

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LIGNOLITIK ASAL JERAMI PADI
Oryza sativa L.**



**DZULFAIDA RAJASA
H041201050**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LIGNOLITIK ASAL JERAMI PADI
Oryza sativa L.**

**DZULFAIDA RAJASA
H041201050**



Optimization Software:
www.balesio.com

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LIGNOLITIK ASAL JERAMI PADI
Oryza sativa L.**

**DZULFAIDA RAJASA
H041201050**

Skripsi

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Biologi

pada



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LIGNOLITIK ASAL JERAMI PADI
Oryza sativa L.

DZULFAIDA RAJASA
H041201050

Skripsi,

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada "19 Juli 2024"
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si
NIP. 196512091990082001

Pembimbing Pertama,

Dr. Nur Umriani Pertamasari, M.Si.
NIP. 198112092006042003



Optimization Software:
www.balesio.com

Mengetahui:
Ketua Program Studi

Dr. Magdalena Litaay, M. Sc.
NIP. 196409291989032002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lignolitik Asal Jerami Padi *Oryza sativa* L." adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si. sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Nur Umriani Pertamasari, M.Si. sebagai Pembimbing Pertama). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Juli 2024



Optimization Software:
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji dan syukur kepada Allah *subhanahu wata'ala* atas segala rahmat, hidayah, dan karunia-Nya serta nikmat yang diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lignolitik Asal Jerami Padi *Oryza sativa* L". Skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah dan tersampai untuk Rasulullah Muhammad *shallallahu alaihi wasallam*, keluarga Beliau, sahabat, tabi'in, at ba'ut tabi'in serta seluruh kaum muslimin yang senantiasa mengikuti Beliau sampai hari akhir.

Skripsi ini penulis persembahkan untuk kedua orang tua penulis, ibunda tercinta Halimah dan Ayah terkasih Rajasa Radi atas limpahan cinta, kasih sayang, perhatian, dan doa tulus yang telah beliau berikan kepada penulis. Serta dukungan berupa materi, kepercayaan, motivasi dan nasehat yang dilimpahkan selama ini. Kepada kedua adik tersayang Mufti Iskandar Dinata Rajasa dan Niki Aulia Rajasa, *barakallahu fiik* telah menemani dengan canda tawa, tangis haru, dan berbagai sikap yang dapat memberikan dukungan semangat bagi penulis menjadi kakak yang baik dan panutan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih serta penghargaan yang tulus, kepada:

- Bapak rektor universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., beserta staf pegawainya.
- Bapak Dr. Eng. Amiruddin selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, beserta staf pegawainya.
- Bapak ibu dosen Departemen Biologi terima kasih atas segala ilmu yang bermanfaat telah diberikan kepada kami.
- Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si dan Dr. Nur Umriani Pertamasari, M.Si. selaku dosen pembimbing yang senantiasa membimbing dan memberikan masukan untuk penulis dalam penyusunan skripsi ini.
- Drs. As'adi Abdullah, M. Si, dan Dr. Andi Masniawati M. Si selaku dosen penguji yang senantiasa memberikan kritik dan saran yang sangat bermanfaat bagi penulis.
- Fuad Gani S.Si selaku Laboran dan teman-teman penelitian di Laboratorium Mikrobiologi



Optimization Software:
www.balesio.com

hadah Istiqamah terima kasih untuk dukungan lingkungan segala semangat, motivasi, candaan, bantuan, dan ilmu yang an kepada penulis, *barakallahu fiik* telah menjadi sahabat

h seperjuangan Biologi 2020 Unhas, BIOTROPIC terima kasih maannya baik suka maupun duka selama kuliah.

- Kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini, *Jazakumullahu Khairan Katsiran*.

Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi semua yang membaca skripsi ini dalam menambah wawasan pengetahuan kita.

Makassar, Juli 2024

Penulis



Optimization Software:
www.balesio.com

ABSTRAK

Dzulfaida Rajasa. 2024. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lignolitik Asal Jerami Padi *Oryza sativa* L.** (dibimbing oleh Zaraswati Dwyana dan Nur Umriani Pertamasari)

Latar belakang. Bakteri lignolitik sebagai agen hayati dalam delignifikasi serat tumbuhan juga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti jamur yang telah banyak diteliti saat ini. Keanekaragaman dan potensi bakteri lignolitik perlu dikaji lebih lanjut, guna mendapatkan isolat bakteri yang potensial. Salah satu sumber yang dapat diteliti adalah jerami padi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri lignolitik dari jerami padi serta mengetahui kemampuannya delignifikasinya. **Metode.** Penelitian ini dilakukan dengan tahapan pengambilan sampel, isolasi dan pemurnian bakteri, karakterisasi, skrining, delignifikasi, uji FTIR dan analisis molekuler berbasis gen 16S rRNA. **Hasil.** Diperoleh 10 isolat positif termasuk bakteri lignolitik, ditandai dengan adanya zona gelap disekitar koloni. Berdasarkan uji potensi lignolitik diperoleh 2 isolat bakteri terbaik, LT1 4,06 cm dan LT12 3,72 cm. Berdasarkan hasil identifikasi secara genotipik dengan menggunakan sekuens berbasis gen 16S rRNA, isolat LT1 termasuk *Klebsiella quasipneumoniae* strain NCTC11357 dan isolat LT12 termasuk *Bacillus altitudinis* strain GQYP101. Berdasarkan gugus fungsinya menggunakan uji FTIR, diperoleh hasil positif terdapat 5 gugus fungsi lignin. Dan berdasarkan persentase penurunan kandungan lignin diperoleh untuk LT1 dan LT12 dengan waktu fermentasi 15 hari berurut yaitu 12,86% dan 11,04%, serta dengan waktu fermentasi 30 hari berurut yaitu 32,02% dan 47,71%. **Kesimpulan.** Bakteri lignolitik dari jerami padi yang teridentifikasi yaitu *Klebsiella quasipneumoniae* dan *Bacillus altitudinis* dengan kemampuan delignifikasi terbaik.

