

**APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK
UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI
DARI LIMBAH BROMELIN NANAS**

(Skripsi)

Oleh

**SUCI DERA JENITA
NPM 2117011036**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI DARI LIMBAH BROMELIN NANAS

Oleh

SUCI DERA JENITA

Limbah bromelin nanas adalah biomassa lignoselulosa yang kaya akan selulosa, hemiselulosa, dan lignin serta berpotensi untuk dikonversi menjadi gula pereduksi. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan enzim selulase dari *Actinomyces* halofilik untuk hidrolisis enzimatik limbah tersebut. Berdasarkan analisis komposisi kimia dengan metode TAPPI, ditemukan bahwa limbah ini mengandung 50,21% karbohidrat total dan 39,16% lignin.

Dalam penelitian ini, sebanyak 13 isolat *Actinomyces* berhasil diisolasi dari tanah mangrove. Dari isolat-isolat tersebut, isolat ActCK-8 dipilih karena memiliki aktivitas selulolitik tertinggi dengan indeks aktivitas sebesar 0,64 mm dan aktivitas enzim selulase mencapai 4,61 U/mL. Untuk meningkatkan pemisahan selulosa dari biomassa, dilakukan *pretreatment* yang kemudian dianalisis menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) untuk menentukan indeks kristalinitas. Hasil analisis XRD menunjukkan peningkatan indeks kristalinitas selulosa dari 3,11% menjadi 5,64%.

Hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase dari isolat ActCK-8 menghasilkan konsentrasi gula pereduksi optimum sebesar 13,00 g/L pada waktu inkubasi hari ke-2. Penelitian ini menunjukkan bahwa *Actinomyces* halofilik memiliki potensi besar sebagai sumber enzim yang efisien dan ramah lingkungan untuk mengkonversi limbah lignoselulosa menjadi gula sederhana dan membuka peluang baru dalam pemanfaatan biomassa limbah.

Kata kunci: *Actinomyces* halofilik, enzim selulase, gula pereduksi, hidrolisis enzimatik, limbah bromelin nanas.

ABSTRACT

HYDROLYTIC ENZYME APPLICATION FROM HALOPHILIC ACTINOMYCETES FOR CELLULOSE SEPARATION AND REDUCING SUGAR PRODUCTION FROM PINEAPPLE BROMELAIN WASTE

By

SUCI DERA JENITA

Pineapple bromelain waste is a lignocellulosic biomass rich in cellulose, hemicellulose, and lignin, and has the potential to be converted into reducing sugars. This study aims to utilize cellulase enzymes from halophilic Actinomycetes for the enzymatic hydrolysis of this waste. Based on chemical composition analysis using the TAPPI method, it was found that this waste contains 50.21% total carbohydrates and 39.16% lignin.

In this study, 13 Actinomycetes isolates were successfully isolated from mangrove soil. Among these isolates, ActCK-8 was selected due to its highest cellulolytic activity with an activity index of 0.64 mm and cellulase enzyme activity reaching 4.61 U/mL. To enhance cellulose separation from biomass, pretreatment was performed, followed by analysis using X-Ray Diffraction (XRD) to determine the crystallinity index. The XRD analysis results showed an increase in the crystallinity index of cellulose from 3.11% to 5.64%.

Enzymatic hydrolysis using cellulase enzymes from ActCK-8 isolates produced an optimum reducing sugar concentration of 13.00 g/L on the second day of incubation. This study demonstrates that halophilic Actinomycetes have great potential as an efficient and environmentally friendly source of enzymes for converting lignocellulosic waste into simple sugars, opening new opportunities for the utilization of waste biomass.

Keywords: halophilic Actinomycetes, cellulase enzymes, reducing sugars, enzymatic hydrolysis, pineapple bromelain waste.

**APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK
UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI
DARI LIMBAH BROMELIN NANAS**

Oleh

SUCI DERA JENITA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mengejar Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul : APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI
Actinomyces HALOFILIK UNTUK
SEPARASI SELULOSA DAN
PRODUKSI GULA PEREDUKSI DARI
LIMBAH BROMELIN NANAS

Nama : Suci Dera Jenita

Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011036

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing II



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Prof. Dr. Kamisah D. Pandiangan, M.Si.
NIP. 197212051997032001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Prof. Dr. Mita Rilyanti, is written over the text of the third official.

Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

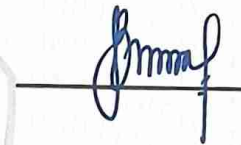
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Dr. Kamisah D. Pandiangan, M.Si.



Anggota : Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Suci Dera Jenita
NPM : 2117011036
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "**Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces Halofilik* Untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi Dari Limbah Bromelin Nanas**", merupakan hasil penelitian dan pemikiran yang telah dikerjakan oleh saya sendiri dan tidak terdapat karya atau pendapat orang lain dalam hasil penelitian saya, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Saya tidak keberatan data pada skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia dikenai sanksi hukum yang berlaku

Bandar Lampung, 27 Agustus 2025

Pembuat Pernyataan

Suci Dera Jenita

NPM. 2117011036



RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Suci Dera Jenita. Anak Pertama dari dua bersaudara dari Bapak Triyadi, Sos dan Ibu Saimuri. Penulis lahir pada tanggal 5 November 2003 di Kota Bandar Lampung. Pendidikan awal penulis dimulai pada tahun 2008 di TK Dwi Tunggal. Penulis melanjutkan pendidikan di SD Negeri 6 Penengahan dan lulus pada tahun 2015.

Selanjutnya, penulis menempuh pendidikan di MTsN 1

Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2018. Pendidikan menengah atas ditempuh di SMA Muhammadiyah 2 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2021. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan sebagai mahasiswa kimia di Universitas Lampung, penulis telah mengikuti kegiatan organisasi Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Universitas Lampung tahun 2021-2022. Selanjutnya, pada periode kepengurusan 2022-2023, penulis menjadi anggota aktif Biro Usaha Mandiri (BUM) Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung. Tahun 2024, penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur dan di tahun yang sama, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT. *Great Giant Pineapple* Departement *Liquid Organic Biofertilizer* (LOB).

Pada periode perkuliahan akhir, penulis berkesempatan untuk menjadi Asisten Praktikum Biokimia untuk Jurusan Biologi angkatan 2024. Penulis telah menyelesaikan riset penelitian dengan judul “ Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces* Halofilik Untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi dari Limbah Bromelin Nanas” pada tahun 2025 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Universitas Lampung.

