

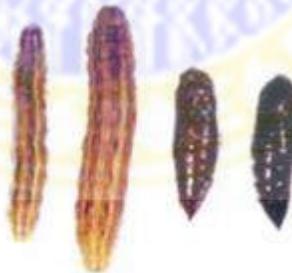
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)

Serangga *Spodoptera litura* merupakan hama yang sering menyerang tanaman diantaranya kapas, tembakau, padi, jagung, tomat, tebu, buncis, kubis, pisang, jeruk, kacang tanah, jarak, lombok, bawang, kentang, bayam, kangkung, dan beberapa jenis tumbuhan sehingga menyebabkan kerugian terhadap hasil kualitas produksi. Serangga ini berkembang secara metamorfosis sempurna. Perkembangan *S. litura* terdiri dari empat stadia yaitu telur, larva, pupa, dan imago (Anwar, 2000 dan Heroetadji, 1985 dalam Shofyan, 2010).

Morfologi larva dan pupa ulat grayak (*S. litura*) dapat dilihat pada gambar di bawah ini, sebagai berikut.



Gambar 1. Larva dan pupa ulat grayak (*S. litura*) (Anonim, 2009)

Menurut Kalshoven (1981) *S. litura* dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom : Animalia  
Filum : Arthropoda  
Kelas : Insecta  
Ordo : Lepidoptera  
Famili : Noctuidae  
Genus : *Spodoptera*  
Spesies : *Spodoptera litura*

## 2.2. Bakteri Selulolitik Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)

Pada umumnya perombakan bahan-bahan organik dalam saluran pencernaan dibantu oleh berbagai macam enzim pencernaan yang dihasilkan oleh mesenteron dan oleh mikroorganisme yang secara tetap bersimbiosis dalam saluran pencernaan (Elzinga, 1978). Bakteri ini menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis ikatan glukosida  $\beta$  (1,4), selulosa, dan dimer selobiosa (Soetanto, 2010). Karena kemampuannya tersebut bakteri selulolitik ini dapat diaplikasikan sebagai starter atau aktivator dalam biodegradasi substrat organik yang mengandung selulosa, starter pembuatan pupuk kandang, starter pembuatan pupuk kompos, dan fermentor dalam mendegradasi jerami sebagai pakan ternak. Selain itu bakteri selulolitik ini mulai banyak dimanfaatkan industri-industri sebagai agen dalam memfermentasi selulosa untuk memproduksi etanol (Dewi dkk., 2010).

Menurut Thayer (1987) bakteri selulolitik adalah kelompok jasad renik yang memiliki kemampuan mendegradasikan selulosa menjadi senyawa dengan berat molekul yang lebih kecil (selobiosa dan glukosa). Kelompok genera bakteri selulolitik antara lain: *Acromobacter*, *Agrobacterium*, *Angiococcus*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Cellafalcicula*, *Cellulomonas*, *Cellvibrio*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Cythopaga*, *Polyangum*, *Pseudomonas*, *Pseudobacterium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio* (Rao, 1986).

### 2.2.1. Bakteri *Bacillus sp.*

Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edisi kedua, Vol. 5. (Holt *et al.*, 2000), klasifikasi *Bacillus sp.* adalah sebagai berikut.

Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>Bacillus sp.</i>

Karakteristik bakteri *Bacillus sp.* sel berbentuk batang, 0,3-2,2 $\mu$ m x 1,27-7,0  $\mu$ m. Sebagian besar motil dengan flagellum khas pada bagian lateral. Endospora berbentuk oval, terkadang melingkar, atau silindris dan sangat tahan dalam beragam kondisi. Bakteri ini menghasilkan tidak lebih dari satu spora tiap selnya. Bakteri Gram negatif, aerob atau anaerob fakultatif, bersifat kemoorganotrof, metabolisme dilakukan melalui respirasi, fermentasi, atau keduanya (Holt *et al.*, 2000).

### 2.2.2. Bakteri *Cellulomonas sp.*

Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edisi kedua, Vol. 5. (Holt et al., 2000), klasifikasi *Cellulomonas sp.* adalah sebagai berikut.