Kata kunci: Jerami padi, lignin, bakteri lignolitik, delignifikasi



ABSTRACT

Dzulfaida Rajasa. 2024. **Isolation and Identification of Lignolytic Bacteria from Rice Straw *Oryza sativa* L.** (supervised by Zaraswati Dwyana dan Nur Umriani Pertamasari)

Background. Lignolytic bacteria as biological agents in the delignification of plant fibers can also be used as an alternative to fungi which have been widely studied at present. The diversity and potential of lignolytic bacteria need to be studied further, in order to obtain potential bacterial isolates. One source that can be researched is rice straw. **Aim.** This research aims to obtain isolates of lignolytic bacteria from rice straw and determine their delignification capabilities. **Method.** This research was carried out in the stages of sampling, isolation and purification of bacteria, characterization, screening, delignification, FTIR test and molecular analysis based on the 16S rRNA gene. **Results.** There were 10 positive isolates including lignolytic bacteria, characterized by the presence of a dark zone around the colony bacteria. Based on the lignolytic potential test, the 2 best bacterial isolates were obtained, LT1 4.06 cm and LT12 3.72 cm. Based on the results of genotypic identification using 16S rRNA gene sequencing, the LT1 isolate included *Klebsiella quasipneumoniae* strain NCTC11357 and the LT12 isolate included *Bacillus altitudinis* strain GQYP101. Based on the functional groups using the FTIR test, positive results were obtained for 5 lignin functional groups. And based on the percentage reduction in lignin content obtained for LT1 and LT12 with a fermentation time of 15 consecutive days, namely 12.86% and 11.04%, and with a fermentation time of 30 consecutive days, namely 32.02% and 47.71%. **Conclusion.** The lignolytic bacteria from rice straw identified were *Klebsiella quasipneumoniae* and *Bacillus altitudinis* with the best delignification ability.

Key words: Rice straw, lignin, lignolytic bacteria, delignification



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Dasar Teori	3
1.4.1 Jerami Padi	3
1.4.2 Lignin.....	3
1.4.3 selulosa	5
1.4.5 Lignoselulosa	6
1.4.6 Delignifikasi	6
1.4.7 Evaluasi FTIR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>).....	10
1.4.8 Identifikasi Berbasis Molekuler Gen 16S rRNA	11
BAB II METODE PENELITIAN	13
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
2.2.1 Alat	13
2.2.2 Bahan.....	13
2.3 Metode Kerja.....	13
2.3.1 Penyiapan sampel Jerami.....	13
2.3.2 Sterilisasi Alat.....	13
2.3.3 Pembuatan Medium	14
2.3.4 Isolasi Bakteri Lignolitik.....	15
2.3.5 Pemurnian Kultur Bakteri	15
2.3.6 Pembuatan Stok Bakteri	15
2.3.7 Uji Skrining Isolat Bakteri Lignolitik.....	15
2.3.8 Karakterisasi Bakteri Lignolitik	15
2.3.9 Uji Delignifikasi Jerami Padi.....	17
2.3.9 Evaluasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR	18
2.3.10 Identifikasi Isolat Bakteri Lignolitik dengan Analisis Sekuensing	18
16S rRNA	20
PEMBAHASAN.....	21
Pemurnian Bakteri Lignolitik	21
Bakteri Lignolitik	22
Bentuk Morfologi	22
Kultur Bakteri Lignolitik	24
Sifat	25



3.3.2 Uji H ₂ S.....	26
3.3.3 Uji Indol	26
3.3.4 Uji Sitrat.....	27
3.3.5 Uji MRVP.....	28
3.3.6 Uji Gula	29
3.3.7 Uji Katalase	30
3.4 Uji Skrining Bakteri Lignolitik.....	31
3.5 Hasil Uji Delignifikasi.....	33
3.6 Hasil Evaluasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR	36
3.7 Analisis Molekuler Berbasis Gen 16S rRNA	38
BAB IV KESIMPULAN	43
4.1 Kesimpulan	43
4.2 Saran.....	43
Daftar Pustaka	44
Lampiran-Lampiran	49



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Komponen Senyawa Aromatik Penyusun Lignin	4
2. Gugus Fungsi pada Berbagai Serapan Spektrum.	11
3. Hasil isolasi dan pemurnian bakteri	21
4. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni.....	22
5. Hasil Uji Biokimia isolat Bakteri.....	25
6. Hasil Uji Skrining Bakteri Lignolitik.....	32
7. Hasil Uji Skrining Bakteri Lignolitik.....	37
8. Hasil BLAST Isolat Bakteri LT1 dan LT12	40



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Struktur kimia lignin	4
2. Struktur Selulosa	5
3. Jalur metabolisme komponen b-aril eter lignin	7
4. Skema pembelahan b-etherase reduktif oleh LigEFG	8
5. Jalur degradasi diarilpropana	9
6. Degradasi komponen fenilkumaran dan pinoresinol lignin	9
7. Degradasi jalur asam ferulat	10
8. Degradasi bakteri asam ferulik	10
9. Pertumbuhan isolat bakteri hasil pemurnian	21
10. Morfologi Koloni Isolat Bakteri	23
11. Hasil Pengecatan Gram Isolat Bakteri	24
12. Hasil Uji Motilitas	25
13. Hasil Uji H ₂ S	26
14. Hasil Uji Indol	27
15. Hasil Uji Sitrat	27
16. Hasil Uji MR	28
17. Hasil Uji VP	29
18. Hasil Uji Gula	30
19. Hasil Uji Katalase	30
20. Hasil Uji Skrining Bakteri Lignolitik	32
21. Data Hasil Delignifikasi	34
22. Persentase Pengurangan Kadar Lignin	35
23. Grafik identifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR	37
24. Hasil Visualisasi Elektroforesis	39
25. Filogeni dengan Metode UPGMA	41



