

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE BAKTERI  
SELULOLITIK DARI LIMBAH RUMEN SAPI  
DI KABUPATEN TIMOR TENGAH UTARA**

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana (S1)**



**Oleh :**

**YUNITA OPAT**

**54190021**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN, SAINS DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS TIMOR  
KEFAMENANU**

**2024**

## MOTTO



“ SEBAB BAGI ALLAH TIDAK ADA YANG MUSTAHIL “

### PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, didalam naskah skripsi ini dengan judul: **“Isolasi Dan Uji Aktivitas Esnzim Selulase Bakteri Selulolitik Dari Limbah Rumen Sapi Di Kabupaten Timor Tengah Utara”**, tidak terdapat karya ilmiah yang diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik disuatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip oleh naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan sumber pustaka.

Apabila ternyata didalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik Sarjana biologi (S.Si) yang telah saya peroleh dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU NO 20 Tahun 2003, Pasal 25 Ayat 2 dan Pasal 70).

Kefamenanu, Februari 2024  
Yang menyatakan

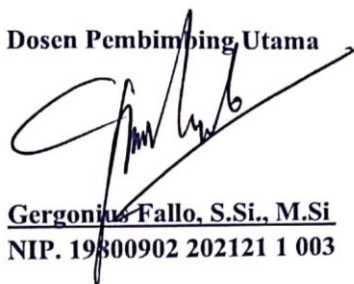


Yunita Opat

**HALAMAN PERSETUJUAN****“ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE BAKTERI  
SELULOLITIK DARI LIMBAH RUMEN SAPI  
DI KABUPATEN TIMOR TENGAH UTARA”**

Telah diperiksa dan disetujui oleh pembimbing untuk diajukan kepada Dewan  
Penguji Skripsi Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Sains dan  
Kesehatan

Dosen Pembimbing Utama



Gergonius Fallo, S.Si., M.Si  
NIP. 19800902 202121 1 003

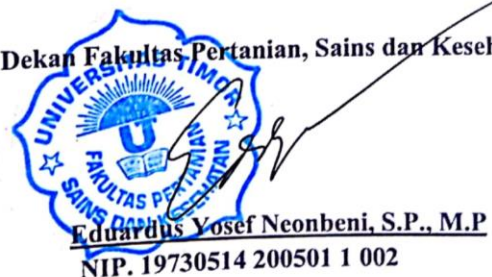
Dosen Pembimbing Pendamping



Lukas Pardosi, S.Pd., M.Si  
NIP. 19910915 201903 1 018

Mengetahui

Dekan Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan



Eduardus Yosef Neonbeni, S.P., M.P  
NIP. 19730514 200501 1 002

## HALAMAN PENGESAHAN

### “ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE BAKTERI SELULOLITIK DARI LIMBAH RUMEN SAPI DI KABUPATEN TIMOR TENGAH UTARA”

Skripsi ini telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Program Studi Biologi  
Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan Universitas Timor

#### Susunan Dewan Penguji

Ketua Penguji



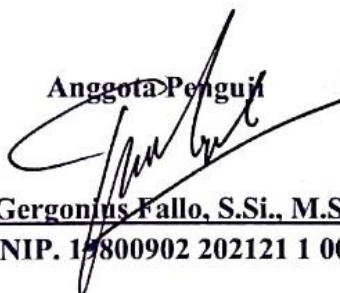
Adelva I. Manalu, S.Pd., M.Si  
NIP. 199404252022032013

Sekretaris Penguji



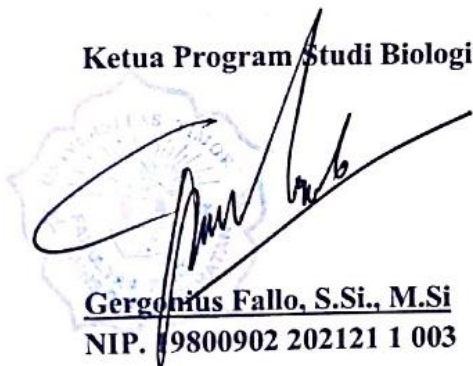
Lukas Pardosi, S.Pd., M.Si  
NIP. 19910915 201903 1 018