Domain : Bacteria  
Filum : Firmicute  
Kelas : Actinobacteria  
Ordo : Actinomycetales  
Famili : Cellulomonadaceae  
Genus : *Cellulomonas*  
Species : *Cellulomonas sp.*

Bakteri *Cellulomonas sp.* secara mikroskopik sel bakteri ini berukuran 0,5-0,6 x 2,0-5,0  $\mu\text{m}$ . Pada kultur muda, berbentuk cocci atau bengkokan ramping. Kadang-kadang batang berpasangan di sudutnya sehingga membentuk V. Pada kultur tua, batang-batang biasanya pendek, dan sedikit yang berbentuk cocci. Bakteri ini merupakan Gram negatif. Biasanya motil, dengan satu atau sedikit flagella. Tidak berspora dan fakultatif anaerob. Spesies ini merupakan spesies kemoorganotropik, metabolismenya melalui respirasi dan juga fermentasi. Bakteri ini membentuk asam dari glukosa dan beragam karbohidrat lain, baik secara aerob maupun anaerob, katalase positif dan selulolitik. Suhu optimum bagi pertumbuhannya ialah 30°C dan pH netral (Holt et al., 2000).

### 2.2.3. Bakteri *Cytophaga sp.*

Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edisi kedua, Vol. 5. (Holt et al., 2000), klasifikasi *Cytophaga sp.* adalah sebagai berikut.

Domain : Bacteria  
Filum : Bacteroides  
Kelas : Sphingobacteria  
Ordo : Sphingobacteriales  
Famili : Flexibacteraceae  
Genus : *Cytophaga*  
Species : *Cytophaga sp.*

Karakteristik bakteri *Cytophaga sp.* berbentuk batang yang sangat pendek hingga sedang, yakni antara 0,3-0,8 x 1,5-15  $\mu\text{m}$ , hanya beberapa yang berukuran lebih panjang dengan ujung yang tajam atau runcing. Panjang batangnya bersifat fleksibel, motil dengan cara meluncur, dan merupakan bakteri Gram negatif. Pada media padat dengan kandungan nutrisi yang rendah, koloni berbentuk menjalar, terkadang berbentuk tajam dan menusuk agar, seringkali sangat lembut dan adakalanya menampilkan warna kemerahan atau kehijauan. Secara makroskopik, pada substrat dengan kandungan nutrisi tinggi, koloni biasanya bersifat kompak, cembung, dengan tepi rata atau bergelombang, terkadang pula berbentuk cekung, tenggelam atau terendam ke dalam agar. Biomassa sel biasanya berpigmen, kuning, orange, atau merah, karena mengandung karotenoid, flexirubin, atau keduanya. Jenis bakteri ini ada yang aerob atau anaerob fakultatif, dan bersifat kemoorganotrof. Metabolisme melalui respirasi atau fermentasi. Temperatur optimum berkisar antara 20-35°C. Sedangkan pH optimum pertumbuhannya adalah 7 (Holt *et al.*, 2000).

#### 2.2.4. Bakteri *Pseudomonas sp.*

Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edisi kedua, Vol. 5. (Holt et al., 2000), klasifikasi *Pseudomonas sp.* adalah sebagai berikut.

Domain : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Pseudomonadales  
Famili : Pseudomonadaceae  
Genus : *Pseudomonas*  
Species : *Pseudomonas sp.*

Karakteristik bakteri *Pseudomonas sp.* berbentuk batang sampai kokoid, berukuran 0,5 – 1,0 x 1,5 – 5 µm, Gram negatif, dapat bergerak (motil) oleh beberapa atau satu flagella yang terdapat pada kutub, bersifat anaerob yang mempunyai tipe metabolisme respirasi yang sempurna dengan oksigen sebagai aseptor elektron, dalam beberapa kasus nitrat juga berguna sebagai aseptor elektron, tidak dapat tumbuh pada pH di bawah 4,5, katalase positif, oksidase positif atau negatif, kemoorganotrofik (Holt et al., 2000).

#### 2.3. Bio-toilet

Bio-toilet adalah *bio activator* dengan mikrobra pengurai limbah organik untuk mengatasi masalah sanitasi seperti WC/*septic tank* yang penuh dan bau tanpa mengalami pengurasan dengan penyedotan yang mempunyai manfaat praktis,

ekonomis dan ramah lingkungan. Dalam formula biotoilet ini biasanya mengandung genera mikroba pengurai, antara lain (Setiarjo, 2008):

1. *Lactobacillus*, berperan dalam proses pemecahan glukosa, asam amino, dan asam lemak serta pembentuk asam organik.
2. *Saccharomyces*, berperan dalam proses fermentasi sehingga bahan organik lebih cepat membusuk, dan pembentuk asam organik.
3. *Acetobacter*, disamping berperan dalam pembusukan juga menghilangkan bau, mengendalikan bakteri pathogen karena bakteri ini dapat menghasilkan antibiotik, dan pembentuk asam organik.
4. *Bacillus*, menghasilkan antibiotik.