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian.....	49
2. Proses Analisis Kadar Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin.....	50
3. Proses Isolasi Isolat bakteri Lignolitik	51
4. Proses pemurnian Isolat bakteri Lignolitik	52
5. Hasil Karakterisasi Bakteri Lignolitik	53
6. Sampel Jerami Padi Hasil Fermentasi	54
7. Fermentasi Jerami Padi Menggunakan Isolat Bakteri Terbaik	55
8. Data FTIR.....	56
9. Data Hasil BLAST	61
10. Dokumentasi-dokumentasi	62



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi merupakan tanaman penghasil bahan pokok dari biji-bijian terbesar kedua didunia. Menurut Badan Pusat Statistik, jumlah padi yang dihasilkan di Indonesia pada tahun 2022 yaitu sebesar 54,75 juta ton dengan produksi beras mencapai sekitar 31,54 juta ton. Dengan selisih tersebut diperkirakan jumlah limbah yang dihasilkan mencapai 23,21 juta ton. Terkhusus di Sulawesi Selatan, jumlah padi yang diproduksi yakni sebesar 5,36 juta ton.

Jerami padi merupakan produk sampingan dari tanaman padi setelah dipanen butir-butir buahnya (Torregrosa *et al.*, 2021). Biasanya jerami digunakan untuk pakan ternak dan sisanya dibiarkan membusuk atau dibakar. Hal ini akan menghasilkan polutan berupa CO₂, NO_x, SO_x yang dapat merusak lingkungan. Menurut Pratiwi *et al.* (2016) diketahui bahwasanya jerami padi mengandung 37,71% selulosa, 21,99% hemiselulosa dan 16,62% lignin.

Kandungan selulosa yang cukup tinggi ini dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang misalnya industri makanan, hewan, kayu, kertas, pakaian, maupun kosmetik. Pada industri farmasi selulosa dapat digunakan sebagai eksipien potensial untuk pembuatan tablet mikropartikel berbasis CNF, film, aerogel/hidrogel dan imobilisasi protein dan enzim pada substrat CNF (Singh *et al.*, 2016). Selulosa dalam bentuk nanometrik juga mempunyai potensi yang sangat besar sebagai komponen bionanokomposit, yang berkaitan dengan *electrospinning* sebagai bagian tren masa depan dalam hal nanokomposit berbasis selulosa (Corre *et al.*, 2014). Beberapa penelitian juga mengembangkan penggunaan selulosa sebagai bahan bakar ramah lingkungan dalam bentuk bioetanol dan juga sebagai bahan bioplastik (Novia *et al.*, 2017).

Selulosa adalah homopolimer linier unit d-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β (1-4)-glikosidik dan merupakan rantai polisakarida linier (Abhilash dan Thomas, 2017). Selulosa diketahui termasuk biopolimer organik alami dengan rumus umum [C₆H₁₀O₅]_n, merupakan polisakarida kompleks yang membentuk komponen utama dinding sel tumbuhan, bersama hemiselulosa, lignin dan pektin yang biasa dikenal dengan istilah lignoselulosa (Mohammed *et al.*, 2021). Komponen-komponen ini saling terkait erat melalui gaya nonkovalen dan ikatan silang kovalen, membentuk jaringan yang saling terkait secara rumit yang membentuk struktur pada dinding sel tanaman (Naraian dan Gautam, 2018). Lignin erat untuk komponen penyusun tersebut. Lebih lanjut diketahui merupakan komponen yang paling sulit untuk didegradasi karena kompleks dan heterogen (Anita *et al.*, 2011).

Struktur pada dinding sel tanaman tersebut menjadi permasalahan pada pemanfaatan selulosa dari tanaman. Hal ini disebabkan lignin yang bersifat amorf menyebabkan selulosa terikat dalam



rantai lignoselulosa dan terjebak di dalam matriks, sehingga akan menghalangi proses transfer ion ke sisi aktif adsorben, menyebabkan terhambatnya proses adsorpsi, juga hidrolisis oleh enzim selulase (Trisanti *et al.*, 2021). Sehingga diperlukan proses pemisahan terlebih dahulu antara lignin dengan selulosa sebelum dapat digunakan pada berbagai bidang (Setiawan *et al.*, 2021).

Metode yang dapat melepas ikatan antara lignin dan selulosa dalam rantai lignoselulosa dikenal dengan istilah delignifikasi lignoselulosa (Setiawan *et al.*, 2021). Pada umumnya delignifikasi dilakukan secara kimia dengan menggunakan larutan basa seperti NaOH, KOH, atau LiOH (Mardina *et al.*, 2013). Hanya saja penggunaan bahan-bahan kimia yang terus menerus biasanya dapat memberikan efek negatif untuk jangka waktu yang lama. Selain itu, dapat dilakukan secara mekanik dengan perlakuan suhu temperatur tinggi (Rahhutami *et al.*, 2020). Juga dengan metoda secara enzimatik, hanya saja mahal pada biaya produksi serta lama untuk proses produksinya (Simatupang *et al.*, 2012).