Anggota Penguji



Gergonius Fallo, S.Si., M.Si  
NIP. 19800902 202121 1 003

Ketua Program Studi Biologi



Gergonius Fallo, S.Si., M.Si  
NIP. 19800902 202121 1 003

Dekan Fakultas Pertanian, Sains dan  
Kesehatan



Eduardus Yosef Neonbeni, S.P., M.P  
NIP. 19730514 200501 1 002

Tanggal Ujian: 13 Februari 2024

Tanggal Lulus: 13 Februari 2024

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena berkat kasih karunia serta penyertaan-Nya yang begitu besar sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian dengan judul: “Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Dari Limbah Rumen Sapi Di Kabupaten Timor Tengah Utara”. skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi pada Universitas Negeri Timor.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan baik dari segi penelitian maupun keterbatasan kemampuan yang dimiliki penulis, sehingga apa yang tertuang dalam skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak.

Untuk itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr.Ir. Stefanus Sio, S.P., M.P selaku Rektor Universitas Timor yang telah memberi pelayanan akademik dan administrasi kepada penulis untuk menuntut ilmu di Universitas Timor.
2. Bapak Eduardus Yosef Neonbenu, S.P., M.P, selaku Dekan Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan Universitas Timor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penulisan skripsi
3. Bapak Gergonius Fallo, S.Si., M.Si, selaku Ketua Program Studi Biologi dan selaku Pembimbing utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan dan motivasi sehingga penyusunan skripsi penelitian ini diselesaikan dengan baik.
4. Bapak Lukas Pardosi, S.Pd., M.Si selaku Dosen Pembimbing pendamping yang dengan ikhlas dan tulus hati telah meluangkan waktu untuk memberikan banyak koreksi dan masukkan dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Bapak/ibu Dosen Program Studi Biologi yang telah membagikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama ini.

6. Kedua Orang Tua tercinta Bapak Antonius Opat dan Mama Veronika Bani serta Adek Yanti, Adek Odi dan Adek Neri semua keluarga besar yang selalu mendukung dan mendoakan penulis.
7. Sahabat-sahabat terbaik saya Risa, Dian, Safira, Fania, Anace, Lia, Yovi, Sonya, Riya yang selalu membantu dan mendukung saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman seperjuangan Program Studi Biologi angkatan 2019 yang dengan caranya masing-masing telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun demi penyempurnaan skripsi ini.

Kefamenanu, Februari 2024

Penulis

## ABSTRAK

YUNITA OPAT Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Dari Limbah Rumen Sapi Di Kabupaten Timor Tengah Utara."Dibimbing oleh Gergonius Fallo S.Si., M. Si , Lukas Pardosi S.Pd., M. Si.

Selulosa adalah komponen terbesar dari tumbuhan yang merupakan senyawa organik paling melimpah di alam. Degradasi selulosa dilakukan oleh enzim selulase yang terdiri dari tiga komponen, yaitu, endoglukanase, eksoglukanase, dan enzim  $\beta$ -glukosidase dengan glukosa sebagai produk akhir. Selulase sangat bermanfaat dalam bidang industri dan peternakan, seperti industri kertas, industri tekstil, pembuatan *beer* dan *wine*, meningkatkan kualitas pada pakan ternak, dekomposer bahan-bahan organik, dan berperan penting dalam biokonversi selulosa menjadi berbagai komoditas senyawa kimia. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri selulolitik asal cairan rumen sapi yang memiliki aktivitas selulolitik yang tinggi. Isolasi bakteri selulolitik dari cairan rumen sapi dilakukan dengan *direct plating* pada media CMC agar. Nilai aktivitas selulolitik didapat dengan menentukan indeks selulolitik. Penentuan aktivitas selulase dilakukan dengan metode DNS, sedangkan penentuan kadar protein total dengan metode *bradford* Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati morfologi koloni, pengamatan mikroskopis, dan uji biokimia. Dua isolat bakteri selulolitik potensial berhasil diperoleh dalam penelitian ini dan semua bakteri diidentifikasi sebagai bakteri *Bacillus*.