Bakteri-bakteri ini melakukan proses penguraian/degradasi terhadap tinja dan limbah organik lainnya menjadi air dan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) pada saat yang sama bakteri-bakteri ini juga menghasilkan antibiotik alami yang membunuh bakteri *Escherichia coli*. Dengan proses penguraian yang dilakukan oleh bakteri pengurai *septic tank* tidak akan pernah penuh oleh adanya deposit lumpur tinja dan kualitas air tanah/sumur menjadi lebih baik. Inilah cara alami yang sangat bermanfaat bagi manusia dan lingkungan. Contoh manfaat yang diperoleh dalam penggunaan biotoilet ini diantaranya dapat menguras WC tanpa sedot, tidak ada kerak dalam WC dan saluran, menghilangkan bau busuk pada kloset dan *septic tank*, membantu ketersediaan air tanah yang berkualitas baik dan mencegah pencemaran bakteri *E. coli* ke dalam air tanah/sumur (Bastori, 2006).

#### 2.4. Tinjauan Umum tentang Tinja (Feces) Manusia

Tinja adalah bahan buangan yang dikeluarkan dari tubuh manusia melalui anus sebagai sisa dari proses pencernaan makanan di sepanjang sistem saluran pencernaan (*tractus digestifus*) (Munif, 2009).

Perkiraan komposisi tinja manusia dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.1. Perkiraan komposisi tinja manusia tanpa air seni

Komponen	Kandungan (%)
Air	66-80
Bahan organik (dari berat kering)	88-97
Nitrogen (dari berat kering)	5,7-7,0
Fosfor (sebagai P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) (dari berat kering)	3,5-5,4
Potasium (sebagai K <sub>2</sub> O) (dari berat kering)	1,0-2,5
Karbon (dari berat kering)	40-55
Kalsium (sebagai CaO) (dari berat kering)	4-5
C/N rasio (dari berat kering)	5-10

(Sumber: Soeparman, 2002 *dalam* Munif, 2009)

Selain kandungan komponen-komponen di atas, pada setiap gram tinja juga mengandung berjuta-juta mikroorganisme. Tinja mengandung mikroorganisme patogen, terutama apabila manusia yang menghasilkannya menderita penyakit saluran pencernaan makanan (*enteric or intestinal diseases*). Mikroorganisme tersebut dapat berupa bakteri, virus, protozoa, ataupun cacing-cacing parasit. Bakteri coliform yang dikenal sebagai *E. coli* dan fecal streptococci (enterococci) yang sering terdapat di saluran pencernaan manusia, dikeluarkan dari tubuh manusia dan hewan-hewan berdarah panas lainnya dalam jumlah besar rata-rata sekitar 50 juta per gram (Munif, 2009).

## 2.5. Tinjauan Umum tentang Tinja (Feces) Sapi

Limbah ternak adalah sisa buangan dari suatu kegiatan usaha peternakan seperti usaha pemeliharaan ternak, rumah potong hewan, pengolahan produk ternak, dan lain-lain. Limbah tersebut meliputi limbah padat dan limbah cair seperti feses, urine, sisa makanan, embrio, kulit telur, lemak, darah, bulu, kuku, tulang, tanduk, isi rumen (Sihombing, 2000).

Jumlah dan komposisi tinja yang dikeluarkan sangat bergantung pada diet yang dikonsumsi oleh sapi tersebut. Komponen utama tinja sapi adalah dinding sel tumbuhan yang dimakannya. Berikut ini disajikan tabel jumlah dan komposisi tinja yang dikeluarkan pada beberapa hewan ternak, sebagai berikut.

Tabel 2.2. Perbandingan tinja dari berbagai hewan pemakan hijauan

Jenis hewan	Berat badan (kg)	Tinja yang dikeluarkan/hari	Kandungan air (%)	pH
Kuda	560-650	6-25 kg	73-78	6,7
Lembu/sapi	550	15-45 kg	75-86	6,8
Domba	45-55	0,9-3 kg	57-75	7,6
Kambing	40-45	0,5-1,2 kg	57-75	6,5

(Sumber: Bondi, 1987)

Berdasarkan hasil analisis diperoleh bahwa tinja sapi mengandung 22,59% selulosa, 18,32% hemi-selulosa, 10,20% lignin, 34,72% total karbon organik, 1,26% total nitrogen, 27,56:1 rasio C:N, 0,73% P, dan 0,68% K (Lingaih dan Rajasekaran, 1986).

