

**OPTIMASI SUHU DAN pH UNTUK PRODUKSI SELULASE BAKTERI  
YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA  
KUMBANG BADAK (*Oryctes rhinoceros* L.)**

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

**Kristian Agung Nugraha**

**M0408067**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2014**

*commit to user*

**PENGESAHAN**

**SKRIPSI**

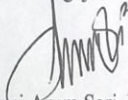
**OPTIMASI SUHU DAN pH UNTUK PRODUKSI SELULASE BAKTERI  
YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA  
KUMBANG BADAK (*Oryctes rhinoceros* L.)**

Oleh:  
Kristian Agung Nugraha  
NIM. M0408067

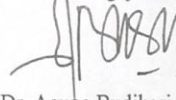
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada tanggal ... 20 ... JAN 2014  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, Januari 2014

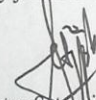
Penguji I

  
Siti Lusi Arum Sari, M. Biotech  
NIP. 19760812 200501 2 001

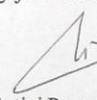
Penguji II

  
Dr. Agung Budiharjo, M.Si  
NIP. 19680823 200003 1 001

Penguji III/Pembimbing I

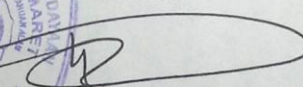
  
Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si  
NIP. 19660714 199903 2 001

Penguji IV/Pembimbing II

  
Dr. Artini Pangastuti, M. Si  
NIP. 19750531 200003 2 001



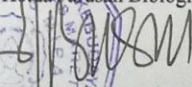
Dekan FMIPA

  
Prof. F. Ari Handono Ramelan, M.Sc (Hons), Ph.D  
NIP. 19610223 198601 1 001

Mengesahkan

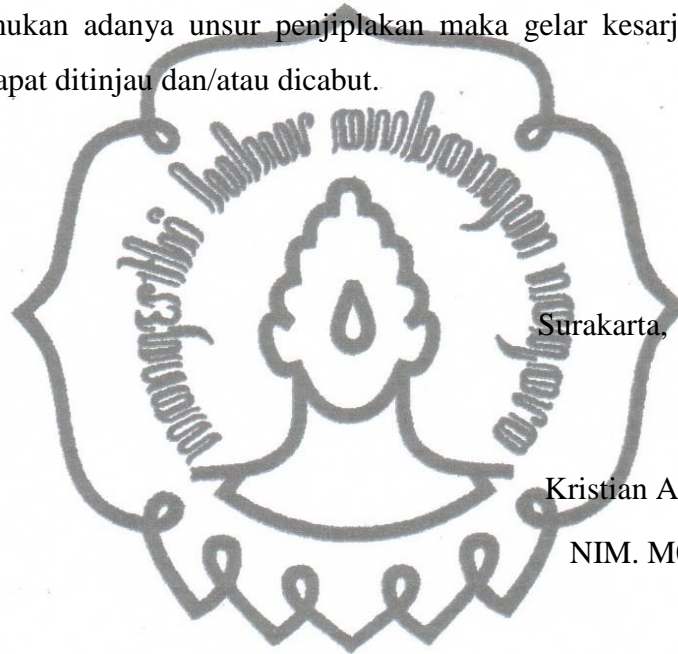


Ketua Jurusan Biologi

  
Dr. Agung Budiharjo, M. Si  
NIP. 19680823 200003 1 001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.



Surakarta, 20 Januari 2014

Kristian Agung Nugraha

NIM. M0408067

**OPTIMASI SUHU DAN pH UNTUK PRODUKSI SELULASE BAKTERI  
YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN LARVA  
KUMBANG BADAk (*Oryctes rhinoceros* L.)**

**Kristian Agung Nugraha**

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

**Abstrak**

Enzim selulase berfungsi untuk menguraikan ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4. Produksi enzim selulase oleh mikroorganisme merupakan komponen kunci untuk mendegradasi biomassa tumbuhan dan menjaga aliran karbon di alam. Hidrolisis selulosa oleh enzim selulase menghasilkan glukosa yang dapat dimanfaatkan untuk fermentasi lebih lanjut menghasilkan asam organik dan etanol. Enzim selulase memiliki aplikasi yang luas dan potensial dalam bidang makanan, pakan ternak, tekstil, bahan bakar, industri kimia, industri kertas, farmasi dan teknik genetik. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui suhu dan pH yang optimal untuk produksi selulase bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan larva *Oryctes rhinoceros* L. dan mengetahui aktivitas spesifik selulase bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan larva *Oryctes rhinoceros* L. pada suhu dan pH yang optimal.

