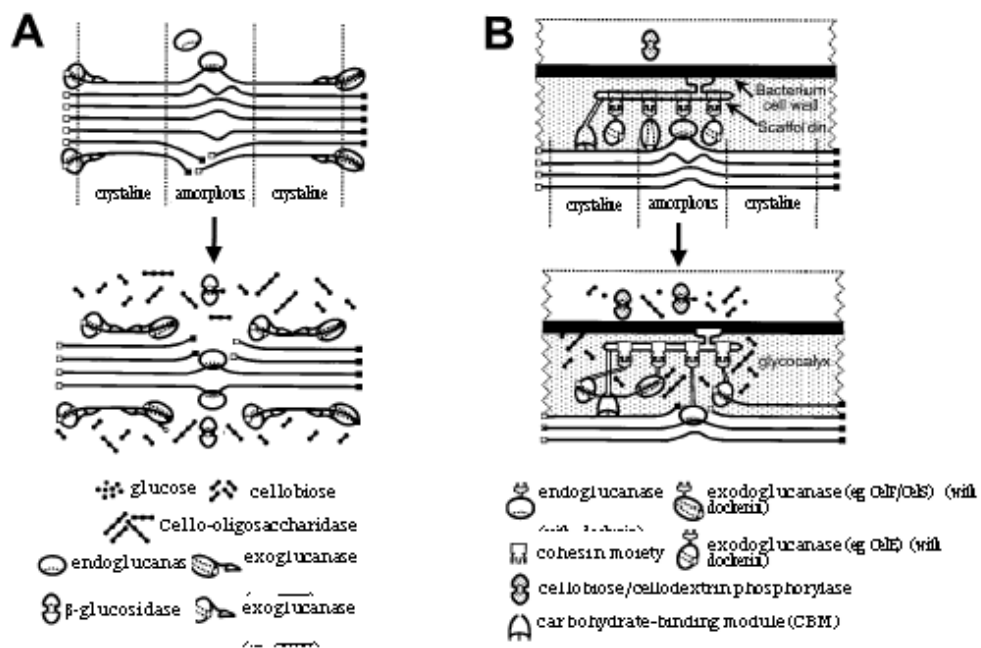
Enzim selulase terdiri dari tiga jenis enzim ekstraselular yang dapat bekerja secara sinergis dalam proses mendegradasi selulosa menjadi gula yang lebih sederhana. Proses degradasi selulosa ini melibatkan tiga jenis kompleks enzim yang diantaranya adalah enzim endoglukanase (endo-1,4- β -D-glukanase), enzim eksoglukanase (ekso-1,4- β -D-glukanase) dan enzim β -glukosidase (selobiase).

Adapun tahapan kerja enzim selulase secara garis besar melalui dua proses tahapan penting yang diantaranya diawali dengan proses pemecahan ikatan glikosidik yang terkandung pada selulosa menghasilkan selobiosa oleh β -1,4-glukanase serta diikuti dengan proses pemecahan ikatan β -1,4-glikosidik yang terkandung pada selobiosa sehingga menghasilkan glukosa oleh β -glukosidasi (Baharuddin dkk., 2021). Adapun mekanisme kerja enzim selulase dalam proses degradasi selulosa yang melibatkan 3 enzim kompleks selulosa spesifik adalah sebagai berikut (Weerashinghe dkk., 2021):

- a. Enzim endoglukanase (endo-1,4- β -D-glukanase) yang dikenal juga dengan CMC-ase yang menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 secara acak yang bekerja terutama pada daerah amorf dari serat selulosa yang menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi dan polimer yang panjang tereduksi