Pada tabel di bawah ini, menjelaskan bahwa kotoran sapi segar mempunyai nilai persentasi nilai kadar hara C, N, rasio C/N, dan P yang lebih tinggi dari kotoran

yang berasal dari hewan kambing dan ayam, sebagai berikut (Hartatik dan Widowati, 2009).

Tabel 2.3. Kadar hara dari beberapa bahan segar kotoran hewan ternak

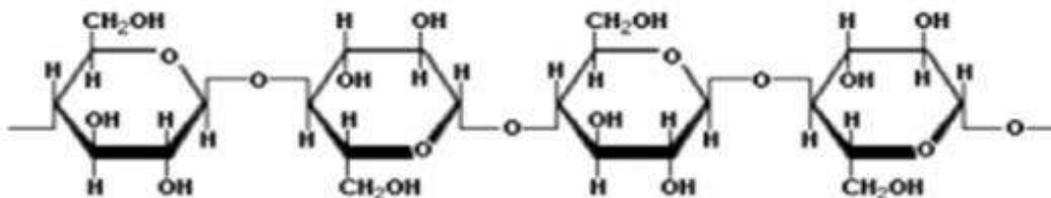
Jenis bahan asal	% Kadar hara (g 100 <sup>-1</sup> g)				
	C	N	C/N	P	K
Kotoran sapi	63,44	1,53	41,46	0,67	0,70
Kotoran kambing	46,51	1,41	32,98	0,54	0,715
Kotoran ayam	42,18	1,50	28,12	1,97	0,68

(Sumber: Tim Balittanah *dalam* Hartatik dan Widowati, 2009)

## 2.6. Tinjauan Umum tentang Selulosa

Selulosa merupakan senyawa karbonik yang terpenting dalam jaringan tumbuhan tinggi, dan juga sebagai senyawa organik yang paling melimpah di alam (Fessenden, 1982). Pada sel tanaman, selulosa bersama lignin membentuk lignoselulosa. Perbandingan ketiga komponen secara kasar adalah 4:3:3 (Thayer, 1978).

Selulosa adalah polisakarida dengan rumus struktur kimia (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub> yang disusun oleh 10.000-14.000 unit β-D-glukopiranosida dan dihubungkan dengan ikatan β (1,4) glikosidik (Schlegel dan Schmidt, 1994). Secara tepat unit-unit ulang dari rantai selulosa adalah unit selubiosa dengan panjang 1,03nm (Sugiarti, 1999). Struktur kimia rantai selulosa dapat dilihat pada gambar di bawah ini, sebagai berikut.



Gambar 2. Struktur kimia rantai selulosa (Isroi, 2000)

Selulosa dapat didekomposisi dengan mudah/cepat hanya oleh organisme-organisme tertentu yang spesifik diantaranya oleh bakteri, cendawan, actinomycetes, dan binatang-binatang tingkat rendah. Titik pusat pendegradasian selulosa terletak pada pecahnya ikatan 1,4- $\beta$ -glukosida. Pecahnya ikatan 1,4- $\beta$ -glukosida menyebabkan selulosa terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu oligosakarida (terutama selobiosa). Selanjutnya oligosakarida akan terhidrolisis menjadi monosakarida (terutama glukosa). Pemecahan ikatan 1,4- $\beta$ -glukosida dilakukan oleh kompleks enzim selulase (Bondi, 1987).

## **2.7. Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik**

Menurut Satriago (1996) biodegradasi adalah dekomposisi suatu substrat menjadi senyawa-senyawa dasar yang lebih sederhana oleh mikroorganisme.

Pada proses aerob dekomposisi limbah akan menghasilkan karbondioksida, air dan panas, sedangkan pada proses anaerobik produk akhirnya berupa karbondioksida, etanol, gas metan dan panas (Dewi dkk., 2010).

Menurut Alexander (1977) ada beberapa cara untuk mengetahui laju degradasi bahan organik, antara lain: (1) menghitung  $\text{CO}_2$  yang dibebaskan atau  $\text{O}_2$  yang digunakan, (2) menghitung penurunan bahan organik atau berat yang hilang, (3) mengamati penurunan kandungan senyawa tertentu antara lain lignin, selulosa atau hemiselulosa.

