

**SKRIPSI**

**PEMBANDINGAN SKRINING BAKTERI  
SELULOLITIK ANTARA METODE CLEAR ZONE  
DAN UJI AKTIVITAS ENZIM DENGAN  
PENGUKURAN GULA REDUKSI MENGGUNAKAN  
METODE DNS**

***COMPARISON OF CELLULOLYTIC BACTERIA  
SCREENING BETWEEN CLEAR ZONE METHOD AND  
ENZYME ACTIVITY TEST WITH REDUCING SUGAR  
MEASUREMENT USING DNS METHOD***



**Septika Indiani**

**05031281823028**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2023**

# **SKRIPSI**

## **PEMBANDINGAN SKRINING BAKTERI SELULOLITIK ANTARA METODE CLEAR ZONE DAN UJI AKTIVITAS ENZIM DENGAN PENGUKURAN GULA REDUKSI MENGGUNAKAN METODE DNS**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Teknologi Pertanian pada Fakultas Pertanian  
Universitas Sriwijaya



**Septika Indiani**

**05031281823028**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2023**

## SUMMARY

**SEPTIKA INDIANI.** Comparison of Cellulolytic Bacteria Screening Between Clear Zone Methode and Enzyme Activity Test with Reducing Sugar Measurement Using DNS Methode (Supervised by **ANNY YANURIATI**).

Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) is a by-product with high potential as a source of cellulose. This study aims to 1) screen cellulase-producing bacteria from OPEFB waste using selective media Carboxy Methyl Cellulose (CMC) 1% clarified with congo red 0.1% to measure cellulolytic index values, 2) test cellulase enzyme activity using a sugar test reduction of the Dinitro salicylic acid (DNS) method and 3) compare the results of the 2 methods. Based on the clear zone, 20 isolates of cellulolytic bacteria were found, the isolates were retested using the reducing sugar method to determine the value of their enzyme activity using DNS. The data obtained is presented quantitatively and descriptively. The seven isolates that had the highest activity values were further tested, including the morphology of the bacterial isolates, the catalase test, the motility test, the H<sub>2</sub>S test and Gram staining.

The seven isolates that had the highest cellulolytic index values was in isolates D 10<sup>-6</sup>(47), A 10<sup>-6</sup>(79), C 10<sup>-7</sup>(39), A 10<sup>-7</sup>(20), D (10<sup>-6</sup>)54, D 10<sup>-6</sup>(51) and D 10<sup>-6</sup>(48) namely of 8.92, 5.27, 4.02, 3.35, 3.29, 2.97 and 2.71. While the best isolates based on the reducing sugar test was in isolates C 10<sup>-7</sup> (39), D 10<sup>-6</sup> (44), D 10<sup>-6</sup>(56), D 10<sup>-6</sup>(79), D 10<sup>-6</sup>(46), D 10<sup>-6</sup>(54) and D 10<sup>-6</sup>(50) with enzyme activity values of 0.901, 0.871, 0.736, 0.719, 0.718, 0.671 and 0.596 (U/mL). Differences in the results of the clear zone bacterial screening method and the DNS method enzyme activity test can be affected by temperature and incubation time during enzyme production and the use of non-refrigerated centrifuges. Based on Gram staining, all isolates had a bacil cell shape and were classified as Gram-positive bacteria, except for A 10<sup>-6</sup> (79) which were classified as Gram-negative bacteria. All isolates positively produced catalase, motile, capable of producing reducing sugars and negatively produced H<sub>2</sub>S and CO<sub>2</sub>.

Keyword: Screening, enzyme activity, empty palm oil fruit bunches, CMC, DNS.

## RINGKASAN

**SEPTIKA INDIANI.** Perbandingan Skrining Bakteri Selulolitik antara Metode *Clear Zone* dan Uji Aktivitas Enzim dengan Pengukuran Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS (Dibimbing oleh ANNY YANURIATI).

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan produk samping yang berpotensi tinggi sebagai sumber selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk 1) menskrining bakteri penghasil selulase dari limbah TKKS menggunakan media selektif *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 1% yang diperjelas dengan *congo red* 0,1% untuk mengukur nilai indeks selulolitik, 2) menguji aktivitas enzim selulase menggunakan uji gula reduksi metode *Dinitro salicylic acid* (DNS) dan 3) membandingkan hasil ke 2 metode tersebut. Berdasarkan zona bening 20 isolat bakteri selulolitik ditemukan, isolat tersebut diuji kembali dengan metode gula reduksi untuk mengetahui nilai aktivitas enzimnya menggunakan DNS. Data yang diperoleh disajikan secara kuantitatif dan deskriptif. Tujuh isolat yang memiliki nilai aktivitas tertinggi diuji lanjut meliputi morfologi isolat bakteri, uji katalase, uji motilitas, uji H<sub>2</sub>S dan pewarnaan Gram.

Tujuh isolat yang memiliki indeks selulolitik tertinggi adalah D 10<sup>-6</sup> (47), A 10<sup>-6</sup> (79), C 10<sup>-7</sup>(39), A 10<sup>-7</sup>(20), D (10<sup>-6</sup>)54, D 10<sup>-6</sup> (51) dan D 10<sup>-6</sup> (48) berturut-turut sebesar 8.92, 5.27, 4.02, 3.35, 3.29, 2.97 dan 2.71. Sedangkan uji gula reduksi isolat C 10<sup>-7</sup> (39), D 10<sup>-6</sup> (44), D 10<sup>-6</sup> (56), D 10<sup>-6</sup> (79), D 10<sup>-6</sup> (46), D 10<sup>-6</sup> (54) dan D 10<sup>-6</sup> (50) memiliki nilai aktivitas enzim berturut-turut sebesar 0.901, 0.871, 0.736, 0.719, 0.718, 0.671 dan 0.596 (U/mL). Perbedaan hasil skrining bakteri metode zona bening dan uji aktivitas enzim metode DNS dapat dipengaruhi oleh suhu dan waktu inkubasi pada saat produksi enzim serta penggunaan *sentrifuse* yang tidak berpendingin. Berdasarkan pewarnaan Gram semua isolat memiliki bentuk sel basil, tergolong bakteri Gram positif kecuali A 10<sup>-6</sup> (79) yaitu bakteri Gram negatif. Semua isolat positif menghasilkan katalase, bersifat motil, mampu menghasilkan gula reduksi dan negatif memproduksi H<sub>2</sub>S dan CO<sub>2</sub>.