MOTTO

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah 2:286)

“ Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah:5)

“ Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkan ku tidak akan pernah menjadi takdir ku, dan apa yang ditakdirkan untuk ku tidak akan pernah melewatkan ku”

(Umar bin Khattab)

“Hidup itu bukan tentang bersaing, melainkan tentang mewujudkan mimpi masing-masing”

(Penulis)



Dengan mengucap alhamdulillahirobbil' alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang senantiasa diharapkan syafaatnya hingga hari akhir. Rasa syukur yang luar biasa kupersembahkan karya sederhana ini sebagai wujud cinta, bakti, serta tanggung jawabku teruntuk;

Ayah dan Bunda tercinta, Triyadi dan Saimuri, yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, memberikan kasih sayang dan dukungan selama ini, kebahagiaan kalian adalah tujuan utamaku. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan cinta yang selalu kalian berikan.

Adikku tersayang, Rafi Abelard Bagya yang telah dan terus menjadi semangat dan motivasiku untuk terus berjuang. Semoga adik selalu dalam perlindungan Allah SWT.

Dosen pembimbingku, Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. dan Prof. Dr. Kamisah Delilawati Pandiangan, M.Si., serta seluruh dosen dan staf Jurusan Kimia yang selalu sabar membimbing, mendidik, dan memberikan banyak ilmu serta pengalaman kepadaku selama menempuh pendidikan di kampus.

Rekan-rekanku dan keluarga besar Kimia FMIPA Unila 2021 yang selalu memberi warna pada hari-hariku selama menjalani perkuliahan.

dan almamater yang kubanggakan, Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces* Halofilik Untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi dari Limbah Bromelin Nanas.” Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Pelaksanaan dan penyelesaian skripsi penulis tidak luput dari bantuan banyak pihak baik berupa bimbingan, arahan, saran, informasi, serta dukungan moril maupun materiil. Pada kesempatan ini teriring do'a yang tulus, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT atas kenikmatan dan karunia yang telah diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua penulis, Ayah dan Bunda yang sangat berjasa karena selalu menjadi penyemangat penulis dan menjadi sandaran terkuat dari kerasnya dunia. Yang tiada hentinya memberikan yang terbaik bagi penulis dan selalu memberikan motivasi yang luar biasa. Ucapan terima kasih tidak akan cukup untuk mewakili rasa syukur penulis karena penulis lahir dan tumbuh di lingkungan yang penuh cinta dan kasih sayang. Terima kasih untuk doa-doa yang selalu diberikan untuk penulis, terima kasih telah menjadi orang tua yang supportif dan selalu berjuang untuk penulis, berkat doa dan dukungannya sehingga penulis bisa berada di titik ini. Sehat dan panjang umur selalu karena Ayah dan Bunda harus selalu ada di setiap perjuangan dan pencapaian hidup

penulis. Tanpa kehadiran kalian, pencapaian ini akan sulit terwujud karena kalian adalah sumber inspirasi dan kekuatan yang tak tergantikan bagi penulis.

3. Adik tersayang penulis, Rafi Abelard Bagya. Terima kasih telah memberikan semangat, dukungan, doa dan cinta yang selalu diberikan kepada penulis serta selalu membuat penulis termotivasi untuk bisa terus belajar menjadi sosok kakak yang dapat memberikan pengaruh positif, baik dalam bidang akademik maupun non-akademik serta berusaha menjadi panutannya di masa yang akan datang kelak.
4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan FMIPA sekaligus pembimbing utama atas segala kebaikan, ilmu, kesabaran, motivasi, dan bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Sebagai sosok yang mengemban amanah cukup besar dan memiliki waktu interaksi yang terbatas, terima kasih kepada Bapak karena selalu berusaha meluangkan waktu dan senantiasa memberikan dukungan kepada penulis sehingga penulis tidak pernah kehilangan semangat hingga berada di kondisi saat ini. Semoga Allah selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Bapak berikan.
5. Ibu Prof. Dr. Kamisah Delilawati Pandiangan, M.Si. selaku pembimbing kedua penulis yang selalu membantu dalam menemukan jalan keluar di kala penulis berada di kondisi *stuck* selama penelitian. Terima kasih atas saran dan kritik yang selalu Ibu berikan beserta senyum yang menenangkan penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah memberikan rida- Nya dan membalas semua kebaikan Ibu.
6. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia sekaligus pembahas atas kritik, saran, dan ilmu yang bermanfaat. Terima kasih atas segala kesediaannya untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah berikan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Ibu diberikan.

7. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik. Terima kasih atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis selama perkuliahan.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia atas ilmu pengetahuan dan pengalaman yang sangat bermanfaat dan sangat berharga kepada penulis selama menjadi mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Segenap Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, terkhusus Mba Yuni yang sudah sangat baik memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis.
10. Keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan do'a dan dukungan kepada penulis dan kucing-kucing penulis, Bobby, Ume, Temma, Morti dan Icel anabul penulis yang selalu memeluk penulis di kala sedih dan sepi.
11. Sahabat penulis, Nella Simanjuntak, Hasmawati dan Kurniawan Sugiarto. Terima kasih karena kalian hadir bukan hanya sebagai teman, tapi sudah menjadi keluarga yang selalu mendukung, menguatkan, dan membuat hari-hari ini lebih berwarna. Terima kasih telah menjadi tempat bersandar saat lelah, menangis, dan tertawa di masa-masa perkuliahan ini. Doa terbaikku selalu untuk kalian.
12. Teman seperjuangan penelitian nanas *fighter* sekaligus partner berburu kuliner, Anggun Marchella dan tim penelitian *Actinomyces*, Novi Purnama Sari dan Tiara Putri Berliani. Terima kasih atas segala hal yang telah diberikan berupa kerjasama, waktu, dukungan, dan kesediaan untuk berjuang melewati semuanya bersama-sama. Perbincangan seru yang tidak terlupakan, serta tawa dan tangis yang melegakan. Semoga dilancarkan setiap urusan dan sukses selalu.
13. Kakak-kakak *Heri Research '20*, Kak Rahmad, Kak Widya, Kak Muti dan Kak Geo atas segala bantuan, saran, motivasi, dan dukungan selama penulis menjalani penelitian. Semoga kakak-kakak senantiasa dilindungi Allah dan sukses selalu.

