



BIOPROSPEKSI *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD UNTUK VALORISASI BIOMASSA LIGNOSELULOSA FESES SAPI PERAH DAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGSIONAL

RIFQI HAFIDZ ASH SHIDDIQ



**ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Bioprospeksi *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD untuk Valorisasi Biomassa Lignoselulosa Feses Sapi Perah dan Produksi Metabolit Sekunder Fungsional” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. 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 di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Januari 2026

Rifqi Hafidz Ash Shiddiq
D1501241062

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

RIFQI HAFIDZ ASH SHIDDIQ. Bioprospeksi *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD untuk Valorisasi Biomassa Lignoselulosa Feses Sapi Perah dan Produksi Metabolit Sekunder Fungsional. Dibimbing oleh CAHYO BUDIMAN, EPI TAUFIK, dan WINDI AL ZAHRA.

Biomassa lignoselulosa dari feses sapi perah merupakan sumber organik yang berpotensi tinggi untuk valorisasi, mengingat kandungan selulosa dan hemiselulosanya yang melimpah. Namun, struktur lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang kompleks sering kali membatasi akses dan efektivitas enzim selulolitik dalam proses biodegradasi. Melalui pendekatan bioprospeksi, *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, strain selulolitik lokal yang diisolasi dari feses kuda, menjadi kandidat potensial karena kemampuannya menghasilkan enzim selulase serta peluang memproduksi metabolit sekunder fungsional. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi *B. amyloliquefaciens* SLBD dalam valorisasi biomassa lignoselulosa feses sapi melalui karakterisasi aktivitas selulolitik terhadap substrat feses, serta identifikasi metabolit sekunder yang dihasilkan. Biomassa feses terlebih dahulu dikoleksi dari sapi perah Fakultas Peternakan IPB sebagai substrat valorisasi. *Pre-treatment* biomassa dilakukan menggunakan dua pendekatan, yaitu delignifikasi dengan asam kuat (H_2SO_4) dan basa kuat (NaOH). Berdasarkan hasil analisis komposisi, perlakuan basa menunjukkan efektivitas paling tinggi dalam meningkatkan aksesibilitas selulosa, yang ditandai dengan penurunan lignin hingga 4,56% serta kestabilan fraksi selulosa yang lebih baik dibandingkan perlakuan asam. Produksi enzim selulase mencapai puncaknya pada jam ke-20, bersamaan dengan fase pertumbuhan eksponensial, sehingga menjadi titik optimum hidrolisis. Pada tahap hidrolisis substrat, perlakuan basa menghasilkan gula reduksi tertinggi sebesar 2,58 mg mL⁻¹ pada jam ke-72, sedangkan biomassa tanpa *pre-treatment* mengalami penurunan gula setelah puncak jam ke-48 akibat konsumsi ulang glukosa. Perlakuan asam menghasilkan gula lebih rendah, diduga karena pembentukan senyawa inhibitor selama delignifikasi. Visualisasi melalui *scanning electron microscope* (SEM) menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan basa dan hidrolisis *B. amyloliquefaciens* SLBD menghasilkan kerusakan serat paling intensif berupa retakan, pembentukan pori besar, dan fragmentasi dinding sel. Selanjutnya, *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS) mode ion positif dan negatif mengungkap keberadaan beragam metabolit sekunder, termasuk triterpenoid saponin tipe oleanane, crassifolioside, derivatif benzoxazole, turunan isoxazole, 4-hydroxydodecanoic acid, folic acid, dan senyawa aromatik lain dengan aktivitas bioaktif beragam, mulai dari antikanker, antiinflamasi dan antioksidan. Keberadaan metabolit tersebut menunjukkan bahwa *B. amyloliquefaciens* SLBD tidak hanya bekerja melalui sekresi selulase, tetapi juga menghasilkan molekul bioaktif yang dapat mendukung degradasi biomassa, memberikan aktivitas antimikroba, serta berpotensi diaplikasikan secara fungsional

Kata kunci: *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, bioprospeksi, feses, *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS), *scanning electron microscope* (SEM), valorisasi

SUMMARY

RIFQI HAFIDZ ASH SHIDDIQ. Bioprospecting of *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD for the Valorization of Lignocellulosic Biomass from Dairy Feces and the Production of Functional Secondary Metabolites. Supervised by CAHYO BUDIMAN, EPI TAUFIK, and WINDI AL ZAHRA.