Kata kunci: Skrining, aktivitas enzim, tandan kosong kelapa sawit, CMC, DNS

# LEMBAR PENGESAHAN

## PEMBANDINGAN SKRINING BAKTERI SELULOLITIK ANTARA METODE CLEAR ZONE DAN UJI AKTIVITAS ENZIM DENGAN PENGUKURAN GULA REDUKSI MENGGUNAKAN METODE DNS

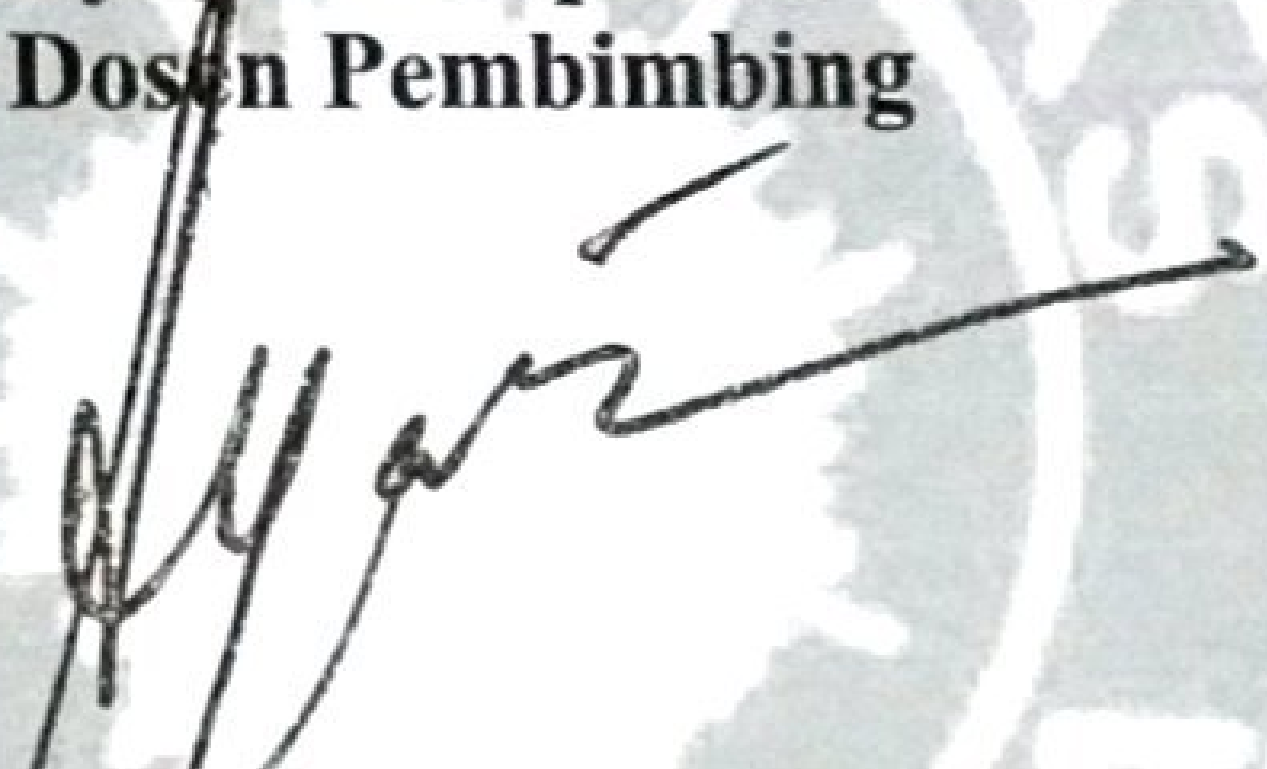
### SKRIPSI

Sebagai Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pertanian  
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

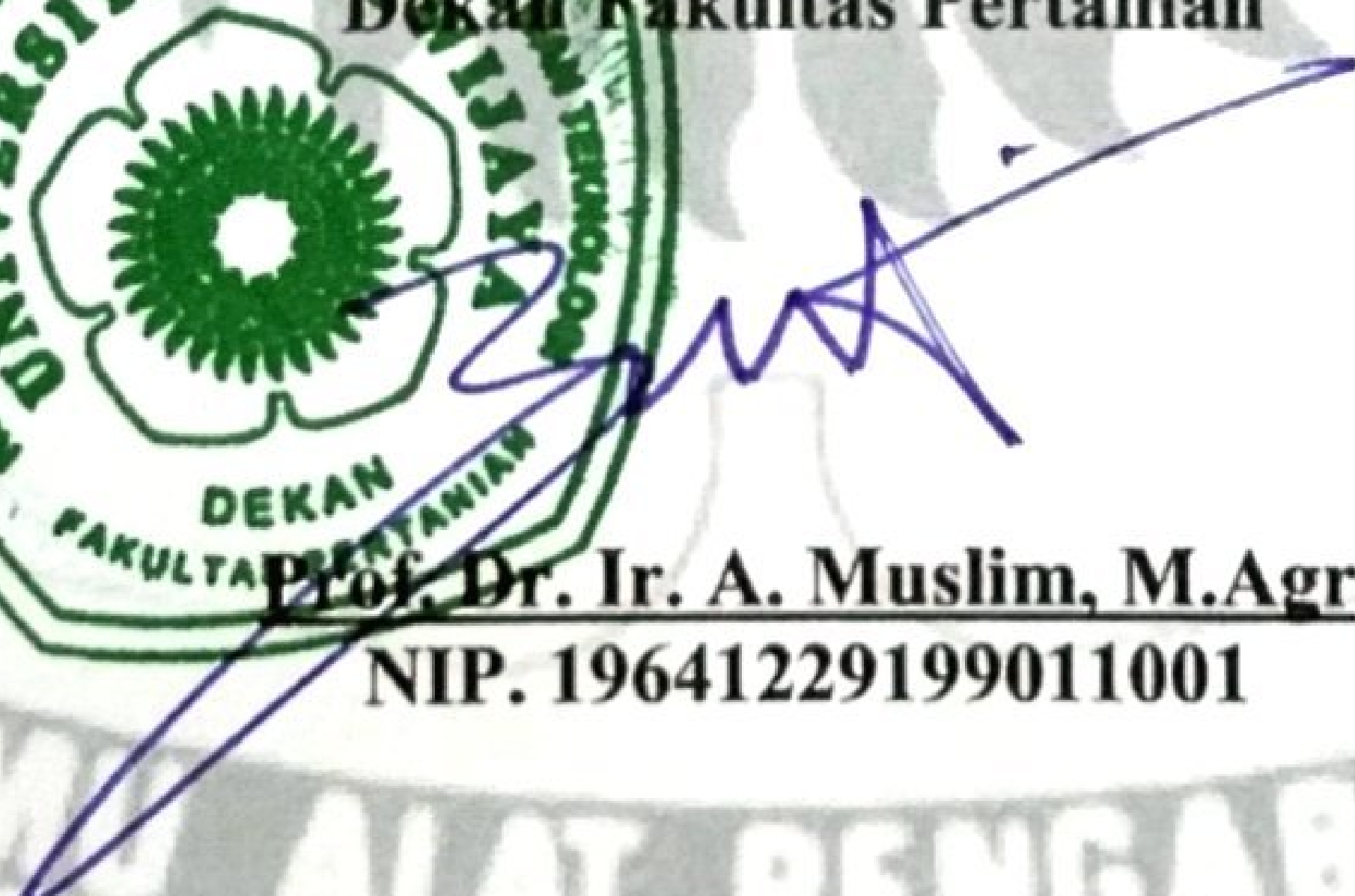
Oleh:

Septika Indiani  
05031281823028

Indralaya, September 2023  
Dosen Pembimbing

  
Dr. Ir. Anny Yanuriati, M.Appl.Sc.  
NIP. 196801301992032003

Mengetahui:  
Dekan Fakultas Pertanian

  
Prof. Dr. Ir. A. Muslim, M.Agr  
NIP. 19641229199011001

Universitas Sriwijaya

Skripsi dengan judul “Pembandingan Skrining Bakteri Selulolitik antara Metode *Clear Zone* dan Uji Aktivitas Enzim dengan Pengukuran Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS” oleh Septika Indiani telah dipertahankan dihadapan komisi penguji skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 28 Juli 2023 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

1. Dr. Ir. Anny Yanuriati, M.Appl.Sc.  
NIP. 196801301992032003

Pembimbing

(.....)

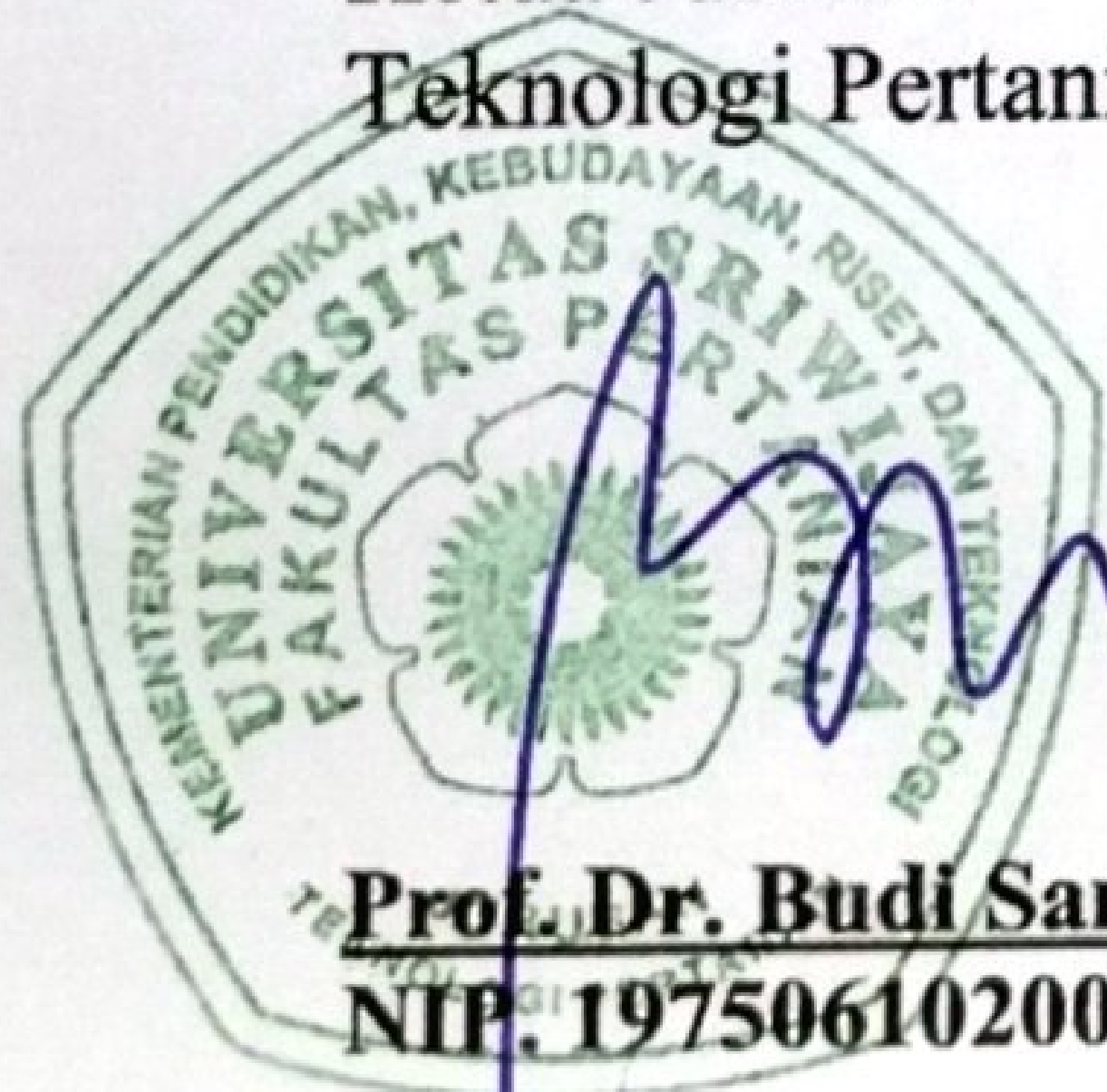
2. Dr. Ir. Tri Wardani Widowati, M.P  
NIP. 196305101987012001

Penguji

(.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Teknologi Pertanian

Indralaya, September 2023  
Koordinator Program Studi  
Teknologi Hasil Pertanian