Produksi enzim selulase dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media produksi enzim dengan komposisi (g/L)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  7,54;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2,32;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,3;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,05;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01 dan 10 g/L CMC sebagai sumber karbon. Penentuan suhu optimal pertumbuhan yaitu dengan menumbuhkan bakteri pada media produksi dengan variasi suhu ( $30^\circ$ ,  $40^\circ$ ,  $50^\circ$ , dan  $60^\circ$  C). Penentuan pH pertumbuhan optimal dengan variasi pH (3, 5, 7, dan 9). Pengamatan dilakukan setiap 4 jam secara bertahap. Pengukuran aktivitas selulase dilakukan dengan penghitungan gula reduksi menggunakan metode DNS dengan standar glukosa. Kadar protein terlarut enzim ditentukan dengan metode Bradford (1976) dengan menggunakan standart *bovine serum albumin* (BSA). Produksi selulase oleh *Oryctes rhinoceros* strain OR 11 dengan substrat CMC optimum pada jam ke 16, suhu  $30^\circ\text{C}$  dengan pH 5 dengan aktivitas spesifik selulase sebesar 0,0558 U/mg protein.

**Kata kunci :** Optimasi, Selulase, Optimum di  $30^\circ\text{C}$ , pH 5 dan waktu inkubasi 16 jam, *Oryctes rhinoceros*, Produksi.

**TEMPERATURE AND pH OPTIMALIZATION FOR CELLULASE  
PRODUCTION BY BACTERIA ISOLATED FROM ALIMENTARY  
TRACT OF *Oryctes rhinoceros* L. LARVA**

Kristian Agung Nugraha  
Biology Majors, Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Sebelas Maret University of Surakarta

**Abstract**

Cellulase is an enzyme hydrolized B-1,4 glycosidic bond. Cellulase production by microorganism is a key component to degrade plant biomass and maintain carbon flow in nature. Hydrolysis of cellulose by cellulase produces glucose which could be utilized for further fermentation produces organic acids and ethanol. Cellulase has extensive and potential applications on food, forage, textile, fuel, chemical and, paper industry. This research was conducted to find out the optimal temperature and pH for cellulase production by bacteria isolated from alimentary tract of *Oryctes rhinoceros* L. larvae and knowing its specific activity at the optimal temperature and pH.

Cellulase production was done by growing bacterias on cellulase production media with composition (g/L)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  7,54;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2, 32;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,3;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,05;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01 dan 10 g/L CMC as a carbon source. Determination of the optimal growth temperature was done by growing bacteria on the production media with variation of temperature : 30°, 40°, 50°, and 60° C. Determination of optimal pH was done with pH variations 3, 5, 7, and 9. Observation was conducted every 4 hours. Cellulase activity was measured by calculating of sugar production through DNS method with glucose as standart . Soluble protein was determined by Bardford method with BSA as standart. Cellulase production by OR 11 isolated from *Oryctes rhinoceros* L. larvae with CMC as carbon source was optimum at, 30 °C, and pH 5 at 16 hours. Cellulase specific activity at this optimum condition was 0,0558 U/ml of protein.

Keywords: Optimatization, Cellulase, Optimum at 30 °C, pH 5 an 16 hours incubation time, *Oryctes rhinoceros*, Production

## MOTTO

“Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah.”

(Thomas Alva Edison)

“Hiduplah seperti pohon kayu yang lebat buahnya; hidup di tepi jalan dan dilempari orang dengan batu, tetapi dibalas dengan buah”

(Confusius)

“Bekerjalah bagaikan tak butuh uang. Mencintailah bagaikan tak pernah disakiti. Menarilah bagaikan tak seorang pun sedang menonton.”