Lignocellulosic biomass from dairy cattle feces represents a highly promising organic resource for valorization due to its abundant cellulose and hemicellulose content. However, the complex structure of lignin, cellulose, and hemicellulose often limits enzymatic accessibility and reduces the efficiency of biodegradation processes. Through a bioprospecting approach, *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, a local cellulolytic strain, isolated from horse feces emerges as a potential candidate owing to its ability to produce cellulase enzymes and its potential to synthesize functional secondary metabolites. This study aimed to evaluate the potential of *B. amyloliquefaciens* SLBD in valorizing lignocellulosic biomass from dairy feces by characterizing its cellulolytic activity on the substrate and identifying the secondary metabolites produced. Dairy feces were collected from dairy cattle at the Faculty of Animal Science, IPB University, and used as the biomass substrate. The lignocellulosic material underwent two pre-treatment approaches, namely delignification using strong acid (H_2SO_4) and strong base (NaOH). Based on compositional analysis, alkaline pre-treatment demonstrated the highest effectiveness in improving cellulose accessibility, as indicated by a reduction in lignin content of up to 4,56% and better preservation of the cellulose fraction compared to acid treatment. Cellulase production reached its peak at 20 hours, coinciding with the exponential growth phase, and was identified as the optimum point for hydrolysis. During substrate hydrolysis, alkaline-treated biomass produced the highest reducing sugar level, reaching $2,58 \text{ mg mL}^{-1}$ at 72 hours. In contrast, untreated biomass showed a decline in sugar concentration after 48 hours due to glucose reconsumption. Acid-treated biomass produced lower sugar levels, presumably due to the formation of inhibitory compounds during delignification. Scanning electron microscopy (SEM) revealed that the combination of alkaline pre-treatment and *B. amyloliquefaciens* SLBD hydrolysis resulted in the most extensive fiber disruption, characterized by surface cracking, enlarged pores, and cell-wall fragmentation. Furthermore, liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) in both positive and negative ion modes identified a diverse array of secondary metabolites, including oleanane-type triterpenoid saponins, crassifolioside, benzoxazole derivatives, isoxazole derivatives, 4-hydroxydodecanoic acid, folic acid, and various aromatic compounds exhibiting anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant activities. These findings demonstrate that *B. amyloliquefaciens* SLBD does not rely solely on cellulase secretion for biomass degradation but also produces bioactive secondary metabolites that may enhance biodegradation, provide antimicrobial properties, and offer potential functional applications.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD, bioprospecting, feces, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), scanning electron microscope (SEM), valorisation

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



BIOPROSPEKSI *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD UNTUK VALORISASI BIOMASSA LIGNOSELULOSA FESES SAPI PERAH DAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER FUNGSIONAL

RIFQI HAFIDZ ASH SHIDDIQ

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan

**ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. Ir. Arief Sabdo Yuwono, M.Sc.



Judul Tesis : Bioprospeksi *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD untuk Valorisasi Biomassa Lignoselulosa Feses Sapi Perah dan Produksi Metabolit Sekunder Fungsional
Nama : Rifqi Hafidz Ash Shiddiq
NIM : D1501241062

@Hak cipta milik IPB University

Pembimbing 1:

Dr. Cahyo Budiman, S.Pt., M.Eng.

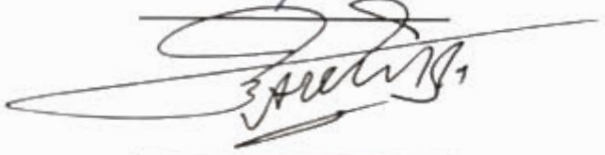
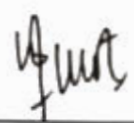
Pembimbing 2:

Prof. Dr. Epi Taufik, S.Pt., MVPH., M.Si.

Pembimbing 3:

Dr. Windi Al Zahra, S.Pt., M.Si.

Disetujui oleh

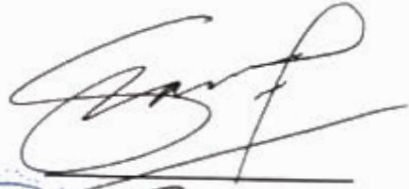
Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Sc.
NIP 195912121986031004

Dekan Fakultas Peternakan:

Prof. Dr. Ir. Idat Galih Permana, M.Sc.Agr.
NIP 196705061991031001





Tanggal Ujian: 17 Desember 2025

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Maret sampai Agustus 2025 ini ialah *Environmental Biotechnology*, dengan judul “Bioprospeksi *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD untuk Valorisasi Biomassa Lignoselulosa Feses Sapi Perah dan Produksi Metabolit Sekunder Fungsional”.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak Dr. Cahyo Budiman, S.Pt., M.Eng., Prof. Dr. Epi Taufik, S.Pt., MVPH., M.Si., serta Ibu Dr. Windi Al Zahra, S.Pt., M.Si., yang telah memberikan bimbingan, masukan, serta dukungan selama proses pelaksanaan kegiatan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada KEMENDIKBUDRISTEK atas dukungan pendanaan melalui hibah penelitian skema PTM dengan nomor kontrak 006/C3/DT.05.00/PL/2025, serta kepada Bapak Dr. Cahyo Budiman, S.Pt., M.Eng. sebagai ketua penelitian skema PTM Tahun 2025. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada tim penelitian *Bacillus amyloliquefaciens* SLBD dan tim penelitian protein di Natural Product dan Drug Discovery Laboratory, Biotechnology Research Institute, Universiti Malaysia Sabah, beserta staf laboratorium yang sangat membantu selama pengumpulan data. Terima kasih juga saya ucapkan kepada rekan-rekan program ITP dan Sinergi D'Amertapis 57 yang bersama-sama berjuang menempuh program ini. Selanjutnya ucapan terima kasih saya haturkan kepada teman seperjuangan A330 yang kebersamaan suka dan duka kehidupan masa-masa perkuliahan ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Almarhum Abi Uning Ash Shiddiq, Umi Ai Sopiyyah, kakak, abang, dan adik selaku keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya yang tidak terbalaskan, serta kesempatan yang diberikan untuk melanjutkan pendidikan di IPB University. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dari semua pihak yang memberikan dukungan dalam penulisan tesis ini. Penulis menyampaikan permohonan maaf atas segala kekurangan dalam penulisan tesis ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Januari 2026