Prof. Dr. Budi Santoso, S.TP., M.Si.  
NIP. 197506102002121002

Prof. Dr. Budi Santoso, S.TP., M.Si.  
NIP. 197506102002121002

Universitas Sriwijaya

## PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Septika Indiani

NIM : 05031281823028

Judul : Perbandingan Skrining Bakteri Selulolitik antara Metode *Clear Zone* dan Uji Aktivitas Enzim dengan Pengukuran Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri di bawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapat paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, September 2023



Septika Indiani

## **RIWAYAT HIDUP**

Septika Indiani, Lahir di Desa Tugumulyo Kecamatan Lempuing Kabupaten Ogan Komering Ilir Provinsi Sumatera Selatan pada tanggal 03 September 2000. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, anak perempuan dari bapak Halim dan ibu Darwati. Riwayat pendidikan formal yang pernah ditempuh penulis yaitu pendidikan Sekolah Dasar di Madrasah Ibtidaiyah Miftahul Huda Tugumulyo selama 6 tahun dan dinyatakan lulus pada tahun 2012, pendidikan Menengah Pertama di Madrasah Tsanawiyah Islamiyah Bumi Agung selama 3 tahun dan dinyatakan lulus pada tahun 2015, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di MAN Insan Cendekia OKI selama 3 tahun dan dinyatakan lulus pada tahun 2018. Selanjutnya pada bulan Agustus 2018 penulis diterima sebagai mahasiswi Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selain aktif dalam perkuliahan penulis juga aktif dalam kegiatan kemahasiswaan dan organisasi yaitu sebagai Pengurus Harian Lembaga Dakwah Fakultas (LDF) BWPI FP UNSRI pada tahun 2018-2020, Komisioner Panwaslu KM FP UNSRI pada tahun 2019-2020, Badan Legislasi DPM KM FP UNSRI pada tahun 2020 dan merupakan anggota Kesatuan Aksi Mahasiswa Muslim Indonesia (KAMMI) Al-Quds UNSRI. Penulis juga telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Modong, Kecamatan Tanah Abang, Kabupaten Penukal Abab Lematang Ilir (PALI) pada bulan juni 2021 dan Praktek Lapangan di UMK Kawah Dempo, Pagar Alam pada bulan Februari 2023.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan atas ke hadirat Allah SWT. Berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Pembandingan Skrining Bakteri Selulolitik antara Metode *Clear Zone* dan Uji Aktivitas Enzim dengan Pengukuran Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS”**. Skripsi ini dibuat sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Penulis mengucapkan terimakasih atas segala bentuk bantuan, bimbingan serta pengarahan dari berbagai pihak yang telah membimbing penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini, khususnya kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Halim dan Ibu Darwati serta adik tersayang Arief Al Fandi yang telah memberikan kasih sayang tak terhingga, perhatian, dukungan, nasihat, dan selalu ada untuk penulis dalam kondisi apapun. Semoga selalu dalam penjagaan Allah SWT, senantiasa sehat lahir batin, diberikan kelancaran rezeki, kemudahan dan keberkahan dalam menjalani kehidupan.
2. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
3. Ketua Jurusan Teknologi Pertanian dan Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
4. Ibu Dr. Ir. Anny Yanuriati, M.Appl.Sc. selaku pembimbing akademik, pembimbing praktik lapangan dan pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, memberikan arahan, nasihat, solusi, motivasi, bantuan, kepercayaan, semangat serta doa kepada penulis.
5. Dr. Ir. Tri Wardani Widowati, M.P selaku dosen pembahas makalah dan penguji skripsi yang telah memberikan masukan, saran serta bimbingan kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Teknologi Pertanian yang telah mendidik, membagi ilmu dan memberikan motivasi kepada penulis.
7. Staf Administrasi akademik Jurusan Teknologi Pertanian (Kak Jhon, Mba Desi dan Mba Nike) dan Staf Laboratorium Jurusan Teknologi Pertanian

(Mba Hafsah, Mba Elsa, Mba Lisma dan Mba Tika) Staf Laboratorium Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan (Mba Armi), Staf Laboratorium Jurusan Budidaya Pertanian (Mba Sandi), Staf Laboratorium Jurusan Pendidikan Biologi (Kak Budi) dan Staf Laboratorium Genetika Jurusan Biologi (Kak Agus) atas semua bantuan, dukungan serta arahan yang diberikan.

8. Keluarga besar, sepupu dan keponakanku yang lucu yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terimakasih atas do'a, nasihat dan semangat yang selalu menyertai penulis dalam menyelesaikan perkuliahan.
9. Keluarga besar posko KKN, Ibu Asyani, Bapak Darus, adikku Feni Ayunda serta teman-teman Desa Modong yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
10. Teman satu pembimbing sekaligus satu perjuangan penelitian Febry Heriyanti, Wiji Lestari, Mario Andino dan Utari Putri serta kakak tingkatku Kak Tresa Roganda, S.TP., Hubertus Judea Enggardi, S.TP., dan Rifandi Ahmad Saltana Tarigan S.TP., yang telah banyak membantu dan memberikan semangat.
11. Teman terbaik seperjuangan Wida Rina Aprilia, Siti Raudhatul Janah Damanik dan Nindia Febianti yang sudah menemani dan banyak membantu penulis menyelesaikan perkuliahan dan penelitian. Sampai jumpa di hari baik selanjutnya.
12. Mas Ridho yang selalu menguatkan dalam keadaan apapun, terima kasih atas waktu, perhatian, semangat dan semuanya.
13. Teman satu angkatan THP 2018 Indralaya dan Palembang terima kasih atas bantuan, semangat, canda tawa serta doa yang selalu menyertai.
14. Kakak tingkatku terkhusus 2016 selaku Opdik; Efri Yulistika S, Tp. Yang telah mengarahkan dan membimbing dalam proses perkuliahan dan organisasi.
15. Adik-adik tingkatku terutama para praktikkan yang banyak memberi support serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu terimakasih telah mewarnai hari-hari perkuliahan sampai penulis menyelesaikan skripsi.

Terimakasih atas semuanya dan mohon maaf atas segala kekurangan. Penulis berharap skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca. Penulis juga menyadari bahwa penulisan skripsi ini terdapat banyak kekurangan, untuk kritik dan sarannya penulis menerima dengan senang hati.

#### Kata Motivasi

Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui.”