Metode alternatif lain yang juga dapat digunakan untuk proses delignifikasi adalah secara biologi dengan pemanfaatan mikroorganisme. Pada penelitian Adebayo dan Carrera (2015) dilaporkan sebanyak 40% degradasi lignin terjadi dengan menggunakan spesies jamur *Pleurotus ostreatus* dalam waktu 30 hari. Juga dengan menggunakan *Pseudomonas* spp. menunjukkan terjadi degradasi lignin hingga 52% dalam waktu 30 hari pada kayu poplar. Selain itu, *Acinetobacter* dapat menghilangkan sekitar 47 hingga 57% lignin dari kayu poplar dalam waktu 30 hari setelah perlakuan awal (Dionisi *et al.*, 2014). Penggunaan bakteri *Streptomyces cyaneus* dan *Thermomonospora mesophila* dilaporkan juga mampu mendegradasi 50% lignin pada jerami barley dalam waktu 21 hari (Tsegaye *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian Rismanto *et al.* (2020) terhadap komponen penyusun serat jerami padi menggunakan perlakuan secara biologi dengan memanfaatkan mikroorganisme mempunyai penurunan kandungan lignin paling signifikan yakni sebesar 2,47% dengan peningkatan kandungan selulosa dan hemiselulosa berturut-turut yaitu 31,49% dan 34,21%. Lebih lanjut menurut Anita *et al.* (2011) diketahui bahwasanya terdapat dua kelompok enzim yang dihasilkan mikroorganisme dan terlibat dalam proses lignolisis yaitu enzim peroksidase dan lakase. Enzim peroksidase terdiri dari dua jenis yaitu lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP).

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri yang berasal dari limbah jerami padi sebagai agen mikroorganisme dengan potensi delignifikasi lignoselulosa.



Penelitian ini adalah:
Isolat bakteri lignolitik dari jerami padi
kemampuan delignifikasi oleh isolat bakteri yang diisolasi dari

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai sumber informasi mengenai potensi jerami padi sebagai sumber inokulum bakteri sebagai agen mikroorganisme dengan potensi delignifikasi.

1.4 Dasar Teori

1.4.1 Jerami Padi

Padi adalah biji-bijian pangan yang paling banyak diproduksi kedua di dunia, setelah gandum dan menghasilkan sekitar 972 Ton limbah per tahun. Jerami dinilai sebagai material dengan nilai tambah rendah sehingga menyebabkan permasalahan lingkungan yang sangat besar dalam pengelolannya. Sekitar 6 ton jerami per hektar diproduksi setiap musim panen (Torregrosa *et al.*, 2021). Secara total antara 370 dan 520 juta ton jerami diproduksi setiap tahun, menjadikannya limbah pertanian paling melimpah di dunia (Hung *et al.*, 2020).

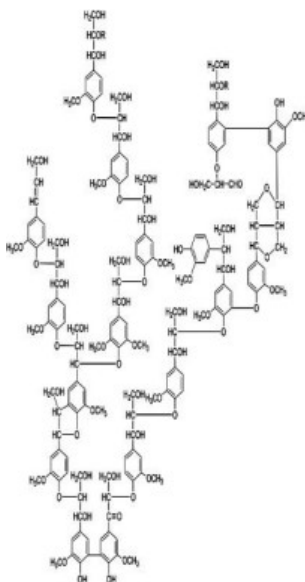
Jerami tersusun dari batang dan daun tanaman padi. Batangnya berbentuk silinder, panjangnya antara 60 sampai 120 cm, dengan ruas dan ruas yang berselang-seling, sedangkan daunnya berbentuk memanjang dan pipih serta letaknya berselang-seling melalui batang. Serat tumbuhan ini memiliki matriks kompleks yang sebagian besar terdiri dari selulosa, lignin, dan hemiselulosa, serta senyawa bioaktif lainnya. Fungsi utama senyawa ini adalah membentuk jaringan struktural sel tumbuhan, dimana hemiselulosa berikatan dengan selulosa melalui ikatan hidrogen, mendukung lignin yang pada gilirannya bertindak sebagai perekat alami (Razali *et al.*, 2022).

Jerami memiliki komposisi yang bervariasi bergantung pada asal geografis dan kondisi pemanenan, umumnya terdiri oleh kadar air (3,30–10,97%), total padatan (89,03–96,70%), padatan mudah menguap (73,28–95,26%), dan kadar abu (4,78–26,72%) (Kumar *et al.*, 2021). Sifat utama jerami ditentukan oleh kandungan karbon, hidrogen, nitrogen, sulfur, dan oksigennya, yang masing-masing terdiri antara 31,00 dan 47,00%, 4,61–5,40%, 0,28–1,39%, 0,14–0,72%, dan 50,46–59,98% (Kumar *et al.*, 2021). Selain itu, jerami umumnya terdiri dari 28–45% α -selulosa, 12–32% hemiselulosa, 23–28% pentosan, dan 5–24% lignin, dengan komponen utama menentukan komposisi biomassa lignoselulosa (Kaur *et al.*, 2017). Jerami juga terdiri dari beberapa komponen dengan sebagian kecil bahan larut dan tidak larut, seperti protein, lilin, pektin, dan mineral. Proporsi komponen-komponen ini bervariasi menurut varietas tanaman, tahap pertumbuhan, kondisi lingkungan, kualitas tanah, dan parameter terkait lainnya (Kumar *et al.*, 2018).

1.4.2 Lignin

Lignin merupakan komponen makro molekul kayu ketiga yang berikatan secara kovalen dengan selulosa dan hemiselulosa. Struktur molekul lignin terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenil propana. Lignin dapat dibagi menjadi beberapa kelas menurut unsur-unsur strukturnya yaitu lignin guaiasil lunak sebagian besar merupakan produk polimerisasi dari lignin guaiasil-siringil (khas kayu keras merupakan kopolimer dan sinapil alkohol) (Simatupang *et al.*, 2012).