14. Teman-teman *Chemistry* '21 atas segala kehangatan, keceriaan, kebersamaan, semangat, dan pancaran bahagia yang diberikan kepada penulis selama perkuliahan. Semoga kita bisa sukses bersama.
15. Almamater tercinta, Universitas Lampung.
16. Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu, semoga Allah SWT membalas segala amal kebaikan kalian.
17. *Last but not least*, penulis sampaikan terima kasih kepada Suci Dera Jenita selaku penulis dalam skripsi ini. Apresiasi sebesar-besarnya karena tidak menyerah ketika jalan didepan terasa gelap, ketika keraguan datang silih berganti dan ketika langkah terasa berat untuk dilakukan. Terima kasih karena telah memilih untuk melanjutkan dan bertahan. Terima kasih karena tetap jujur pada rasa takut, namun tidak membiarkan rasa takut itu membatasi langkah, karena keberanian bukanlah ketiadaan rasa takut, melainkan keinginan untuk tetap bergerak meski takut masih melekat erat, terima kasih karena telah berani memilih, memilih untuk mencoba, mencoba untuk belajar dan memilih untuk menyelesaikan apa yang telah kamu mulai.

Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna, besar harapan semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua serta dapat memberikan saran yang membangun bagi penulis untuk lebih baik kedepannya. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar lampung, 27 Agustus 2025

Penulis

Suci Dera Jenita

NPM. 2117011036

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
I. PENDAHULUAN.....	2
1.1. Latar Belakang	2
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Limbah Nanas	4
2.2. Lignoselulosa	5
2.2.1. Hemiselulosa.....	6
2.2.2. Selulosa.....	6
2.2.3. Lignin	7
2.3. Metode TAPPI	8
2.4. Hidrolisis	8
2.5. <i>Actinomyces</i>	10
2.6. Halofilik	11
2.7. Enzim Selulase	11
2.8. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase	12
2.9. Gula Pereduksi	12
2.10. <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD).....	13
2.11. Spektrofotometer UV-Vis.....	14
III. METODE PENELITIAN.....	15
3.1. Waktu dan Tempat	15
3.2. Alat dan Bahan	15
3.3. Metode Penelitian.....	16
3.3.1. Preparasi Sampel	16
3.3.2. Analisis Komponen Limbah Bromelin Nanas dengan Metode TAPPI.....	16

3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah Bromelin	18
3.3.4. Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i>	18
3.3.5. Produksi Glukosa dan Enzim Selulase.....	19
3.3.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	19
3.3.7. Uji Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase.....	20
3.4. Diagram Alir	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1. Preparasi Sampel	21
4.2. <i>Pretreatment</i> Limbah Bromelin Nanas	23
4.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Pada Bromelin Nanas.....	24
4.4. Komposisi Limbah Nanas Menggunakan Metode TAPPI.....	25
4.4.1. Kadar lignin	26
4.4.2. Kadar karbohidrat total	27
4.5. Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i> dari Mangrove	29
4.6. Produksi Glukosa dan Uji Aktivitas Enzim Selulase	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1. Kesimpulan	38
5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kadar lignin dalam limbah bromelin nanas	27
2. Kadar karbohidrat total dalam limbah bromelin nanas	28
3. Zona bening hasil penapisan isolat <i>Actinomyces</i>	30
4. Indeks aktivitas selulolitik dari isolat <i>Actinomyces</i>	33
5. Data standar glukosa	46
6. Indeks aktivitas selulolitik isolat <i>Actinomyces</i>	47
7. Data aktivitas unit enzim selulase dari isolat <i>Actinomyces</i>	51
8. Data puncak kristalin pada selulosa sebelum <i>pretreatment</i>	52
9. Data daerah amorf dan kristalin pada selulosa sebelum <i>pretreatment</i>	53
10. Data puncak kristalin pada selulosa setelah <i>pretreatment</i>	53
11. Data daerah amorf dan kristalin pada selulosa setelah <i>pretreatment</i>	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi tanaman nanas.....	4
2. Struktur lignoselulosa dan biopolimer utamanya.....	5
3. Struktur hemiselulosa.....	6
4. Struktur selulosa.....	7
5. Prekursor unit dasar dalam lignin.	8
6. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik.....	10
7. Diagram alir	21
8. Limbah bromelin nanas (a) sebelum dan (b) sesudah dihaluskan.....	21
9. Limbah bromelin nanas (a) sebelum dan (b) sesudah <i>pretreatment</i>	23
10. Pola difraktogram kristalinitas selulosa limbah bromelin nanas (a) sebelum dan (b) sesudah <i>pretreatment</i>	26
11. Persentase penentuan biopolimer limbah bromelin nanas	29
12. Zona bening hasil penapisan isolat <i>Actinomyces</i> tertinggi (a) ActCK-3, (b)ActCK-8, (c)ActCK-12, dan (d)ActCK-21.	32
13. Kadar glukosa pada bromelin nanas	34
14. Aktivitas enzim selulase isolat <i>Actinomyces</i> ActCK-8	36
15. Kurva standar glukosa.....	46
16. Hasil XRD bromelin nanas sebelum <i>pretreatment</i>	52
17. Hasil XRD bromelin nanas setelah <i>pretreatment</i>	53

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus*) adalah salah satu buah tropis yang banyak dibudidayakan di berbagai wilayah Indonesia karena cocok dengan kondisi iklim dan tanahnya. Dibalik potensi ekonominya, pengolahan nanas dalam skala besar juga menghasilkan limbah organik dalam jumlah yang cukup signifikan, seperti bonggol nanas. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) (2024), jumlah produksi nanas di Indonesia mencapai 3,16 juta ton/tahun. Pada tahun 2024, Provinsi Lampung sendiri berhasil menghasilkan nanas sekitar 722,847 ton. Selain itu, buah nanas juga menghasilkan limbah lain berupa bonggol. Bonggol nanas sering kali diabaikan atau tidak dimanfaatkan dengan optimal sehingga dapat menyebabkan limbah. Banyaknya limbah nanas yang dihasilkan tidak sebanding dengan nanas yang dihasilkan. Hal ini dapat menimbulkan masalah, seperti pencemaran lingkungan.