– QS Al Baqarah: 216 –

Indralaya, September 2023



Septika Indiani

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan.....	3
1.3. Hipotesis.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Selulosa.....	4
2.2. Bakteri Selulolitik.....	5
2.3. Enzim Selulase.....	5
2.4. Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS).....	7
2.5. <i>Carboxy Methyl Cellulose</i> (CMC).....	7
2.6. Metode Zona Bening.....	8
2.7. Uji <i>Dinitro Salicylic Acid</i> .....	9
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	10
3.1. Tempat dan Waktu.....	10
3.2. Alat dan Bahan.....	10
3.3. Metode Penelitian.....	10
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	11
3.4.1. Persiapan Sumber Isolat.....	11
3.4.2. Pembuatan Media <i>Carboxymethyl Cellulose</i> .....	11
3.4.3. Isolasi Bakteri Selulosa.....	12
3.4.4. Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik.....	12
3.4.5. Skrining Bakteri Selulolitik.....	13
3.4.6. Pembuatan media CMC cair untuk produksi enzim.....	14
3.4.7. Produksi Enzim.....	14
3.4.8. Pengukuran Aktivitas Enzim.....	14

3.5. Parameter.....	17
3.5.1. Identifikasi Makroskopis.....	17
3.5.1.1. Morfologi Isolat Bakteri Selulolitik.....	17
3.5.2. Identifikasi Mikroskopis.....	18
3.5.2.1. Pewarnaan Gram.....	18
3.5.3. Uji Motilitas.....	19
3.5.4. Uji Katalase.....	19
3.5.5. Uji H <sub>2</sub> S.....	20
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1. Isolasi Bakteri Selulolitik.....	21
4.2. Aktivitas selulolitik bakteri.....	21
4.3. Produksi Ekstrak Enzim Kasar.....	25
4.4. Pengukuran Aktivitas Enzim.....	26
4.5. Perbandingan Hasil Uji Zona Bening dan Uji Gula Reduksi Bakteri Selulolitik.....	28
4.6. Identifikasi Makroskopis.....	32
4.6.1. Morfologi Isolat Bakteri Selulolitik.....	32
4.6.2. Uji Katalase.....	33
4.6.3. Uji Motilitas.....	33
4.6.4. Uji H <sub>2</sub> S.....	34
4.7. Identifikasi Mikroskopis.....	35
4.7.1. Pewarnaan Gram.....	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1. Kesimpulan.....	39
5.2. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	46

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Rumus Kimia Selulosa.....	4
Gambar 2.2. Mekanisme Hidrolisis Selulosa oleh Enzim Selulase.....	6
Gambar 2.3. Tandan Kosong Kelapa Sawit.....	7
Gambar 2.4. Rumus Kimia <i>Carboxy Methyl Cellulose</i> .....	8
Gambar 4.1. Persentase potensi aktivitas selulolitik isolat bakteri.....	24
Gambar 4.2. Nilai aktivitas enzim tertinggi.....	27
Gambar 4.3. Hasil uji motilitas isolat bakteri.....	34
Gambar 4.4. Hasil uji H <sub>2</sub> S isolat bakteri.....	35
Gambar 4.5. Hasil uji pewarnaan Gram isolat bakteri.....	36

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Nilai indeks selulolitik.....	23
Tabel 4.2. Perbandingan hasil uji zona bening dan uji gula reduksi.....	30
Tabel 4.3. Hasil pengamatan makroskopis isolat bakteri selulolitik.....	32
Tabel 4.4. Hasil uji pewarnaan Gram.....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi Proses.....	47
Lampiran 2. Hasil Isolasi Bakteri dengan Metode <i>Spread Plate</i> sampel yang berasal dari lokasi pabrik tumpukan bawah (A), tengah (B) dan lokasi kebun.....	50
Lampiran 3. Hasil <i>Streak Kuadran</i> 84 Isolat Murni.....	54
Lampiran 4. Zona Bening pada 20 Isolat Bakteri Selulolitik.....	55
Lampiran 5. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri.....	56
Lampiran 6. Data Perhitungan Indeks Selulolitik 20 Isolat Bakteri.....	57
Lampiran 7. Data Perhitungan Aktivitas Enzim 20 Isolat Bakteri.....	59



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Berdasarkan letak geografis, Indonesia merupakan negara agraris dengan wilayah daratan dan perairan yang sangat luas. Daratan dan perairan merupakan habitat yang sangat baik bagi makhluk hidup. Di sisi lain, Indonesia juga memiliki iklim tropis yang sangat menunjang sektor agraris. Sehingga, Indonesia kaya akan keberagaman sumber daya alam dan makhluk hidup, baik yang berukuran besar seperti berbagai macam tanaman dan hewan hingga mikroorganisme berukuran kecil seperti bakteri (Setyati *et al.*, 2016).

Bakteri merupakan salah satu makhluk hidup yang habitatnya bermacam-macam sehingga spesiesnya pun beragam. Identifikasi bakteri diperlukan karena setiap spesies bakteri memiliki fungsi, karakter dan pemanfaatan yang berbeda. Salah satu pengujian dalam upaya identifikasi yaitu skrining bakteri. Skrining bakteri merupakan upaya mendeteksi keberadaan suatu bakteri dalam habitat tertentu dan sebagai langkah awal identifikasi bakteri lebih lanjut seperti uji kemampuan dan aktivitas bakteri secara lebih spesifik (Setyati *et al.*, 2016).

Skrining bakteri juga dilakukan sebagai upaya mendeteksi produk baru yang dapat dihasilkan dari isolat seperti metabolit, vitamin dan enzim. Realitanya, beberapa tahun terakhir enzim menjadi salah satu produk yang cukup dilirik dan berangsur digunakan dalam dunia industri karena pemanfaatannya yang sangat luas. Potensi ini cukup menjadi salah satu faktor kuat untuk melakukan skrining pada bakteri guna meneliti secara spesifik dan lebih lanjut khususnya dalam memproduksi enzim. Salah satu enzim dengan potensi paling besar karena sumbernya yang banyak, dapat diproduksi oleh bakteri dan pemanfaatannya yang luas dalam dunia industri khususnya pangan adalah enzim selulase. Menurut Chaudhary *et al.* (2015), dalam industri pangan enzim selulase digunakan pada pengolahan bir, fermentasi anggur serta dalam pengolahan jus buah sebagai penjernih, penurun viskositas dan memperbaiki tekstur. Potensi lainnya menurut Sadhu dan Maiti (2013), enzim selulase dapat digunakan sebagai penghasil warna denim dalam industri tekstil, pelembut kain dalam industri deterjen dan dapat

meningkatkan kandungan nutrisi dan memperbaiki pencernaan hewan ternak dalam industri pakan ternak. Menurut Rasul *et al.* (2015), sejak bertahun-tahun yang lalu telah banyak dilakukan penelitian biokonversi dari bahan selulosa dan isolasi serta karakterisasi bakteri pendegradasi selulosa dalam upaya memperoleh selulase yang baik dari berbagai sumber. Contohnya seperti skrining bakteri selulase dari limbah pengolahan kelapa sawit berupa tandan kosong kelapa sawit (TKKS).