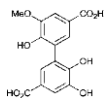
Gambar 1. Struktur kimia lignin

Tabel 1. Komponen Senyawa Aromatik Penyusun Lignin (Bugg *et al.*, 2011)

Senyawa	Pengurai lignin oleh jamur	Pengurai lignin bakteri
Benzoic acid	<i>P. chrysosporium</i>	<i>A. aneurinilyticus</i>
4-hydroxy	<i>P. chrysosporium</i>	<i>A. aneurinilyticus</i>
4-hydroxy-3-methoxy	<i>P. chrysosporium</i>	
4-hydroxy-3-methoxy-6-carboxy	<i>P. chrysosporium</i>	
4-hydroxy-3-methoxy-5-carboxy		<i>P. putida, R. jostii RHA1</i>
3,4-dimethoxy	<i>P. chrysosporium</i>	
3,4-dimethoxy-2-carboxy	<i>P. chrysosporium</i>	
2-hydroxy-3-methoxy		<i>A. aneurinilyticus, P. putida</i>
2,3-dihydroxy		
2,3,4-trihydroxy		<i>Bacillus sp.</i>
hydroxy-3-methoxy		<i>S. paucimobilis</i>
4,5-trimethoxy		<i>Bacillus sp.</i>
hydroxy		<i>Bacillus sp.</i>
hydroxy-3-methoxy		<i>Bacillus sp., P. putida, R. jostii RHA1</i>

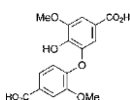


Biphenyl-5,5'-dicarboxylic acid, 2,2'-dihydroxy, 3,3'-dimethoxy



P. chrysosporium

Diphenyl ether
Propiophenone-3'-hydroxy
Acetophenone
Phenol



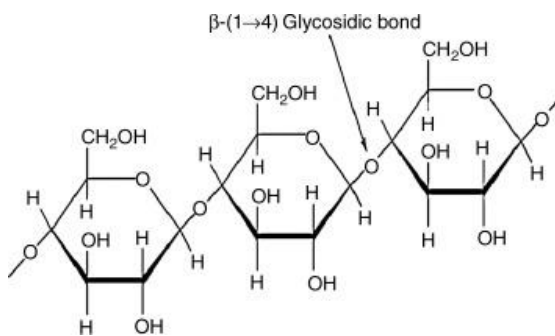
P. chrysosporium

4-hydroxy-3-methoxy
4-hydroxy-3-methoxy
2-methoxy
2-methoxy-4-vinyl

S. paucimobilis. P. putida, R. jostii RHA1
Soil metabolite
Soil metabolite
Soil metabolite

1.4.3 selulosa

Selulosa merupakan polimer linier alami (polisakarida), tersusun dari unit glukosa, dengan rumus $(C_6H_{10}O_5)_x$. Selulosa adalah komponen utama dari setiap dinding sel tumbuhan, yang lainnya adalah hemiselulosa dan pektin. Biopolimer ini ditemukan pada sebagian besar tumbuhan terutama pada daun dan batang. Selulosa adalah salah satu polimer alami yang paling banyak tersedia, *biodegradable* dan *biokompatibel* (Mohammed *et al.*, 2021) juga melimpah, terbarukan, tidak beracun, dan relatif murah yang ditemukan di alam (Razali *et al.*, 2022).



Gambar 2. Struktur Selulosa

1.4.4 Hemiselulosa

Hemiselulosa adalah heteropolisakarida dengan berat molar lebih rendah dibandingkan selulosa, sehingga lebih mudah dihidrolisis dalam kondisi ringan untuk membentuk gula penyusunnya. Hal ini disebabkan sifat amorf dan percabangan rantai pendeknya, termasuk pentosa, heksosa, dan asam uronat. Secara khusus, dapat membentuk senyawa paling umum kedua dalam serat nabati dan sifatnya kopisnya karena gugus hidroksil yang ada dalam strukturnya, untuk ikatan hidrogen dengan air. Namun, bahan ini memiliki antara 80 dan 200, lebih rendah dibandingkan selulosa, seperti (Qaseem *et al.*, 2021). Hemiselulosa diklasifikasikan menjadi tergantung pada strukturnya: xyloglycans, mannoglycans, linked-linkage β -glucans, dengan variasi berbeda dalam ikatan, gannya (Huang *et al.*, 2021).



1.4.5 Lignoselulosa

Lignoselulosa adalah bahan yang tersusun atas komponen lignin, selulosa, dan hemiselulosa, serta ekstraktif sebagai senyawa-senyawa pokok penyusunnya. Ketiga komponen tersebut tersusun dalam kesatuan yang padat dan kuat sehingga untuk mendapatkan salah satu dari ketiga komponen harus dilakukan proses yang mampu memecah dan memisahkan masing-masing komponen secara selektif. Struktur lignoselulosa, tersusun atas matrix selulosa dan lignin yang berikatan melalui rantai hemiselulosa, harus dipecah sehingga lebih mudah diserang oleh enzim selama proses hidrolisis (Octavia, 2011).

1.4.6 Delignifikasi

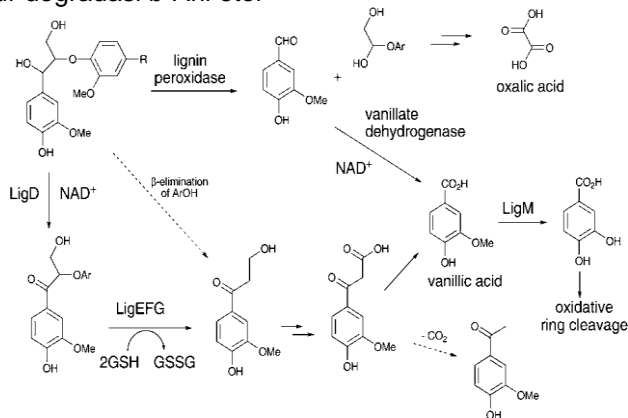
Delignifikasi adalah suatu proses mengubah struktur kimia biomasa berlignoselulosa dengan tujuan mendegradasi lignin secara selektif sehingga menguraikan ikatan kimianya baik secara ikatan kovalen, ikatan hidrogen maupun ikatan *van der Waals*, dengan komponen kimia lain pada bahan berlignoselulosa (selulosa dan hemiselulosa), dan diusahakan komponen lain tersebut tetap utuh. Dalam biomassa lignoselulosa, polisakarida (hemiselulosa dan selulosa) dibungkus oleh lignin, yang melindungi berasal dari degradasi oleh mikroorganisme dan enzim. Oleh karena itu, modifikasi biomassa lignoselulosa perlu dilakukan untuk menghidrolisisnya menjadi monomernya (Gao *et al.*, 2023). Proses delignifikasi bisa dilakukan secara panas, kimia dan biologis. Dengan demikian, substrat selulosa dan hemiselulosa yang tersisa akan lebih mudah diakses oleh enzim pengurai termasuk enzim hidrolisis (Agustini, dan Efiyanti, 2015).