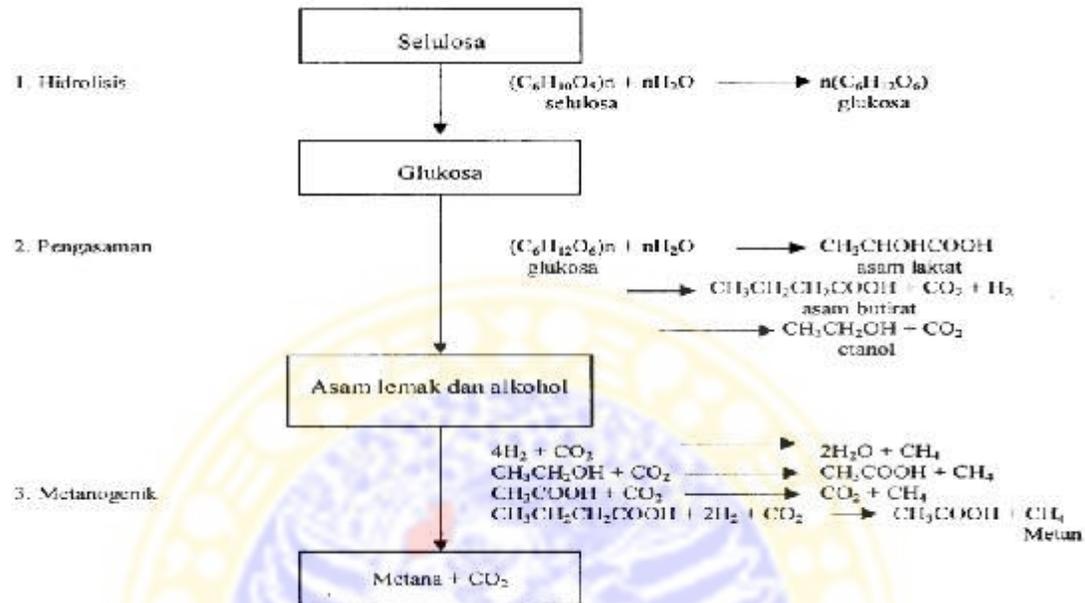
Proses degradasi dimaksudkan untuk menurunkan kadar C-organik dari bahan organik feces sapi. Perubahan kadar C-organik dalam proses biodegradasi merupakan parameter utama yang menunjukkan adanya proses dekomposisi struktur kimia bahan

organik. Goyal *et al.* (2005) melaporkan bahwa selama pendegradasian bahan organik terjadi perubahan total kandungan C-organik. Atkinson *et al.* (1996) menyatakan bahwa perubahan C-organik disebabkan oleh hilangnya karbon sebagai karbon dioksida. Mikroorganisme menggunakan senyawa karbon untuk menghasilkan energi dimana energi tersebut digunakan untuk sintesa mikromolekul seperti asam nukleat, lipida, dan polisakarida. Sintesa asam nukleat penting untuk pertumbuhan dan perkembangan sel (Lay dan Sastowo, 1992). Proses degrasi juga dimaksudkan untuk menurunkan nilai TSS (*Total Suspended Solid*) dimana TSS merupakan bahan-bahan tersuspensi (diameter > 1  $\mu\text{m}$ ) yang tertahan pada saringan *Millipore* dengan diameter pori 0,45  $\mu\text{m}$  (Rahim, 2010). Apabila material padatan tersuspensi tersebut berada dalam jumlah yang tinggi maka akan cepat terjadi proses penimbunan dalam *septic tank*. Zat padat tersuspensi dapat diklasifikasikan menjadi zat padat terapung yang selalu bersifat organik dan zat padat terendap yang dapat bersifat organik dan inorganik (Puspita, 2008).

Dalam alur proses degradasi pada feces secara anaerob (Gambar 3), terjadi 3 tahapan utama, yaitu (Budiyanto, 2002):

- 1) tahap hidrolisis dimana terjadi reduksi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh bakteri hidrolisis. Bakteri hidrolitik ini bekerja pada suhu 30-40°C untuk kelompok mesophilik dan antara 50-60 °C untuk kelompok thermophilik. Tahap pertama ini berlangsung dengan pH optimum antara 6-7.
- 2) tahap perubahan senyawa sederhana menjadi asam organik yang mudah menguap seperti asam asetat, asam butirat, asam propionat dan lain-lain.