Menurut Yusnia *et al.* (2019), tumpukan limbah tandan kosong kelapa sawit memiliki potensi sebagai sumber penghasil enzim selulase yang berasal dari pertumbuhan bakteri selulolitik. Mayoritas pabrik belum mampu memaksimalkan dan mengolah limbah tersebut sehingga membiarkannya terurai secara alami oleh bakteri maupun jamur. Padahal, tandan kosong merupakan limbah padat utama dengan jumlah cukup besar. Menurut Santi *et al.* (2018), sebanyak 25% tandan kosong kelapa sawit akan dihasilkan dalam setiap pengolahan 1 ton tandan buah segar atau sekitar 250 kg limbah tandan kosong dalam setiap pengolahan 1000 kg tandan buah segar. Tumpukan TKKS membutuhkan waktu selama 6-12 bulan untuk terdegradasi secara alami. Penyebab sulitnya degradasi alami tersebut karena kandungan senyawa selulosa yang terdapat dalam tandan kosong kelapa sawit merupakan polimer glukosa dan polifenol yang sangat sulit terdekomposisi. Sehingga jumlah limbah yang dihasilkan setiap hari tidak berbanding lurus dengan proses degradasi menyebabkan tumpukan limbah membesar (Kurniawan dan Gusmawartati, 2021).

Skrining bakteri selulolitik merupakan inovasi untuk memanfaatkan potensi selulase dalam mengatasi permasalahan limbah TKKS. Selulase dapat mendegradasi tandan kosong kelapa sawit menjadi suatu produk yang komersial dan kaya manfaat. Skrining bakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *clear zone* dan pengukuran aktivitas enzim dilakukan menggunakan uji gula reduksi metode DNS. Menurut Lokapirnasari (2016), aktivitas selulolitik pada metode *clear zone* ditandai dengan kemunculan diameter zona bening pada media CMC 1% yang telah diinokulasi dengan bakteri. Diameter tersebut terbentuk akibat adanya aktivitas degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik. Menurut Nugraha *et al.* (2014), diameter zona bening yang terbentuk oleh masing-masing

isolat akan menunjukkan hasil berbeda karena perbedaan kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa.

Menurut Murthy dan Hazmi (2017), skrining bakteri menggunakan metode zona bening merupakan langkah awal dalam mendeteksi keberadaan bakteri selulolitik. Skrining bakteri pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai indeks selulolitik bakteri yang diperoleh dari perbandingan diameter zona bening dan diameter koloni yang terbentuk. Selanjutnya, untuk mengetahui besarnya nilai aktivitas enzim dari isolat yang memiliki indeks selulolitik dilakukan dengan uji gula reduksi menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylid acid*).

Nilai aktivitas enzim yang diperoleh kemudian digunakan sebagai dasar perbandingan antara metode *clear zone* dan metode DNS. Sehingga dapat diketahui apakah isolat bakteri yang memiliki indeks selulolitik tinggi juga memiliki nilai aktivitas enzim yang besar. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil uji skrining bakteri selulolitik antara metode *clear zone* dan uji aktivitas enzim dengan pengukuran gula reduksi menggunakan metode DNS.

## 1.2. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menskrining bakteri penghasil selulase dari limbah tandan kosong kelapa sawit menggunakan metode zona bening.
2. Menguji aktivitas enzim selulase menggunakan metode gula reduksi.
3. Membandingkan nilai indeks selulolitik hasil skrining menggunakan metode *clear zone* dengan nilai aktivitas enzim hasil uji gula reduksi menggunakan metode DNS.

## 1.3. Hipotesis

1. Limbah TKKS berpotensi ditumbuhi bakteri penghasil selulase.
2. Semakin besar diameter zona bening yang terbentuk maka semakin tinggi nilai aktivitas enzim yang dihasilkan.
3. Hasil skrining bakteri metode *clear zone* berbanding lurus dengan hasil uji aktivitas enzim metode DNS.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anand, A.A.P., Vennison, S.J., Sankar, S.G.S., Prabhu, I.G., Vasana, P.T., Raghuraman, T., Geoffrey, C.J. and Vendan, S.E. 2010. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut Of *Bombyx Mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J.Insect Science*. 10(107), 1-20.
- Apriani, K., Haryani, Y dan Kartika, G. 2014. Produksi dan Uji Aktivitas Selulase dari Isolat Bakteri Selulolitik Sungai Indragari. *JOM FMIPA*, 1(2), 261- 267.
- Azzahra, S.C., Yunus, E. dan Sudono S. 2021. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Asal Tanah Desa Akar-akar, Lombok Utara. *Jurnal Al-azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. 6(2), 71-75.
- Baharudin, A.S., Razak, M.N.A., Hock, L.S., Ahmad, M.N., Aziz, S.A., Rahman, N.A.A., Shah, U.K.M., Hassan, M.A., Sakai, K and Shirai, Y. 2010. Isolation and Characterization of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from Empty Fruit Bunches-Palm Oil Mill Effluent Compost. *American Journal of Applied Science*, 7(1), 56-62.
- Baehaki A., Rinto dan Arif, B. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 22(1), 10- 16
- Beveridge, T.J. 1999. Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*. 181(16), 4725-4733.
- Biswas, S., Saber, A., Tripty, I.A., Karim, A., Islam, A., Hasan, S., Alam, A.S.M.R.U., Jahid, I.K. and Hasan, N. 2020. Molecular Characterization of Cellulolytic (Endo- and Exoglucanase) Bacteria from the Largest Mangrove Forest (Sundarbans), Bangladesh. *Annals of Microbiology*, 70(68), 1-11.
- Chaudhary, S., Sagar, S., Kumar, M., Sengar, R.S and Tomar, A. 2015. The Use of Enzymes in Food Processing: A Review. *South Asian Journal of Food, Technology and Environment*, 1(3), 190-201.
- Dar, M.A., Pawar, K.D., Jadhav, J.P. and Pandit, R.S. 2015. Isolation of Cellulolytic Bacteria from the Gastro-intestinal Tract of *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata) and their Evaluation for Cellulose Biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 98, 73-80.
- Deviani, S., Haryani, Y. dan Jose, C. 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik dari Air Muara Daerah Aliran Sungai Siak Wilayah Kabupaten Bengkalis. *Jurnal Online Mahasiswa FMIPA*, 1(2), 78-87.