**Kata Kunci:** Bakteri selulolitik, selulosa, selulase.



## ABSTRACT

*YUNITA OPAT Isolation and Assay of cellulase enzyme activity of cellulolytic bacteria from cow rumen waste. Supervised by Gergonius Fallo S.Si., M.Si. Lukas Pardosi S.Pd.,M.Si.*

*Cellulose is the largest component of plant materials which is the most abundant organic compound in nature. The degradation of cellulose carried out by cellulase enzymes which is consisting of three components, i.e. , endoglucanase, exoglucanase, and  $\beta$ -glucosidase with glucose as the end product. Cellulase is very useful in industry and agriculture, such as paper, beer and brewing industries, for improving the quality of forages, organic material decomposer, and play an important role in the bioconversion of cellulose into various chemical commodities. The aims of this study was to get cellulolytic bacteria from cow's rumen fluid which has high cellulolytic activity. Isolation of cellulolytic bacteria from cow's rumen fluid were done by direct plating on CMC media. The cellulolytic activity values of the bacterial isolates were examined by determining cellulolytic index. The determination of cellulase activity were carried out by DNS method while the total protein contents by bradford method. Identification of the bacteria isolates were done by observation of colony morphology, microscopic observation, and biochemical tests. two potential cellulolytic bacterias were obtained in this study and all isolates identified as Bacillus.*

*Keywords: cellulolytic bacteria, cellulose, cellulase.*

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBARAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBARAN PENGESAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>3</b>
2.1 Limbah Rumen Sapi .....	3
2.2 Bakteri Selulolitik .....	3
2.3 Selulosa .....	4
2.4 Hidrolisis Selulosa .....	5
2.5 Enzim Selulase .....	6
2.6 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim .....	7
2.7 Uji Aktivitas Enzim Selulase Dengan Metode DNS .....	8
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>9</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	9
3.2. Alat dan Bahan.....	9
3.3. Prosedur Kerja.....	9
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>15</b>
4.1 Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Selulase .....	15
4.2 Identifikasi Morfologi .....	15
4.3 Seleksi Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase Secara Kualitatif .....	17
4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri selulolitik .....	18
4.5 Uji Aktivitas Enzim Selulase .....	19
4.6 Kondisi Suhu Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	21

4.7 Kondisi pH Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	22
4.8 Penentuan Kadar Protein.....	23
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>25</b>
5.1 Kesimpulan .....	25
5.2 Saran.....	25
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>26</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>31</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>39</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1	Hasil Pengamatan Isolat Bakteri Penghasil Selulase .....	15
Tabel 2	Hasil Identifikasi Morfologi Sel dan Uji Biokimia .....	16

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1 Hubungan Aktivitas Enzim Selulase dengan Suhu .....	7
Gambar 2 Hubungan Aktivitas Enzim Selulase dengan pH .....	7
Gambar 3 Hasil Uji Pewarnaan Gram .....	16
Gambar 4 Hasil Seleksi Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase Secara Kualitatif .....	18
Gambar 5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Selulolitik .....	18
Gambar 6 Aktivitas Enzim Selulase .....	20
Gambar 7 Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Selulase .....	21
Gambar 8 Kondisi pH Terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	22
Gambar 9 Kadar Protein Selulase .....	23

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Alat Dan Bahan Yang Digunakan .....	31
Lampiran 2. Kegiatan Penelitian .....	32
Lampiran 3. Perhitungan Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase .....	32
Lampiran 4. Hasil Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	33
Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Standar Glukosa .....	33
Lampiran 6. Penentuan Aktivitas Enzim Selulase Metode DNS .....	34
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Kadar Protein .....	37
Lampiran 8. Pengaruh Suhu Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	38
Lampiran 9. Pengaruh pH Optimum Terhadap Aktivitas Enzim Selulase .....	38