- 3) tahap konversi asam organik menjadi metana, karbon dioksida dan gas-gas lain seperti hidrogen sulfida, hidrogen dan nitrogen.



Gambar 3. Tiga tahapan utama alur proses degradasi pada feces secara anaerob (Haryati, 2006)

Pengendalian faktor tumbuh bakteri selulolitik mempengaruhi laju degradasi bahan selulosa. Pengendalian faktor tumbuh dimaksudkan agar tercipta kondisi optimum bagi pertumbuhan dan metabolit yang diinginkan dari suatu mikroorganisme, yang pada akhirnya akan mempengaruhi keberhasilan proses degradasi. Faktor tumbuh yang perlu diperhatikan antara lain: tersedianya nutrient, suhu, pH, waktu fermentasi, aerasi dan agitasi (Judoamidjojo dkk., 1989).

Menurut Sutedjo (1991) peran penting mikroorganisme dalam degradasi selulosa adalah menguraikan unsur hara yang terikat dalam material organik yang sukar larut diubah menjadi senyawa organik yang terlarut. Bakteri menyerang selulosa dan mengubahnya menjadi  $CO_2$  dan bahan sel, kemudian energi dan  $CO_2$

yang terbentuk digunakan untuk pertumbuhannya. Untuk keperluan tersebut dihasilkan enzim ekstraseluler karena sel mikroorganisme impermeable terhadap molekul selulosa. Enzim ini mempercepat pengubahan substrat yang sukar larut menjadi senyawa terlarut yang dapat menembus membran sel (Alexander, 1977). Enzim kompleks ini terdiri dari tiga jenis enzim yang bekerja secara sinergistik, yaitu endo 1,4  $\beta$ -glukanase, ekso 1,4  $\beta$ -glukanase, dan  $\beta$ -glukosidase (Atlas, 1981 dalam Sudana 1996).

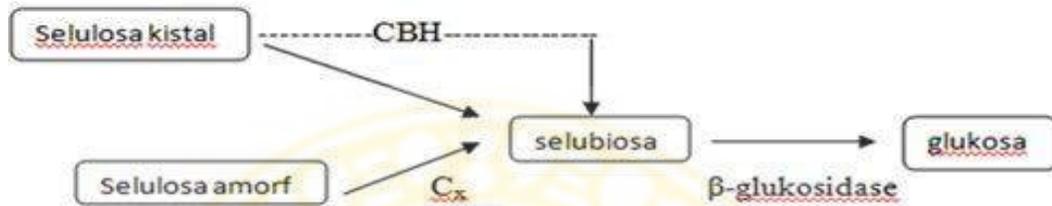
Dalam hidrolisis selulosa secara enzimatik ada beberapa hal penting sehubungan dengan struktur selulosa. Fan dan Lee (1983) mengemukakan bahwa selulosa tersusun atas dua bagian yaitu kristal dan amorf. Setiap bagian menunjukkan perbedaan dalam hal kemudahan degradasi oleh serangan enzim. Bagian amorf lebih mudah diserang oleh enzim daripada bagian kristal. Selain struktur kristal dan amorf luas permukaan partikel selulosa juga menentukan tingkat degradasi, karena terserapnya molekul enzim pada permukaan partikel selulosa merupakan tahap awal proses degradasi.

Sehubungan dengan hal ini Fan dan Lee (1983) mengemukakan bahwa mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik (Gambar 4) sebagai berikut.

- 1) Enzim endo- $\beta$ -1,4-glukanase ( $C_x$ ) yang memecah ikatan  $\beta$ -1,4-glukosida secara serentak terutama pada daerah amorf untuk menghasilkan selubiosa sebagai produk utama. Tetapi enzim ini tidak aktif pada daerah kristal selulosa.
- 2) Enzim ekso- $\beta$ -1,4-selobiohidrase (CBH) memisahkan suatu unit selobiosa dari ujung non pereduksi rantai selulosa. Komponen ini tidak terlalu aktif menyerang

baik daerah kristal maupun daerah amorf, tetapi setiap komponen ini berinteraksi dengan komponen  $C_x$ .

- 3) Enzim  $\beta$ -glukosidase menghidrolisis selubiosa dari rantai pendek selooligosakarida untuk menghasilkan glukosa.



Gambar 4. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis (Fan dan Lee, 1983)