- Dewiyanti, I., Darmawi., Muchlisin, Z.A., Helmi, T.Z., Arisa, I.I., Defira, N., Fitriyani., and Yura, S. 2021. Cellulase Activity of Bacteria Isolated from Water of Mangrove Ecosystem in Aceh Province. *Jurnal Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 10(3), 243-250.
- Dini, I. R. dan 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), 70-75.
- Fadhilah, H. dan Budiyanto. 2018. Pengaruh Tandan Kosong Kelapa Sawit Sebagai Meda Tumbuh Jamur Terhadap Produksi dan Sifat Fisik Jamur Merang (*Volvariella volvacea*). *Jurnal Agroindustri*, 8(1), 80-96.
- Fahrudin. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa dari Limbah Pusat Industri Mebel Lintang Makassar. *Jurnal Serambi Engineering*. 5(2), 951-956.
- Fallo, G dan Yuni, S. 2016. Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*. 1(2), 27-29.
- Gusmawartati., gustian., Herviyanti and Jamsari. 2017. Isolation of Cellulolytic Bacteria from Peat Soils as Decomposer of Oil Palm Empty Fruit Bunch. *Journal of Tropical Soil*, 7(1), 1-7.
- Hajna, A.A. 1945. Triple-Sugar Iron Agar Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria. *Journal Bacteriology*, 49, 516.
- Hamka., Rahman, M dan Susanti, T.A. 2016. Uji Aktivitas Selulase Bakteri Selulolitik yang Berasal dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Agriment*, 13(1), 1-10.
- Hanafiah, K.A. (2016). *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Hapsoh., Gusmawartati and Yusuf, M. 2015. Effect various combination of organic waste on compost quality. *Journal of Tropika Soils*, 20(1): 59-65.
- Hatmanti, Ariani. 2000. Pengenalan *Bacillus* sp. *Jurnal Oceana*. 1(24), 31-41.
- Hemraj, V., Diksha, S. and Avneet, G. 2013. a Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. *Journal of Life Science*, 1(1), 1-7.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q. and Nadeem, M. 2012. Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity. *Turkish Journal of Biochemistry*, 37(3), 287-293.

- Jennifer, V. dan Thiruneelakandan, G. 2015. Enzymatic Activity of Marine *Lactobacillus* Species from South East Coast of India. *IJISET*, 2(1), 542-546.
- Kesuma, I.P.E.A.W., Wijaya, I.N. dan Sritamin, M. 2021. Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik pada Feses Luwak. *Jurnal Nandur*, 1(3), 139-147.
- Kosasi, C., Lolo, W.A. dan Sedewi, S. 2019. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi Secara Biokimia. *Jurnal Pharmacon*, 8(2), 351-359.
- Kurniawan, A., Febrianti, D., Sari, S.P., Prihanto, A.A., Asriani, E., Kurniawan, A., Sambah, A.B. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Asal Ekosistem Mangrove Tukak Sadai, Bangka Selatan. *Jurnal Perikanan Pantura*, 1(2), 9-16.
- Kurniawan., Clara A. dan Gusmawartati. 2021. Uji Isolat Bakteri Selulolitik Sebagai Dekomposer pada Dekomposisi Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Agrotek*, 5(1), 55-62.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I.B.W. dan Wijaya, I.M.M. 2019. Optimasi suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase Menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), 243-253.
- Lavanya, D., Kulkarni, PK., Dixit, M., Raavi, PK and Krishna, LNV. 2011. Sources of Cellulose and Their Applications: A Review. *International of Drug Formulation and Research*, 2(6), 19-22.
- Lisdiyanti, P., Suyanto, E., Gusmawati, N.F. and Rahayu, W. 2012. Isolation and Characterization of Cellulase Produced by Cellulolytic Bacteria from Peat Soil of Ogan Komering Ilir, South Sumatera. *Int. J. Environ. Bioenerg.* 3(3), 145-153.
- Lokapirnasari.W.P. 2016. Karakteristik Morfologi dan Biokimiawi Isolat Selulolitik *Cytophaga* s.p. *Jurnal Veterinaria Medika*. 9(2), 191-196.
- Meryandini A., Widosari W., Maranatha B., Sunarti TC., Rachmania N. dan Satria H. 2010. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Jurnal Sains*, 13(1):33–38.
- Murtyaningsih, H. dan Hazmi, M. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Jurnal Agritop*, 15(2), 293-308.
- Nababan, M., Gunam, I.B.W. dan Wijaya, I.M.M. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 2(7), 190-199.

- Nugraha, R., Ardyati, T. dan Suharjono. 2014. Eksplorasi Bakteri Selulolitik yang Berpotensi Sebagai Agen *Biofertilizer* dari Tanah Perkebunan Apel Kota Batu, Jawa Timur. *Jurnal Biotropika*, 2(3), 159-163.
- Olivia, L., Oktavia, B. dan Iryani. 2013. Optimasi Komposisi Fasa Gerak dan pH *Buffer* Asetat pada Analisa Zat Warna Sintetik Rhodamin B dan Ponceau 4R Menggunakan Metoda HPLC. *Chemistry Journal of State University of Padang*. 2(2), 73-79.
- Oliviani, Kiki. 2019. Identifikasi Bakteri dan Karakterisasi Enzim S Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Selulolitik P12 Asal Mata Air Gunung Merapi. Skripsi: Universitas Brawijaya.
- Pajersky, W., Dorota, O., Monica, B., Paulina, I., Magdalena, J., Monika, G., Zbigniew, S., dan Andrzej K. 2019. Attachment Efficiency of Gold Nanoparticles by Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Strains Governed by Surface Charges. *Journal Nanopart Res.* 21(186), 1-12.
- Pramono, Y.G., Fidiya, B.R., Putri, H.S., Yuliskurniawati, I.D. and Suarsini, E. 2018. Isolation and Identification of Cellulose Degrading Bacteria from Banana Peel Compost. *Jurnal Biologi El-Hayah*, 7(1), 6-11.
- Prima, A., Devi, S. dan Saryono, S. 2015. Optimalisasi pH Produksi Enzim Selulase dari Bakteri *Endofitik Pseudomonas stutzeri LBKURCC45*, *Pseudomonas cepacia LBKURCC48* dan *Pseudomonas stutzeri LBKURCC59*. *JOM FMIPA*, 2(1), 199-204.
- Purwadaria, T., Pesta, A.M., Arnold, P.S. dan Pius, P.K. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. *JITV*. 8(4), 213-219.
- Putri, A.L.O. dan Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan Inasua yang Diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Rahayu, A.G., Haryani, Y. dan Puspita, F. 2014. Uji Aktivitas Selulolitik dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *Jurnal Jom Fmipa*, 1(2), 33-36.
- Rahayu, Irma. 2021. Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Selulosa pada Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Skripsi: UIN Alauddin Makassar.
- Rasul, F., Afroz, A., Rasyid, U., Mehmood, S., Sughara, K. dan Zeeshan, N. 2015. Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase dari Tanah dan Limbah (Tetes Tebu) Industri Gula. *Jurnal Internasional Biosains*, 6(3), 230-238.