Secara biologi proses delignifikasi dapat menggunakan mikroorganisme. Penggunaan bakteri *Streptomyces cyaneus* dan *Thermomonospora mesophila* dilaporkan mampu mendegradasi 50% lignin pada jerami barley *Hordeum vulgare* dalam waktu 21 hari (Tsegaye *et al.*, 2019). Pada penelitian Adebayo dan Carrera (2015) dilaporkan sebanyak 40% degradasi lignin terjadi dengan menggunakan spesies jamur *Pleurotus ostreatus* dalam waktu 30 hari. Mikroorganisme dapat mendegradasi lignin karena mampu mensintesis enzim ligninolitik. Ada tiga enzim ligninolitik yang biasa dihasilkan yaitu Lignin Peroxidase (LiP), Mangan Peroxidase (MnP), dan Laccase (Ilmi dan Kuswytasari, 2013).

Lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP) adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang menggunakan H_2O_2 dalam mendegradasi lignin, sedangkan laccase merupakan enzim yang mengandung tembaga dengan menggunakan molekul oksigen dalam mendegradasi lignin. Lignin peroksidase (LiP) mengoksidasi unit non fenolik lignin melalui pelepasan satu elektron dan membentuk radikal kation yang kemudian terurai secara kimiawi (Ilmi dan Kuswytasari, 2013). Berikut beberapa jalur degradasi lignin: (Bugg *et al.*, 2011)



a. Jalur degradasi b-Aril eter



Gambar 3. Jalur metabolisme komponen b-aril eter lignin

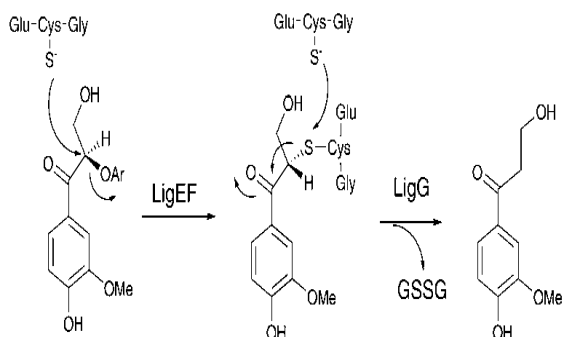
Senyawa dimer b-aril eter lignin dimetabolisme melalui jalur tersebut. Oksidasi awal gugus a-hidroksil menjadi keton yang sesuai dikatalisis oleh LigD dehidrogenase yang bergantung pada NAD. Kemudian, terjadi reaksi pembelahan eter reduktif yang tidak biasa, melalui enzim b-etherase baru yang bergantung pada glutathione, yang merupakan anggota dari superfamili glutathione-S-transferase. Produk gen LigEFG bertanggung jawab atas transformasi ini (Bugg *et al.*, 2011).

LigE dan LigF ditemukan mengkatalisis reaksi glutathione tereduksi dengan dua enantiomer berbeda dari substrat aril eter, menghasilkan zat antara b-thioether, dan LigG mengkatalisis reaksi dengan molekul kedua glutathione tereduksi. Degradasi senyawa model b-aril eter ini juga telah dilaporkan pada *Pseudomonas acidovorans*. Produk keton terdeteksi sebagai produk sampingan dari pemecahan lignoselulosa menggunakan *Pseudomonas putida* dan *Rhodococcus jostii* RHA1, yang timbul melalui reaksi pembelahan b-etherase, atau melalui reaksi b-eliminasi (Bugg *et al.*, 2011).

Produk keton kemudian dimetabolisme menjadi asam vanilat, kemungkinan melalui oksidasi gugus g-hidroksil menjadi asam karboksilat, dan kemudian terjadi reaksi pembelahan C–C yang analog dengan oksidasi b asam lemak. Zat antara asam karboksilat menjelaskan pembentukan metil keton asetovanilon, yang merupakan produk penguraian lignin, dan merupakan mediator lakase jamur. Enzim b-etherase telah diidentifikasi pada jamur ascomycete strain 2BW-1 (Bugg *et al.*, 2011).