(Mark Twain)

“The way to be ahead is getting started now, if you star now next yesterday will know, a lot of things are unknown right now, and you will not know the future if you are waiting”

(Anonim)

“Mintalah, maka akan diberikan kepadamu; carilah, maka kamu akan mendapat; ketoklah, maka pintu dibukakan bagimu. Karena setiap orang yang meminta, menerima dan setiap orang yang mencari, mendapat dan setiap orang yang mengetok, baginya pintu dibukakan.”

(Matius 7:7-8)

## PERSEMBAHAN



*Dengan penuh cinta kasih skripsi ini ku persembahkan untuk  
Bapak, Ibu dan Mama yang memberikan banyak doa,  
dukungan baik moril dan materiil*

*Kakak ku Kristofani Nugraha Pratama yang selalu  
memotivasiku*

*Adik-adik ku Andryan, Ebrient, Lutfi dan Indah yang aku  
sayangi selalu*

*Sahabat-sahabatku tercinta*

*Almamatertku*

*commit to user*

## KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur senantiasa terpanjat kepada Tuhan dan Juru Selamat kami Yesus Kristus yang telah memberikan penyertaan, hikmat, akal budi dan kebijaksanaan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Optimasi Suhu dan pH untuk Produksi Selulase Bakteri Yang Diisolasi Dari Saluran Pencernaan Larva Kumbang Badak (*Oryctes rhinoceros* L.)” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons), Ph. D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan ijin penelitian untuk keperluan skripsi.
2. Dr. Agung Budihardjo, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi , Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta dan sekaligus sebagai dosen penelaah II yang telah memberikan bimbingan, dan ijin penelitian untuk keperluan skripsi.
3. Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dengan baik & sabar serta motivasi selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.
4. Dr. Artini Pangastuti, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan solusi, arahan, dan motivasi selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi.
5. Siti Lusi Arum Sari, M. Biotech. selaku dosen penelaah I sekaligus dosen pembimbing akademik yang telah banyak memberikan bimbingan, semangat dan masukan kepada penulis.

*commit to user*



6. Kepala dan staf Laboratorium Biologi yang telah mengizinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian di laboratorium
7. Keluarga Eyang Soenarno & Keluarga Pakde Sri Margiono Luhri beserta Bude Lilis Sundari, Mbak Meta & Mas Adjie, terimakasih atas dukungan yang tak terhingga selama penulis berada Solo & Boyolali untuk menempuh pendidikan Sarjana ini.
8. Keluarga besar Paduan Suara Voca Erudita tercinta yang tidak pernah penulis lupakan sepanjang hidup ini, terimakasih untuk persahabatan, pengalaman berharga dan rasa kekeluargaan yang begitu erat dalam suka dan duka.
9. Citra, Wahyu, Asti, Mas Bayu, Rebekca, Mbak Esti, Mbak Sri, Majeda, Nungria, Burhan, Alan, Syarafina, Putri, Sofa, Ikow, Odise, Bania, Ima terimakasih atas semangat, dukungan & kasih sayang yang sudah diberikan kepada penulis selama mengerjakan skripsi ini.
10. Teman-teman Biologi 2008 untuk kebersamaan, semangat dan inspirasi semoga silaturahmi selalu terjaga.
11. Mas Adnan, Mbak Atik, Mbak Nina terimakasih banyak selalu membantu, mengajari, dan memberikan masukan pada saat penelitian di Laboratorium Biologi.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya. Penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini dapat berguna dan memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang mikrobiologi.