Perseroan Terbatas (PT) *Bromelain Enzyme* adalah salah perusahaan produsen nanas di Lampung yang memanfaatkan limbah nanas sebagai sumber untuk mengisolasi enzim bromelin. Limbah nanas tersebut berupa bonggol dan kulit nanas. Bonggol nanas memiliki kandungan lignoselulosa yang signifikan. Struktur lignoselulosa ini tersusun atas tiga makromolekul polimer utama yaitu hemiselulosa, selulosa, dan lignin yang membentuk matriks kompleks. Adanya lignin dan hemiselulosa disekeliling selulosa menjadi penghambat utama pemrosesan dalam menghidrolisis selulosa (Kunusa, 2017). Selulosa merupakan polisakarida utama penyusun dinding sel tumbuhan dan merupakan komponen terbanyak dalam biomassa lignoselulosa. Namun, karena strukturnya yang

kristalin dan tidak larut dalam air, selulosa sulit terurai secara alami sehingga diperlukan metode khusus seperti hidrolisis enzimatis. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan menambahkan asam atau melalui proses enzimatis. Konsentrasi asam yang tinggi dan waktu yang lama membuat selulosa dan hemiselulosa lebih mudah terdegradasi menjadi glukosa dan senyawa gula lainnya. Hal ini meningkatkan kontak antara selulosa dan asam, sehingga reaksi hidrolisis berlangsung lebih efektif (Sun and Cheng, 2002). Hidrolisis selulosa secara enzimatis dapat dilakukan dengan bantuan enzim selulase yang mampu memecah ikatan β -1,4-glikosidik dan menghasilkan glukosa (Zhang and Lynd, 2004). Salah satu agen biologis yang berpotensi tinggi dalam memproduksi enzim selulase secara alami adalah kelompok bakteri *Actinomyces* (Saini *et al.*, 2015).

Actinomyces merupakan kelompok mikroorganisme yang berpotensi besar dalam degradasi biomassa lignoselulosa. Mikroba ini mampu menghasilkan enzim selulase, seperti endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase yang berfungsi memutus ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa untuk menghasilkan glukosa yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri. Selain itu, enzim yang dihasilkan oleh *Actinomyces* juga dapat mendegradasi hemiselulosa dan lignin sehingga membantu memecah struktur kompleks biomassa dan meningkatkan efisiensi proses degradasi (Chukwuma *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan, penelitian ini bertujuan untuk memproduksi gula pereduksi yang berasal dari limbah bromelin nanas melalui bantuan isolat *Actinomyces* terpilih untuk menghasilkan enzim selulase sebagai pendegradasi selulosa menjadi gula sederhana khususnya glukosa, sebagai alternatif pemanfaatan limbah bromelin nanas yang dimanfaatkan secara optimal. Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah sekaligus aplikatif dalam mengembangkan teknologi yang lebih bermanfaat dan ramah lingkungan.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengidentifikasi biopolimer penyusun bromelin nanas menggunakan metode *Technical Association of The Pulp and Paper Industry* (TAPPI).
2. Mendapatkan isolat *Actinomyces* yang dipilih dengan aktivitas selulolitik yang tinggi.
3. Mendapatkan indeks kristalinitas selulosa dari bromelin nanas sebelum dan sesudah *pretreatment*.
4. Melakukan proses hidrolisis enzimatis terhadap biomassa bromelin nanas menggunakan enzim selulase dari *Actinomyces* terpilih.
5. Menghasilkan gula pereduksi dari biomassa bromelin nanas melalui hidrolisis enzimatis oleh isolat *Actinomyces* terpilih.

1.3. Manfaat Penelitian

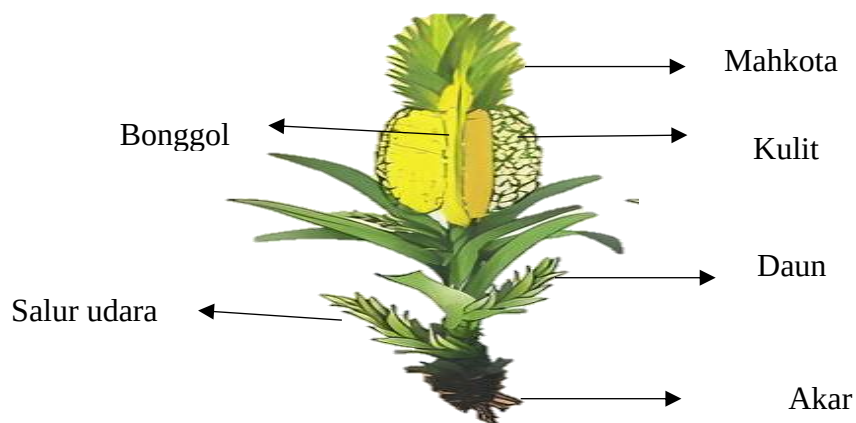
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Menambah pengetahuan terkait kandungan penyusun lignoselulosa yang terdapat dalam limbah bromelin nanas.
2. Memberikan informasi isolat *Actinomyces* yang potensial untuk aktivitas selulolitik tertinggi.
3. Memberikan informasi indeks kristalinitas selulosa dari bromelin nanas sebelum dan sesudah *pretreatment*.
4. Memberikan informasi mengenai kadar glukosa dari isolat *Actinomyces* terpilih.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Limbah Nanas

Berdasarkan data BPS tahun 2024, produksi nanas mencapai 3,16 juta ton per tahun, dengan kontribusi signifikan dari Provinsi Lampung sebesar 722,847 ton. Pemanfaatan nanas umumnya terpusat pada bagian buah, menyisakan volume limbah biomassa yang substansial, terutama berupa kulit dan bonggol. Limbah kulit nanas diperkirakan mencapai 25% dari berat buah segar. Sementara itu, bonggol nanas menyumbang proporsi limbah yang lebih besar, yaitu sekitar 40% dari berat buah segar. Padahal, bonggol nanas merupakan biomassa lignoselulosa yang memiliki komposisi menarik, (Pardo *et al.*, 2014) melaporkan bahwa limbah bromelin nanas mengandung 24,5% selulosa, 28,5% hemiselulosa, dan 5,78% lignin.