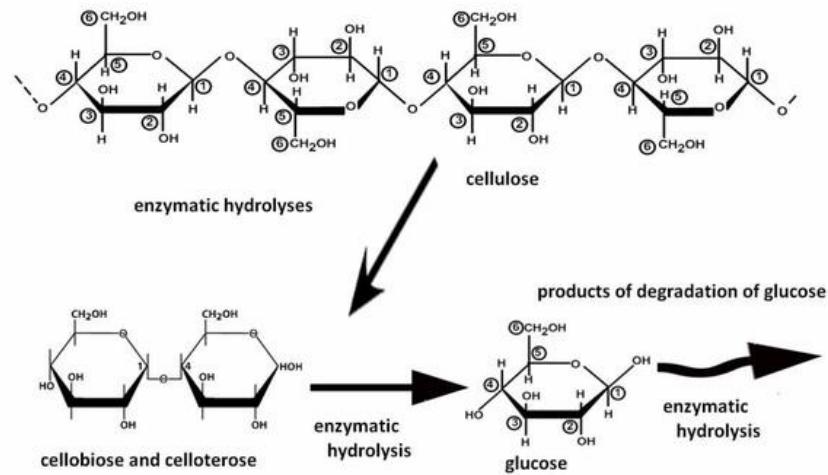
sehingga panjang rantai polisakarida semakin berkurang dan menghasilkan ujung rantai yang berujung juga diikuti dengan peningkatan jumlah gula pereduksi yang meningkat secara bertahap.

- b. Enzim exoglukanase (ekso-1,4- β -D-glukanase) atau yang dikenal sebagai selobiohidrolase yang memotong residu selubiosil dari rantai selulosa yang ujung rantai selulosanya tidak tereduksi dan menghasilkan selobiosa (glukanohidrolase) sebagai produk utamanya. Proses yang terjadi akibat aktivitas enzim exoglukanase menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah gula pereduksi secara cepat dan terjadi secara keseluruhan namun tidak menyebabkan terjadinya perubahan panjang rantai secara keseluruhan dalam jangka waktu yang singkat.
- c. Enzim endo β -glukosidase akan menghidrolisis selobiosa yang telah dihasilkan dari proses sebelumnya untuk menghasilkan dua unit glukosa (Soeka dkk., 2019).



Gambar 5. Kompleks Enzim Selulase

II.2.2 Aktivitas Enzim Selulase



Gambar 6. Mekanisme hidrolisis selulosa dengan enzim (Thomas dkk., 2010)

Enzim selulosa berperan penting dalam mendaur ulang polisakarida dimana polisakarida ini merupakan komponen utama penyusun dinding sel pada tumbuhan. Enzim selulosa terdiri dari 3 komponen utama, diantaranya adalah endo-1,4- β -glucanase, exo-1,4- β -glucanase dan β -d-glucosidase. Endo-1,4- β -glucanase akan memotong ikatan rantai pada selulosa untuk memproduksi molekul selulosa yang lebih sederhana dengan ikatan rantai yang lebih pendek. Exo-1,4- β -glucanase akan memotong ikatan rantai utama pada selulosa untuk menghasilkan selobiosa. Adapun pada β -d-glucosidase akan memotong molekul selobiosa sehingga menghasilkan dua molekul glukosa (Soeka dkk., 2019).

Aktifitas enzim selulase dalam mendegradasi senyawa selulosa dapat diukur dengan menguji aktifitas enzim menggunakan beberapa metode. Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengujian aktifitas enzim selulase adalah metode DNS. Metode DNS ini merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk melakukan penentuan gula pereduksi seperti glukosa, galaktosa, laktosa serta maltosa (Pratiwi dkk., 2016). Adapun prinsip metode DNS adalah gula pereduksi

akan bereaksi dengan reagen DNS untuk membentuk senyawa 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan (Somogyi, 1952).

II.2.3 Sumber Enzim Selulase

Enzim selulase umumnya dapat diperoleh dari mikroorganisme seperti fungi, bakteri ataupun protozoa. Selain itu, enzim selulase ini juga dapat diperoleh dari hewan ataupun dari tanaman (Morana dkk., 2011). Menurut Philippidis (1991), enzim selulase juga dapat diperoleh dari beberapa jenis jamur. Adapun beberapa jenis jamur dengan kemampuan menghasilkan enzim selulase diantaranya adalah *T.reesei*, *T. viride*, *T. lignorum*, *T. koningii*, *Penicillum spp*, *Fusarium spp*, *Aspergillus spp*, *Chrysosporium pannorum* dan *Sclerotium rolfsii*. Enzim selulase yang berasal dari jamur merupakan glikoprotein yang tidak membutuhkan kofaktor dalam aktivitas enzimatnya.