- Rawway, M., Ali, S.G and Badawy, A.S. 2018. Isolation and Identification of Cellulose Degrading Bacteria from Different Sources at Assiut Governorate (Upper Egypt). *Journal of Ecology of Health & Environment*, 6(1), 15-24.
- Rismawati, Y., Bahri, S. dan Prismawiryanti. 2016. Produksi Glukosa dari Jerami Padi (*Oryza sativa*) Menggunakan Jamur *Trichoderma* sp. *Jurnal Kovalen*, 2(2), 67-76.
- Rori, C.A., Kandou, F.E.F. dan Tangapo, A.M. 2020. Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*. 10(2), 48-55.
- Rostinawati, T. dan Lestari, H.S. 2018. Skrining Bakteri Penghasil Enzim  $\beta$ -Siklodekstrin Glukosil Transferase ( $\beta$ -CGTase) dari Tanah Jatiningor. *Jurnal Farmasi, Sains dan Kesehatan*, 29(3). 1-8.
- Sadhu, S. and Maiti, T.K. 2013. Cellulose Production by Bacteria: A Review. *British Microbiology Research Journal*. 3(3), 235-258.
- Saputra, D. dan Tati, N. 2013. Produksi dan Aplikasi Pepton Ikan Selar untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *JPHPI*. 16(3), 215-223.
- Sari, S.T., Miwada dan Hartawan, M. 2015. Efektivitas *Edible Coating* dari Gelatin Kulit Ceker pada Bakso Ayan Selama Penyimpanan. *Jurnal Peternakan Tropika*. 3(2), 233-243.
- Sari, R. F. 2010. Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler dari Isolat Bakteri RF-10. Skripsi: Institut Pertanian Bogor.
- Saropah, D. A., Jannah, A. dan Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*, 2 (1), 34-45.
- Satioko. T.R., Sri, W. dan Nurwachid, B.S. 2013. Pemanfaatan Bagas Limbah Pabrik Gula Jatibarang Brebes Menjadi Bioetanol. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2(3), 208-211.
- Seniati., Mulyani, R. dan Mulyaddin. 2020. Uji Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan Metode Penyimpanan Beku pada Media TSB dan Gliserol. *Jurnal Lutjanus*. 25 (2), 41-48.
- Setyati, W.A., Habibi, A.S., Subagiyo., Ridlo, A., Nirwani, S. dan Pramersti, R. 2016. Skrining dan Seleksi Bakteri Symbion Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik dan Biokontrol Vibriosis pada Budidaya Udang. *Jurnal Kelautan Tropis*, 19(1), 11-20.
- Silitonga, L.R., Nursyirwani and Effendi, I. 2019. Isolation, Identification and Sensitivity of Amilolytic Bacteria from Mangrove Ecosystem Sediment in



- Purnama Marine Station Dumai on The Pathogenic Bacteria. *Asian Journal of Aquatic Science*, 2(3), 257-266.
- Sinegani, A.A.S. and Emtiazi, G. 2006. The Relative Effects of Some Elements on The DNS Methode in Cellulase Assay. *JASEM*. 10(3), 93-96.
- Sonia, N.M.O dan Kusnadi, J. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 yang Berasal dari Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4), 11-19.
- Susanti L., Rusmiyanto, E. P. W. dan Kurniatuhadi, R. 2018. Aktivitas Biologis Asap Cair Batang Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Viabilitas *Streptococcus* sp. (L.10.3). *Jurnal Protobiont*, 7(3), 1-8.
- Tarigan, W.F., Sumardi dan Wawan, A.S. 2015. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus* sp. *Jurnal Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. 3(6). 736-747.
- Vimal, J., Akhil, V., dan Jini, J. 2016. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria and optimization of the cellulase production. *International Journal of Research in Bioscience*. 5(3), 58-67.
- Wahyuningtyas, P., Bambang, D.A dan Wahyunanto A.N. 2013. Studi Pembuatan Enzim Selulase dari Mikrofungsi *Trichoderma reesei* dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolis Enzimatik Pada Produksi Bioetanol. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 1(1), 21-25.
- Weerasinghe, W.M.L.I., Madusanka, D.A.T. and Manage, P.M. 2021. Isolation and Identification of Cellulase Producing and Sugar Fermenting Bacteria for Second-Generation Bioethanol Production. *Int. Journal of Renewable Energy Development (IJRED)*, 10(4), 699-711.
- Yulma., Burhanudin I., Sunarti., Eka M., Neni W dan Mursyiban. 2017. Identifikasi Bakteri pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan Kota Tarakan. *Jurnal Of Tropical Biodiversity And Biotechnology*. 1(2), 28-33.
- Yusnia, Ella Dwi., Gunam, Ida Bagus Wayan dan Antara Nyoman Semadi. 2019. Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik dari Beberapa Tanah Hutan di Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(1), 11-20.
- Zverlov, V., Schwarz, W.H. and Holl, W. 2003. Enzymes for digestion of cellulose and other polysaccharides in the gut of longhorn beetle larvae, *Rhagium inquisitor* L. (Col., Cerambycidae). *International of Biodeterioration and Biodegradation Journal*, 51(3), 175-179.