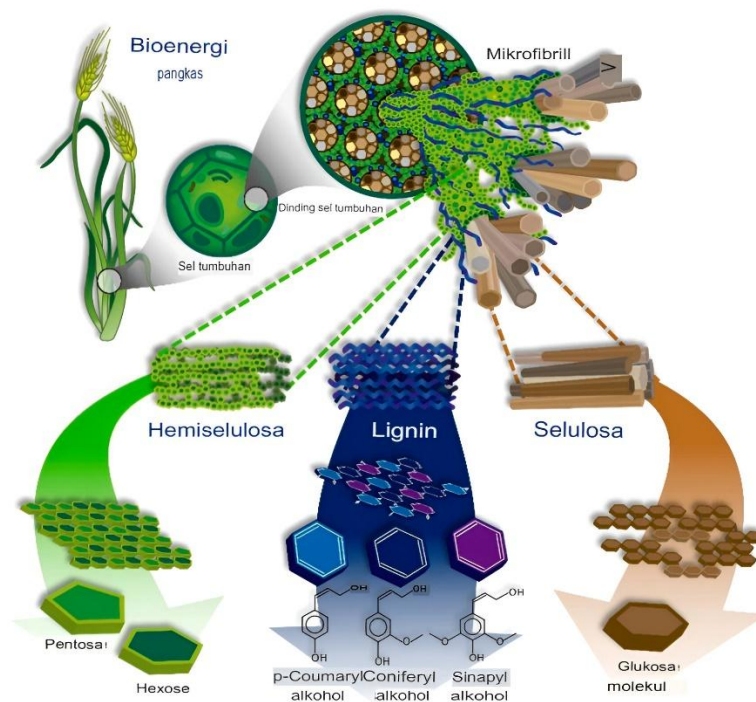
Gambar 1. Morfologi tanaman nanas (Aeni dkk., 2022).

2.2. Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan komponen yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Umumnya biomassa mengandung hemiselulosa sebesar 15-38%, selulosa sebesar 39-45% dan lignin sebesar 18-36%. Lignoselulosa dapat diperoleh dari berbagai sumber, misalnya tangkai kayu, jerami padi, dan sebagainya.

Lignoselulosa merupakan biomassa kompleks yang komponen utamanya meliputi polimer selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Ikatan kompleks antara komponen-komponen ini memerlukan serangkaian tahapan untuk degradasi. Dalam proses ini, penggunaan substrat lignoselulosa harus melalui delignifikasi terlebih dahulu untuk melepaskan selulosa dan hemiselulosa dari ikatan kompleks lignin.

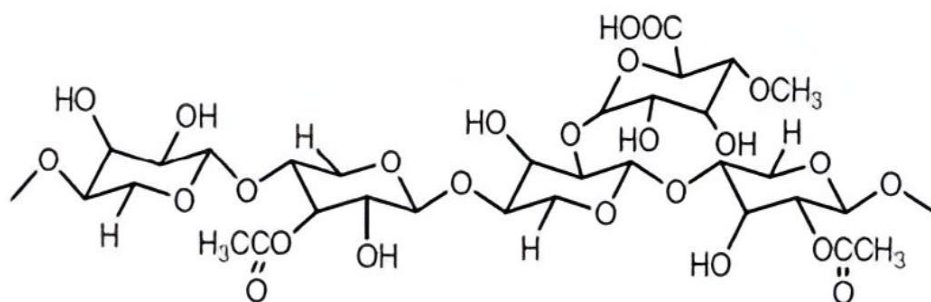
Selanjutnya, dilakukan depolimerisasi untuk mendapatkan gula bebas yang sederhana (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019).



Gambar 2. Struktur lignoselulosa dan biopolimer utamanya (Hernández-Beltrán *et al.*, 2019).

2.2.1. Hemiselulosa

Salah satu komponen dari lignoselulosa adalah hemiselulosa, sekitar 15-38% dari total massa kering. Hemiselulosa adalah sebuah kelompok polisakarida yang mengandung banyak monomer gula berbeda seperti heksosa (glukosa, manosa, dan galaktosa). Hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis daripada selulosa karena strukturnya yang bercabang sehingga daerah amorf yang terbentuk lebih besar. Produk hidrolisat dari hemiselulosa dapat berupa xilobiosa, arabinosilan dan xilooligosakarida (Brasseur *et al.*, 2014). Molekul hemiselulosa bersifat plastis, lebih mudah menyerap air dan mempunyai permukaan kontak antarmolekul yang lebih luas dari selulosa (Wiratmaja dkk., 2011). Hemiselulosa dapat diisolasi dengan cara ekstraksi menggunakan dimetilsulfoksida dan alkali (KOH dan NaOH). Hemiselulosa berfungsi sebagai bahan pendukung dalam dinding sel dan berlaku sebagai perekat antara sel tunggal yang terdapat didalam batang tanaman. Perbedaan hemiselulosa dengan selulosa yaitu hemiselulosa mudah larut dalam alkali tapi sukar larut dalam asam, sedangkan selulosa adalah sebaliknya (Yuniarti, 2018).

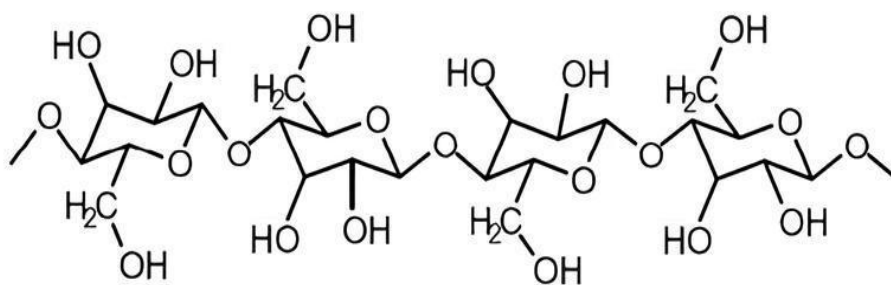


Gambar 3. Struktur hemiselulosa (Yuniarti, 2018).

2.2.2. Selulosa

Selulosa sebagai polisakarida struktural utama pada tumbuhan, memiliki potensi signifikan untuk dimanfaatkan. Pemanfaatannya umumnya diawali dengan proses

hidrolisis untuk mengonversinya menjadi glukosa. Namun, proses ini menghadapi kendala substansial. Struktur polimer selulosa cenderung saling menumpuk dan berikatan kuat, membentuk serat panjang yang sangat resisten (Darojati, 2017). Meskipun demikian, sumber daya selulosa sangat melimpah. Sebagai contoh, buah nanas menunjukkan kandungan selulosa yang cukup tinggi pada berbagai bagiannya yaitu 40,33% pada kulit buah, 33,5% pada daging buah, dan 24,33% pada bonggol (Pardo *et al.*, 2014). Kandungan yang substansial ini menjadikan nanas sebagai sumber untuk menghasilkan α -selulosa. Untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa dapat dilakukan melalui hidrolisis yang melibatkan agen asam atau enzim (Sutini dkk., 2019). Pemutusan ikatan glikosidik ini, baik melalui katalisis asam maupun secara enzimatik, menghasilkan unit-unit penyusun selulosa seperti gula pereduksi atau glukosa.