Surakarta, 20 Januari 2014

Penulis

*commit to user*

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
HALAMAN MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. LANDASAN TEORI.....	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Selulosa.....	5
2. Enzim Selulase.....	6
3. Pemanfaatan Enzim Selulase.....	8
4. Kumbang Badak.....	9
5. Bakteri Selulolitik.....	13
6. Pertumbuhan Bakteri.....	14
7. Sintesis dan Aktivitas Enzim Selulase.....	15
8. Pengukuran Aktivitas Enzim.....	16
B. Kerangka Pemikiran.....	18

BAB III. METODE PENELITIAN.....	20
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
B. Bahan dan Alat .....	20
C. Rancangan Percobaan.....	21
D. Cara Kerja .....	21
1. Peremajaan Isolat Bakteri .....	21
2. Uji Pendahuluan Produksi Enzim .....	22
3. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri .....	22
4. Pembuatan Kurva Standar Bakteri .....	22
5. Produksi Enzim Selulase .....	23
6. Penghitungan Aktivitas Selulase Dengan Pengukuran Gula Reduksi.....	23
7. Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	25
8. Penghitungan Kadar Protein Terlarut.....	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
A. Seleksi Isolat dari Larva <i>Oryctes rhinoceros</i> L.....	27
B. Kurva Pertumbuhan Bakteri .....	29
C. Penentuan Suhu dan pH Optimum Produksi Aktivitas Spesifik Selulase .....	30
D. Produksi Aktivitas Spesifik Selulase Pada Berbagai Variasi Suhu dan pH .....	41
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
A. Kesimpulan .....	44
B. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA .....	45
LAMPIRAN .....	53
RIWAYAT HIDUP PENULIS .....	67

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 1. Aktivitas Selulase Isolat Bakteri OR 11 pada waktu inkubasi 24 jam..	28
Tabel 2. Kondisi Optimum Produksi Selulase Isolat OR 11 Pada Suhu 30°C dengan Variasi pH 3, 5, 7 dan 9.....	32
Tabel 3. Kondisi Optimum Produksi Selulase Isolat OR 11 Pada Suhu 40°C dengan Variasi pH 3, 5, 7 dan 9.....	34
Tabel 4. Kondisi Optimum Produksi Selulase Isolat OR 11 Pada Suhu 50°C dengan Variasi pH 3, 5, 7 dan 9.....	37
Tabel 5. Kondisi Optimum Produksi Selulase Isolat OR 11 Pada Suhu 60°C dengan Variasi pH 3, 5, 7 dan 9.....	39

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur selulosa beserta perombakannya menjadi glukosa...	6
Gambar 2. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis .....	7
Gambar 3. Telur <i>O. rhinoceros</i> L. ....	10
Gambar 4. Larva <i>O. rhinoceros</i> L.....	11
Gambar 5. Pupa <i>O. rhinoceros</i> L .....	12
Gambar 6. Imago <i>O. rhinoceros</i> L. ....	12
Gambar 7. Fase dalam pertumbuhan bakteri pada kultur curah.....	15
Gambar 8. Kerangka pemikiran.....	19
Gambar 9. Kurva Pertumbuhan Bakteri 24 jam pada media produksi	29
Gambar 10. Kurva Kurva Produksi Enzim Selulase yang Diambil dari Isolat OR 11 pada suhu 30°C dan pH A. 3, B. 5, C. 7 dan D. 9 .....	30
Gambar 11. Kurva Kurva Produksi Enzim Selulase yang Diambil dari Isolat OR 11 pada suhu 40°C dan pH A. 3, B. 5, C. 7 dan D. 9 .....	32
Gambar 12. Kurva Kurva Produksi Enzim Selulase yang Diambil dari Isolat OR 11 pada suhu 50°C dan pH A. 3, B. 5, C. 7 dan D. 9 .....	35
Gambar 13. Kurva Kurva Produksi Enzim Selulase yang Diambil dari Isolat OR 11 pada suhu 60°C dan pH A. 3, B. 5, C. 7 dan D. 9 .....	37
Gambar 14. Produksi Aktivitas Spesifik Selulase Isolat OR 11 pada variasi suhu dan pH .....	41

### DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kurva Standar Glukosa .....	50
Lampiran 2. Kurva Standar Bakteri .....	50
Lampiran 3. Kurva Standar BSA.....	51
Lampiran 4. Riwayat Hidup.....	52



*commit to user*