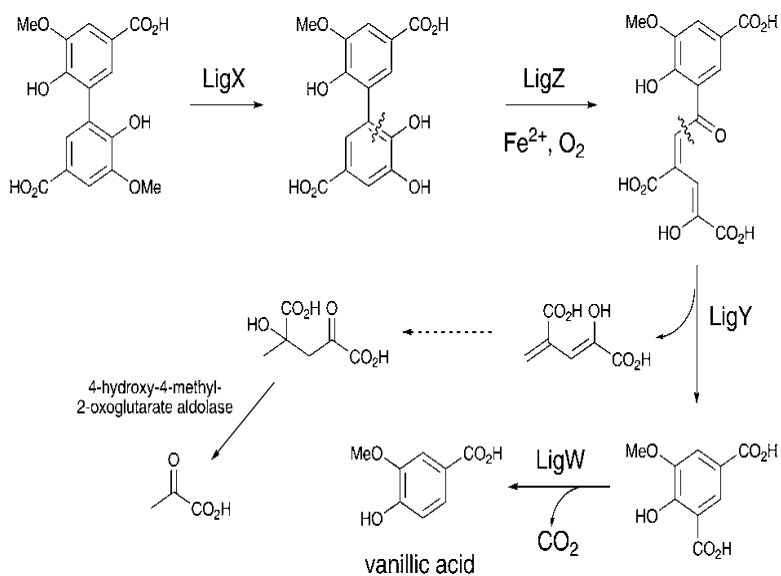
b. Jalur degradasi bifenil



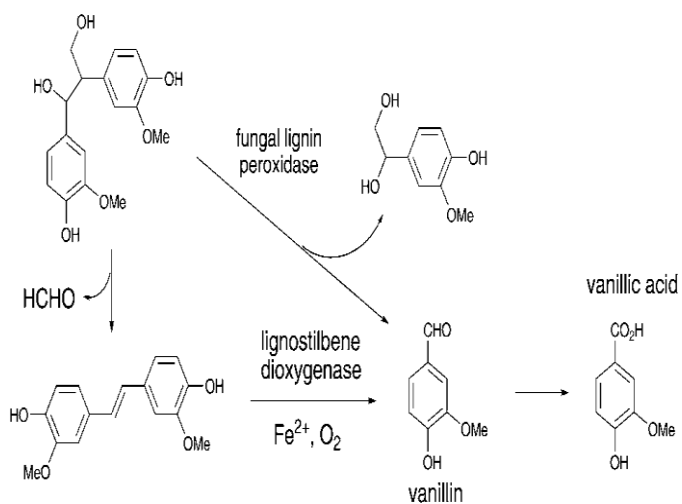
Gambar 4. Skema pembelahan b-etherase reduktif oleh LigEFG

Sejumlah bakteri tanah mampu mendegradasi bifenil dan bifenil terklorinasi ringan melalui oksidasi menjadi 2,3-dihidroksibifenil, yang diikuti dengan pembelahan meta oksidatif. Ikatan bifenil adalah salah satu komponen utama lignin, yang umumnya terjadi antara dua unit guaiasil. Pembelahan oksidatif rantai samping C3 yang melekat pada bifenil akan menghasilkan 2,20-dihidroksi-3,30 -dimetoksi, -5,50 -dikarboksime menghasilkan bifenil, yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan oleh *S. paucimobilis* SYK-6. Demetilasi satu gugus metoksi dikatalisis oleh enzim demetilase yang bergantung pada besi non-heme LigX. Produk katekolik LigX kemudian menjadi substrat untuk pembelahan meta oksidatif oleh ekstradiol dioksigenase LigZ, dan cincin produk fisi kemudian dipecah oleh C-C hidrolase LigY, untuk membentuk asam 5-karboksivanilat dan asam 4-karboksi-2-hidroksipentadienoat. Dua enzim dekarboksilase LigW dan LigW2 telah diidentifikasi dalam *S. paucimobilis* SYK-6 yang mengubah 5-karboksivanililik asam ke dalam asam vanilat perantara pusat. LigW telah terbukti menggabungkan deuterium dari D_2O ke dalam produk, dan rangkaian asam aminonya menunjukkan 20% kesamaan rangkaian dengan C-C hidrolase LigY, meskipun mereka mengkatalisis reaksi yang sangat berbeda (Bugg *et al.*, 2011). Beberapa jalur degradasi lainnya yaitu: (Bugg *et al.*, 2011)



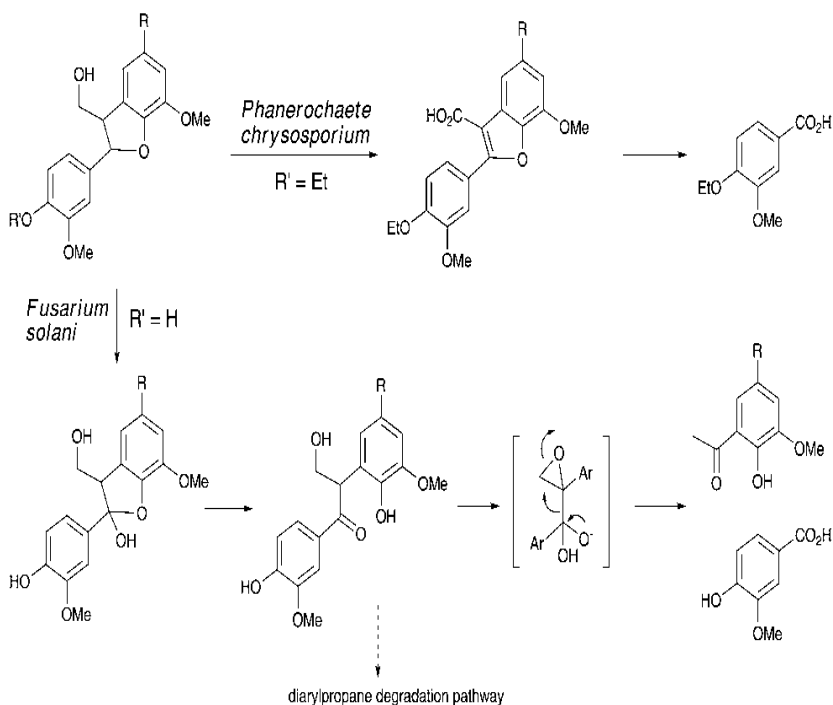


Gambar 5. Jalur degradasi diarilpropana

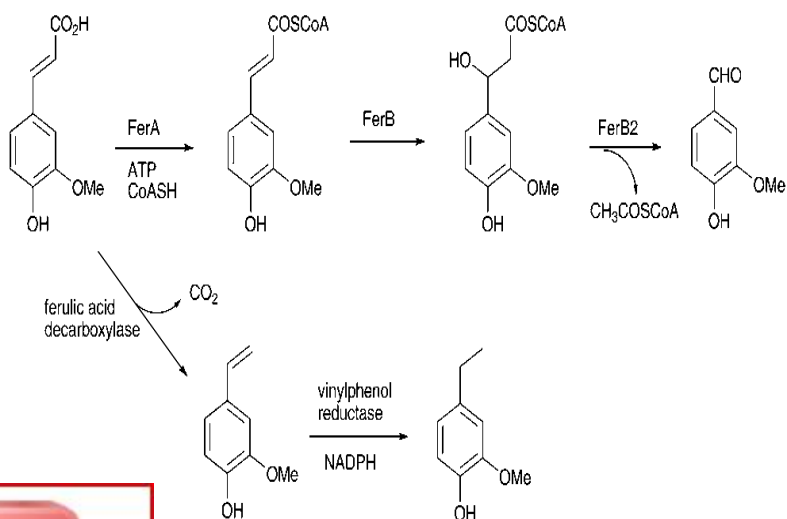


Gambar 6. Degradasi komponen fenilkumaran dan pinoresinol lignin





Gambar 7. Degradasi jalur asam ferulat



Gambar 8. Degradasi bakteri asam ferulik

(Fourier Transform Infra Red)