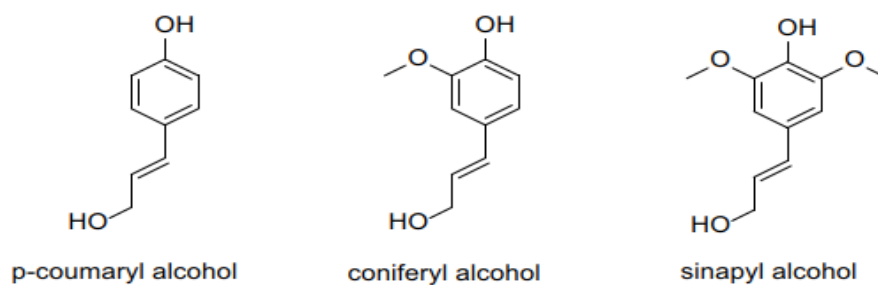


Gambar 4. Struktur selulosa (Sutini dkk., 2019).

2.2.3. Lignin

Lignin merupakan bahan organik polimer yang banyak terkandung pada tumbuhan. Lignin dalam tumbuhan berfungsi sebagai perekat serat selulosa dan hemiselulosa sehingga menjadi kuat (Wiratmaja dkk., 2011). Lignin tidak dapat diisolasi dari tanaman tanpa mendegradasi strukturnya. Hal tersebut karena jaringannya berupa ikatan kimia yang sangat kuat dari polimer dengan berat molekul tinggi. Pada kondisi asam dan suhu tinggi, lignin akan mengalami perubahan struktur kimia. Perubahan ini menyebabkan lignin terpecah menjadi partikel yang lebih kecil dan terlepas dari selulosanya (Kakroodi dan Sain, 2016). Proses ini dikenal sebagai delignifikasi. Keberadaan lignin dapat secara signifikan

menghambat aksesibilitas selulosa dan hemiselulosa, khususnya terhadap enzim selulase yang dapat memecah selulosa maupun agen hidrolisis lainnya. Oleh karena itu, penghilangan lignin menjadi langkah awal yang esensial dalam konversi biomassa lignoselulosa menjadi produk bernilai tambah seperti glukosa.



Gambar 5. Prekursor unit dasar dalam lignin (Kakroodi dan Sain, 2016).

2.3. Metode TAPPI

Metode *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI) adalah metode yang penting untuk menganalisis komposisi biomassa, terutama pada bahan baku lignoselulosa. Metode ini menyediakan serangkaian prosedur terperinci untuk mengukur kadar selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang merupakan komponen struktural utama. Sebagai contoh, TAPPI T-222 secara spesifik digunakan untuk menentukan kandungan lignin tak larut dalam asam. Selain itu, terdapat juga metode TAPPI lainnya yang dirancang khusus untuk menganalisis karbohidrat, guna mengidentifikasi serta mengukur kandungan selulosa dan hemiselulosa secara akurat (TAPPI, 2018).

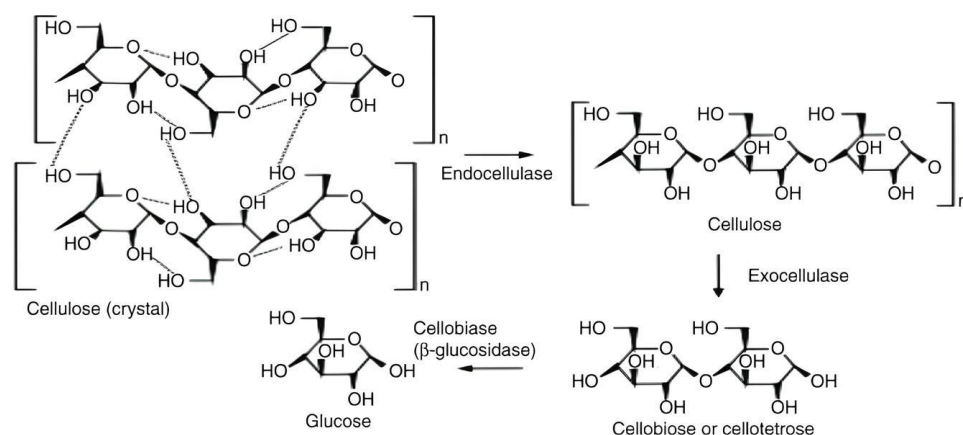
2.4. Hidrolisis

Proses pengubahan selulosa menjadi gula pereduksi dapat dilakukan dengan dua metode hidrolisis yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatik. Hidrolisis asam yang menggunakan asam encer atau pekat, merupakan metode yang sudah lama

digunakan untuk memecah komponen lignoselulosa. Namun, kelemahan mendasar dari metode ini adalah efisiensinya yang cenderung rendah sehingga hidrolisis asam dapat menyebabkan terbentuknya produk sampingan yang tidak diinginkan, seperti hidroksimetilfurfural, yang justru dapat menghambat proses hidrolisis. Kehadiran produk penghambat ini membuat hasil akhir menjadi kurang optimal (Carvalho *et al.*, 2013).

Berbeda dengan hidrolisis asam, hidrolisis enzimatik memberikan solusi yang lebih efektif. Metode ini dilakukan dalam kondisi yang jauh lebih ringan dan ramah lingkungan sehingga menjadikannya pilihan yang lebih efektif. Proses ini bergantung pada kerja enzim selulase yang merupakan enzim kompleks dari tiga jenis enzim yaitu endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis untuk mengurai selulosa secara bertahap, dengan cara endoglukanase memulai proses dengan menyerang dan memotong ikatan β -1,4-glikosidik secara acak di bagian tengah rantai selulosa. Proses ini memecah rantai selulosa yang panjang menjadi bagian yang lebih pendek dan menghasilkan ujung-ujung rantai baru. Setelah itu, eksoglukanase bekerja dari ujung-ujung rantai yang telah terbentuk. Enzim ini secara bertahap melepaskan unit-unit disakarida, yaitu selobiosa dari ujung rantai. Terakhir, β -glukosidase menyelesaikan proses degradasi dengan menghidrolisis selobiosa menjadi unit-unit glukosa tunggal.