II.3 Bakteri Selulolitik Asal Rayap

Rayap adalah salah satu organisme yang tergolong kedalam serangga sosial dimana rayap ini akan hidup secara berkoloni. Spesies rayap yang dapat ditemukan di Indonesia, terdapat tida familia besar rayap yang diantaranya adalah familia Kalotermitidae, famili Rhinotermitidae dan famili Termitidae (Pratiwi dkk., 2016). Kehadiran rayap dalam kehidupan dapat memberikan dampak yang negatif diantaranya adalah mempercepat proses perusakan kayu bahkan dapat merusak struktur suatu gedung. Menurut Nelson dan Con (2005), rayap mampu memakan perabotan-perabotan rumah terutama yang berbahan dasar kayu, buku-buku, kabel listrik maupu kabel telepon bahkan barang-barang lainnya yang disimpan terlebih dalam jangka waktu yang lama. Kayu yang masuk kedalam proses pencernaan rayap menyebabkan tersedianya kandungan selulosa yang dapat digunakan oleh rayap itu sendiri sebagai sumber karbon dengan menggunakan

bakteri selulolitik untuk merombak selulosa tersebut menghasilkan senyawa glukosa sebagai sumber karbonnya.

Proses pencernaan rayap dimulai dengan masuknya kayu yang dimakan oleh rayap itu sendiri yang kemudian akan bercampur dengan enzim dari kelenjar ludah dan akan dihancurkan oleh ampela otot rayap itu sendiri. Partikel kayu tersebut akan melewati katup enterik menuju perut pada bagian usus belakang rayap yang cukup tebal dan kemudian bakteri selulolitik pada usus rayap akan melakukan proses fagositisasi pada partikel-partikel tersebut sehingga menghasilkan senyawa glukosa sebagai sumber karbon bagi rayap itu sendiri (Brune, 2019). Menurut Irsyah (2021), salah satu jenis rayap yang mudah ditemukan dalam kehidupan sehari-hari adalah rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light.

Rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* ini merupakan salah satu jenis rayap dengan ciri warna yang sedikit pucat dan terlihat adanya penebalan kutikula pada lapisan kulitnya. Menurut Wijayanti dkk. (2020), rayap *Cryptotermes cynocephalus* ini dapat ditemukan pada habitat seperti panel kayu, kusen, lemari, pintu bangunan serta pohon kayu kering. Selulosa yang melapisi kayu habitat rayap *Cryptotermes cynocephalus* akan dimakan oleh rayap itu sendiri sehingga melimpahnya jumlah selulosa didalam pencernaan rayap yang akan digunakan sebagai sumber karbon. Proses perombakan selulosa ini yang akan membutuhkan bakteri selulolitik sehingga dapat merombak selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana. Berdasarkan penelitian Irsyah (2021), isolasi bakteri selulolitik yang diisolasi dari sampel rayap *Cryptotermes cynocephalus* dengan menghasilkan 12 isolat bakteri dimana keempat isolat memiliki indeks selulolitik terbesar yang memiliki hasil karakterisasi yaitu dua diantaranya merupakan bakteri selulolitik

dengan genus *Bacillus* serta dua lainnya merupakan bakteri selulolitik dengan genus *Microbacterium*.

II.4 Potensi Bakteri Selulolitik dalam Menghasilkan Enzim Selulase

Bakteri selulolitik merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim selulase serta dapat pula menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Bakteri selulolitik ini dapat ditemukan pada habitat dengan kandungan selulosa yang tinggi (Murtyaningsih, 2017). Fungsi dari bakteri selulolitik ini adalah dapat menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Bahan-bahan organik dengan kandungan selulosa dapat digunakan sebagai substrat pada pertumbuhan bakteri selulolitik sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri selulolitik juga terdapat pada kompos yang memiliki kandungan selulosa yang tinggi (Harper dkk., 2016).

Umumnya, bakteri selulolitik ini dapat menghidrolisis selulosa baik dalam keadaan aerob juga dalam keadaan anaerob namun tidak dapat secara keduanya. Bakteri selulolitik anaerob hanya dapat tumbuh pada sumber selulosa dan produk hidrolitiknya. Bakteri jenis ini tidak dapat tumbuh pada monosakarida, oligosakarida dan polisakarida yang berasal dari gula lain selain glukosa sedangkan bakteri selulolitik aerob dapat menggunakan sumber karbon lain disamping glukosa (Weerashinghe dkk., 2021).