Rifqi Hafidz Ash Shiddiq

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
II METODE	5
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2.2 Alat dan Bahan	5
2.3 Prosedur Kerja	5
2.3.1 Koleksi Feses Sapi Perah	5
2.3.2 <i>Pre-treatment</i> Feses Sapi Perah	5
2.3.3 Analisis Kimia Feses Sapi Perah (Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa)	6
2.3.4 Karakterisasi Pertumbuhan dan Aktivitas Selulolitik <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD	6
2.3.5 Fermentasi untuk Hidrolisis Feses Sapi Perah oleh <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD	7
2.3.6 Perubahan Morfologi Selama Fermentasi Menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	7
2.3.7 Analisis Profil Metabolit Sekunder <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD Menggunakan <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	7
2.4 Analisis Data	8
III HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Analisis Kimia Feses Sapi Perah (Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa)	10
3.1.1 Komposisi Lignoselulosik Feses Sapi Perah	10
3.1.2 Efek <i>Pre-treatment</i> Terhadap Komposisi Kimia Feses Sapi Perah	11
3.2 Karakterisasi Pertumbuhan dan Aktivitas Selulolitik <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD	13
3.3 Fermentasi Feses Sapi Perah oleh <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD	15
3.3.1 Perubahan Kadar Glukosa Selama Fermentasi	15
3.3.2 Perubahan Morfologi Selama Fermentasi Menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	17



3.4 Analisis Profil Metabolit Sekunder <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SLBD	19
IV SIMPULAN DAN SARAN	24
4.1 Simpulan	24
4.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	35

DAFTAR TABEL

1	Jumlah senyawa (<i>peak</i>) pada sampel hasil kromatogram	20
2	Identitas molekul dari beberapa <i>peak</i> utama LC-MS	21

DAFTAR GAMBAR

1	Komposisi lignoselulosik feses sapi perah. Huruf yang berbeda di atas grafik batang menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik pada taraf $P < 0,05$.	10
2	Perubahan relatif komposisi lignoselulosik feses sapi perah setelah pre-treatment menggunakan asam atau basa. Kandungan masing-masing komponen (lignin, selulosa, dan hemiselulosa) sebelum pre-treatment dianggap sebagai 100%, dan perubahan setelah perlakuan dihitung secara relatif terhadap nilai awal pada feses tanpa perlakuan.	11
3	Kurva pertumbuhan (OD600) dan <i>cellulolytic index</i> (CI) dari <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD selama proses fermentasi. Nilai OD menunjukkan pertumbuhan sel pada berbagai waktu inkubasi, sedangkan nilai CI merefleksikan aktivitas selulase berdasarkan indeks zona bening pada media CMC agar.	14
4	Hasil total glukosa pada substrat feses sapi perah oleh <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD. Huruf yang berbeda pada batang grafik menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,10$) dalam kelompok perlakuan yang sama.	16
5	Mikrograf feses di bawah SEM sebelum dan sesudah fermentasi: (a)(b) <i>non-treatment</i> , (c)(d) <i>pre-treatment</i> asam, (e)(f) <i>pre-treatment</i> basa	18
6	Spektrum LC-MS ekstraseluler <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD pada dua mode ionisasi (negatif (ESI ⁻) dan positif (ESI ⁺)) menunjukkan variasi puncak berdasarkan waktu retensi dan intensitas sinyal	20

DAFTAR LAMPIRAN

1	Dokumentasi a) Feses sapi perah; b) Feses sapi perah yang sudah disterilisasi; c) <i>Pre-treatment</i> asam; d) <i>Pre-treatment</i> basa; e) Pengeringan sampel setelah proses <i>pre-treatment</i> ; f) <i>Main culture</i> <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD	32
2	Dokumentasi a) Pemisahan substrat dan larutan; b) Analisis morfologi <i>scanning electron microscopy</i> (SEM); c) Analisis <i>liquid chromatography-mass spectrometry</i> (LC-MS); d) Proses hidrolisis feses sapi perah oleh <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD	33
3	Dokumentasi a) Pemisahan substrat dan larutan; b) Analisis morfologi <i>scanning electron microscopy</i> (SEM); c) Analisis <i>liquid chromatography-mass spectrometry</i> (LC-MS); d) Proses hidrolisis feses sapi perah oleh <i>B. amyloliquefaciens</i> SLBD	34