Glukosa inilah yang menjadi produk akhir yang dapat dimanfaatkan secara optimal. Kerjasama dari ketiga enzim ini memastikan selulosa dapat dipecah secara efektif dan efisien menjadi gula sederhana. Proses hidrolisis enzimatik ini secara khusus dibantu oleh bakteri seperti *Actinomyces*. Bakteri ini memiliki peran penting karena kemampuannya untuk memproduksi enzim selulase yang sangat penting untuk mendegradasi selulosa. (Basak *et al.*, 2021).



Gambar 6. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik (Basak *et al.*, 2021).

2.5. *Actinomyces*

Actinomyces adalah kelompok bakteri gram positif yang memiliki bentuk seperti anyaman filamen halus atau hifa layaknya jamur. Pertumbuhan optimal bakteri ini dipengaruhi oleh suhu dan pH (Mulyani dkk., 2023). Selain itu, sebagian besar *Actinomyces* mampu menghasilkan metabolit sekunder yang menunjukkan beragam aktivitas biologis termasuk antibakteri dan antijamur (Subramani dan Sipkema, 2019).

Secara signifikansi *Actinomyces* yang paling menonjol dalam konteks biokonversi adalah kemampuannya menghasilkan multienzim, terutama enzim hidrolitik untuk mendegradasi lignoselulosa. Berbeda dengan banyak mikroorganisme lain, kelompok bakteri ini memiliki sistem enzim hidrolitik yang lengkap (Abdelmohsen *et al.*, 2014). Kemampuan ini memungkinkan *Actinomyces* untuk menguraikan lignoselulosa secara menyeluruh, didukung oleh produksi enzim-enzim hidrolitik ekstraseluler yang efektif (Satria dkk., 2011). Hal ini menjadikan *Actinomyces* pilihan strategis untuk aplikasi degradasi limbah lignoselulosa. *Actinomyces* juga biasa ditemukan di lingkungan perairan dengan kandungan garam tinggi (Shivanand dan Mugeraya, 2011).

2.6. Halofilik

Bakteri halofilik adalah kelompok mikroorganisme yang mampu bertahan dan berkembang biak di lingkungan dengan kadar garam tinggi. Contohnya *Actinomycetes*, mereka dikelompokkan berdasarkan toleransi konsentrasi NaCl, ada yang optimal pada kadar garam rendah (2-5% NaCl), sedang (5-20% NaCl), hingga ekstrem (20-30% NaCl). Kemampuan ini sangat berbeda dengan bakteri non-halofilik yang hanya dapat tumbuh optimal pada kadar garam di bawah NaCl 2%. Bakteri halofilik dapat bertahan di lingkungan kadar garam yang tinggi karena mereka punya cara khusus untuk menjaga keseimbangan cairan di dalam selnya, yaitu dengan mengumpulkan zat organik tertentu yang larut di dalam sel (Budiharjo dkk., 2017). Kemampuan luar biasa bakteri halofilik untuk beradaptasi di lingkungan bersalininitas tinggi menjadikannya sangat bernilai dalam bidang bioteknologi. Salah satu aplikasi utamanya adalah halofilik memiliki potensi untuk membantu produksi gula pereduksi.

2.7. Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan katalis biologis esensial yang berfungsi menguraikan selulosa. Mekanismenya melibatkan pemutusan spesifik ikatan β -1,4 glikosidik yang terdapat dalam struktur selulosa, selodekstrin, selobiosa, maupun senyawa turunan selulosa lainnya menghasilkan gula sederhana seperti glukosa (Setyoko dan Utami, 2016). Meskipun dapat ditemukan pada tanaman dan hewan, produksi enzim selulase umumnya lebih banyak dimanfaatkan dari mikroorganisme. Hal ini disebabkan oleh beberapa keunggulan mikroorganisme, antara lain laju pertumbuhan yang cepat, kemudahan dalam proses budidaya, kemampuan menghasilkan enzim dalam jumlah tinggi, serta faktor ekonomis dan stabilitas yang lebih baik untuk aplikasi industri (Setyoko dan Utami, 2016).

2.8. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase

Metode Asam Dinitrosalisilat (DNS) adalah metode standar yang luas digunakan untuk mengukur aktivitas enzim selulase. Prinsip dasar dari metode ini adalah reaksi hidrolisis enzimatis. Dalam proses ini, enzim selulase direaksikan dengan substrat selulosa dalam kondisi yang telah dioptimalkan. Hasil dari hidrolisis selulosa ini adalah gula pereduksi.

Selanjutnya, gula pereduksi yang terbentuk akan bereaksi dengan reagen DNS saat dipanaskan. Reaksi ini menghasilkan senyawa berwarna jingga-merah. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang spesifik. Dengan membandingkan nilai absorbansi sampel yang diukur dengan kurva standar glukosa, konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis enzimatis dapat dihitung dengan akurat. Konsentrasi ini kemudian dikonversi menjadi unit aktivitas enzim (Ghose, 1987).

2.9. Gula Pereduksi

Selulosa sebagai komponen utama dalam biomassa lignoselulosa, memiliki peran krusial dalam produksi energi terbarukan. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa. Proses konversi selulosa menjadi gula melibatkan hidrolisis, dimana selulosa pertama-tama dipecah menjadi selobiosa, disakarida yang kemudian bertransformasi menjadi glukosa. Glukosa ini merupakan contoh gula pereduksi. Hampir semua monosakarida dan sebagian besar disakarida (kecuali sukrosa) tergolong sebagai gula pereduksi. Sifat pereduksi pada molekul gula ini ditentukan oleh adanya gugus hidroksil yang reaktif. Dalam konteks pemanfaatan limbah pertanian, limbah nanas menunjukkan potensi yang signifikan. Menurut (Kurniati dkk., 2021), kandungan gula pereduksi dalam limbah nanas mencapai 8,2%, sementara gula non-pereduksi sebesar 8,8%, dengan total gula keseluruhan

mencapai 9,75% per 100 gram substrat. Ini menyoroti potensi besar limbah biomassa sebagai sumber gula pereduksi yang dapat dimanfaatkan.

2.10. X-Ray Diffraction (XRD)

XRD merupakan teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi fase kristalin dalam suatu material melalui analisis parameter struktur kisi dan ukuran partikel nanokristal (Sharma *et al.*, 2012). Difraksi sinar-X terjadi akibat hamburan elastis foton sinar-X oleh atom dalam kisi kristal yang teratur. Hamburan dari sinar-X monokromatik menghasilkan interferensi konstruktif dalam fase tertentu. Ketika sinar-X diarahkan ke sampel kristal, bidang-bidang kristal akan membelokkan sinar dengan panjang gelombang yang sebanding dengan jarak antar bidang kristal. Sinar yang dibelokkan ini kemudian ditangkap oleh detektor dan ditampilkan sebagai pola puncak difraksi. Keunggulan utama teknik ini dalam karakterisasi material terletak pada daya tembus sinar-X yang tinggi yang berasal dari energinya yang besar akibat panjang gelombangnya yang sangat pendek (Putama Mursal, 2018).