(Fourier Transform Infra Red) merupakan metode spektroskopi yang menggunakan radiasi inframerah, di mana radiasi inframerah dilewatkan melalui sampel dan diukur. Beberapa radiasi tersebut akan diserap oleh

Optimization Software:
www.balesio.com

sampel dan sebagian lainnya akan dilewatkan. Pengujian sampel menggunakan FTIR bertujuan untuk mengidentifikasi material yang tidak diketahui, menentukan kualitas sampel, dan menentukan banyaknya komponen yang terdapat dalam suatu campuran (Darni *et al.*, 2022).

Bila radiasi infra merah dilewatkan melalui suatu cuplikan, maka molekul molekulnya dapat menyerap (mengabsorpsi) energi dan terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi (*ground state*) dan tingkat vibrasi tereksitasi (*excited state*). Pengabsorpsian energi pada berbagai frekuensi dapat dideteksi oleh spektrofotometer infrared, yang memplot jumlah radiasi infra merah yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi (atau panjang gelombang) radiasi. Spektrum infra merah akan memberikan informasi penting tentang gugus fungsi pada cuplikan tersebut (Sopiah, 2015).

Spektrofotometer FTIR merupakan salah satu alat yang dapat digunakan untuk identifikasi senyawa, khususnya senyawa organik, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Analisis dilakukan dengan melihat bentuk spektrumnya yaitu dengan melihat puncak-puncak spesifik yang menunjukkan jenis gugus fungsional yang dimiliki oleh senyawa tersebut. Daerah serapan gelombang setiap gugus fungsi yang muncul pada spektrum, dengan interpretasi senyawa dilakukan mengacu kepada tabel berikut ini: (Sopiah, 2015).

Tabel 2. Gugus Fungsi pada Berbagai Serapan Spektrum (Sopiah, 2015).

Daerah Serapan (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi	Nama Gugus Fungsi
2850-2960	C-H	Alkana
1350-1470		
3020-3080	C-H	Alkena
675-870		
3000-3100	C-H	Aromatik
675-870		
3300	C-H	Alkana
1640-1680	C=H	Alkena
1500-1600	C=H	Aromatik (cincin)
1690-1760	C=H	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester
3610-3640	O-H	Alkohol, fenol (monomer)
2000-3600	O-H	Alkohol, fenol (ikatan hidrogen)
3000-3600	O-H	Asam karboksilat
3310-3350	N-H	Amina
1180-1360	C-N	Amina
1515-1560	O	Nitro
1345-1385		



Optimization Software:
www.balesio.com

Analisis Basiskan Molekuler Gen 16S rRNA

Analisis bakteri berdasarkan urutan nukleotida saat ini merupakan analisis yang dapat diandalkan. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah banyak digunakan luas baik di laboratorium diagnostik dan penelitian yang secara signifikan untuk diagnosis dan identifikasi bakteri. Identifikasi bakteri secara molekuler dengan menggunakan gen 16S rRNA digunakan secara lebih luas dan merupakan alat

(primer universal) yang berguna untuk mengidentifikasi bakteri yang sulit diidentifikasi dengan uji biokimia. Sekuens gen 16S rRNA telah digunakan secara ekstensif untuk mempelajari evolusi dan filogeni bakteri. Sejumlah besar informasi urutan gen 16S rRNA tersedia di *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) dan *Ribosomal Database Project* (RDP). sekuens gen 16S rRNA adalah alat penting dalam sistematika bakteri dan melihat spesies baru (Buller, 2004).

Gen 16S ribosomal RNA (16S rRNA) merupakan bagian yang dimiliki oleh prokariot yang bersifat terkonservasi sehingga tepat digunakan sebagai primer universal dalam *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan dapat ditentukan urutan nukleotidanya melalui sekuensing yang kemudian dianalisis untuk menentukan taksonomi dari bakteri tersebut. Selain itu, fungsi gen 16S rRNA dari waktu ke waktu tidak berubah sesuai jarak evolusinya sehingga keterkaitan evolusi antar spesies dapat diketahui, memiliki bagian hyper variabel region untuk memudahkan dalam identifikasi bakteri, bersifat ubikuitas dengan fungsi yang bersifat identik pada setiap mikroorganisme sehingga mampu membedakan berbagai spesies, dan gen 16S rRNA (1.500 bp) cukup besar untuk tujuan informatika (Suardana, 2014).

Analisis urutan gen penyandi 16S rRNA ini menjadi tulang punggung klasifikasi filogenetik bakteri. Primer universal untuk gen yang dilestarikan ini dapat digunakan untuk memperkuat urutan suatu gen dari organisme yang ingin diidentifikasi. Untuk mengidentifikasi suatu isolat, urutan nukleotida gen 16S rRNA dicocokkan dengan urutan yang diketahui dalam database genom yang tersedia secara luas (misalnya, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Strain yang memiliki kesamaan < 97% dalam urutan gen 16S rRNA mewakili spesies yang berbeda. Lebih lanjut, galur spesies dengan 97% dalam sekuens gen ini memungkinkan spesies yang sama, keterkaitan DNA harus dinilai sebelum membuat kemungkinan akhir (Zourob *et al.*, 2008).