Adapun pengertian dari selulolitik merupakan suatu proses pemecahan selulosa menjadi senyawa ataupun unit-unit glukosa yang lebih kecil. Beberapa genus bakteri dengan kemampuan selulolitik diantaranya adalah *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellafalcicula* (Rao, 1994), *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan

Aeromonas (Khoirunnisa dkk., 2020), *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Corynebacterium* dan *Aeromonas* (Johnsen dan Krause, 2019).

Pada pertumbuhannya, bakteri selulolitik mendegradasi selulosa sebagai sumber karbonnya. Salah satu media yang dapat digunakan dalam pertumbuhan bakteri selulolitik adalah media CMC. Media CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) adalah salah satu media pertumbuhan bakteri yang merupakan turunan dari selulosa dengan kandungan gugus carboxymethyl ($-\text{CH}_2\text{COOH}$) dimana gugus ini terbentuk akibat reaksi selulosa dengan chloroacetate dalam alkali untuk memproduksi substitusi C2, C3 atau C6 pada unit glukosa (Wahyuningsih dan Zulaika, 2018).

Bakteri selulolitik ini dapat ditemukan dari berbagai sumber di bumi salah satunya yaitu bersimbiosis dengan organisme lain. Bakteri selulolitik ini umumnya mudah dijumpai pada habitat dengan kandungan selulosa yang tinggi, seperti pada habitat mangrove, daun, kayu yang lapuk serta dapat pula diperoleh bersimbiosis dengan organisme lainnya. Salah satu organisme yang dapat diketahui bersimbiosis dengan bakteri selulolitik adalah rayap. Menurut Irsyah (2021), rayap akan melibatkan peranan bakteri selulolitik dalam proses pencernaannya dalam mendegradasi selulosa.

Proses degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik ini dapat diukur dengan memperhatikan aktifitas enzim bakteri itu sendiri. Pengukuran aktifitas enzim ini dapat diukur baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Pengukuran aktifitas enzim secara kualitatif dapat dilakukan dengan menggunakan metode *congo red* dimana metode ini merupakan metode pengukuran indeks zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri dengan penambahan bubuk *congo red* pada media pertumbuhan bakteri (Januariawan dkk., 2018). Adapun pengukuran aktifitas enzim

secara kuantitatif dapat dilakukan dengan metode NS (*Nelson-Somogyi*) dimana metode ini merupakan metode yang digunakan dalam penentuan gula pereduksi yang melibatkan arsen molibdat dalam prosesnya. Metode NS ini memiliki prinsip gula pereduksi yang ada dalam sampel akan mereduksi ion Cu^{2+} menjadi ion Cu^+ ketika dipanaskan sehingga ion Cu^+ yang terbentuk akan mereduksi senyawa arsen molibdat membentuk ikatan kompleks yang menampakkan warna biru kehijauan (Somogyi, 1952).

Aktifitas enzim selulosa yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik dipengaruhi oleh pH dan suhu serta waktu inkubasinya. Pengukuran aktifitas enzim selulosa dengan perlakuan pH dan suhu yang berbeda telah dilaporkan pada beberapa penelitian diantaranya adalah pada penelitian Soeka dan Sulistiani (2018) menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* A8 menghasilkan pH dan suhu optimum berturut-turut adalah 6,0 dan 60°C dengan hasil aktifitas enzim yaitu 0,13 µg/mL. Sedangkan, pada penelitian Soeka dkk. (2019) menggunakan bakteri selulolitik asal tanah menghasilkan pH optimum adalah 8,0 dengan aktifitas enzim 5,9 U/mL sedangkan suhu optimum adalah 35°C dengan aktifitas enzim 5,9 U/mL. Adapun pada penelitian Murtyaningsih dan Hazmi (2017) mengenai uji aktivitas selulase isolat bakteri asal tanah sampah memiliki aktifitas maksimum pada masa inkubasi hari ke-9 dengan nilai aktifitas enzim 0,1045 U/mL. Sedangkan, pada penelitian Hasanah dan Sakiawan (2018), mengenai uji aktifitas selulase bakteri selulolitik dari jerami padi memiliki aktifitas maksimum enzim yaitu pada masa inkubasi hari ke-7 dengan nilai aktifitas enzim adalah 1,438 U/mL.