Instrumen XRD adalah alat yang sangat efektif untuk mengukur indeks kristalinitas selulosa, termasuk selulosa yang ditemukan dalam limbah biomassa nanas setelah proses ekstraksi bromelin. Kemampuan ini didasarkan pada prinsip dasar interaksi sinar-X dengan struktur atom suatu material. Ketika sinar-X ditembakkan ke sampel, sinar tersebut akan berinteraksi dengan elektron-elektron dalam atom. Jika atom-atom ini tersusun dalam pola yang teratur, membentuk struktur kristal, sinar-X akan terdifraksi (dibengkokkan) pada sudut-sudut tertentu sesuai dengan Hukum Bragg. Fenomena difraksi ini menghasilkan pola atomik berupa puncak-puncak intensitas yang tajam pada sudut 2θ tertentu, khas untuk setiap material kristalin. Selulosa sebagai komponen utama dinding sel tumbuhan, secara intrinsik terdiri dari dua daerah utama daerah kristalin yang sangat teratur dan menghasilkan puncak difraksi tajam, serta daerah amorf yang tidak teratur dan menghasilkan pola XRD.

XRD dapat secara efektif membedakan kedua daerah ini karena responnya yang berbeda terhadap sinar-X. Puncak-puncak tajam pada difraktogram menunjukkan keberadaan daerah kristalin, di mana intensitas puncaknya berbanding lurus dengan jumlah materi kristalin, sebaliknya luas yang mewakili daerah amorf. Dengan membandingkan intensitas puncak kristalin dengan intensitas daerah amorf, instrumen XRD dapat menghitung indeks kristalinitas (CrI) selulosa. Meskipun bromelin sendiri adalah enzim dan tidak bersifat kristalin, limbah padat sisa ekstraksi bromelin dari nanas masih kaya akan selulosa. Oleh karena itu, XRD sangat relevan untuk mengkarakterisasi indeks kristalinitas selulosa dalam limbah ini.

2.11. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis bekerja berdasarkan fenomena penyerapan cahaya UV atau cahaya tampak. Penyerapan ini menginduksi transisi elektronik, di mana elektron berpindah dari orbital berenergi rendah (keadaan dasar) ke orbital berenergi lebih tinggi (keadaan tereksitasi). Panjang gelombang cahaya yang diserap ini spesifik dan bergantung pada kemudahan elektron untuk tereksitasi. Metode pengukuran ini didasarkan pada prinsip bahwa jumlah cahaya yang diserap oleh suatu larutan memiliki hubungan proporsional dengan konsentrasi kontaminan didalamnya. Dalam spektrofotometer UV-Vis, berkas cahaya awal dibagi menjadi dua. Salah satu berkas diarahkan melewati sel yang mengandung sampel terlarut, sedangkan berkas kedua melewati sel yang hanya berisi pelarut. Detektor kemudian berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya yang berhasil ditransmisikan melalui masing-masing sel tersebut dan membandingkannya untuk mendapatkan data absorbansi sampel (Boucher, 2011).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025 sampai bulan Mei 2025 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung. Limbah bromelin nanas diperoleh dari PT *Bromelin Enzyme Great Giant Pineapple*. Isolat *Actinomyces* diisolasi dari tanah mangrove yang diambil dari Hutan Mangrove CukuNyiNyi, Pesawaran, Lampung. Analisis karakterisasi substrat tepung bromelin menggunakan XRD dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Tanjung Bintang, Lampung. Analisis penentuan konsentrasi gula pereduksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *freezer*, *laminar air flow* merek airtech HVS-1300, *autoclave*, bunsen, jarum ose, inkubator, *waterbath*, *shaker*, sentrifus merek *Hermle Z 327 K*, *magnetic stirrer* merek *CB161 Stuart*, XRD, spektrofotometer UV-Vis merek *Shimadzu* tipe 1780, blender, batang pengaduk, mikropipet, pipet tetes, mortar, alu, gunting, oven desikator, pH meter, neraca analitik, *hot plate*, tabung sentrifus, *autoclave*, rak tabung reaksi, cawan petri, spatula, lemari pendingin, *microtube*, pengayak ukuran 60 mesh, tabung eppendorf dan alat-alat gelas.

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tepung bromelin nanas, *Congo-red*, natrium karbonat (Na_2CO_3), media *Internasional Streptomyces Project-2* (ISP-2), kandistatin, spiritus, akuades, kalsium karbonat (CaCO_3), fenol, Na_2HPO_4 , k-Na Tartrat, asam sulfat (H_2SO_4), larutan buffer pH 7, kertas saring, kasa, kapas, alkohol, ampicilin, natrium klorida (NaCl), DNS, indikator *universal*, CMC, dan alumunium foil.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Preparasi Sampel

Limbah bromelin dari nanas yang didapatkan dari PT *Great Giant Pineapple* dijemur dibawah sinar matahari langsung dengan waktu kurang lebih 2 hari. Setelah itu, limbah yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi tepung bromelin. Proses preparasi diakhiri dengan mengayak tepung menggunakan ayakan 60 mesh (250 μm) lalu disimpan dalam wadah tertutup.

3.3.2. Analisis Komponen Limbah Bromelin Nanas dengan Metode TAPPI

3.3.2.1. Hidrolisis asam

Sebanyak 300 mg tepung limbah bromelin nanas ditimbang dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 50 mL lalu ditambahkan 7 mL asam sulfat (H_2SO_4) 72% kemudian Erlenmeyer tersebut ditutup dengan alumunium foil dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam 30 menit. Selanjutnya, campuran dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL dan ditambahkan 119 mL akuades hingga konsentrasi asam mencapai 4%. Campuran tersebut lalu dipanaskan dalam autoklaf selama 1 jam pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Hasil dari proses tersebut adalah filtrat (lignin larut) dan endapan (lignin tidak larut). Pemisahan antara filtrat dan endapan dilakukan dengan penyaringan menggunakan kertas

saring. Setelah itu, endapan dicuci dengan 50 mL akuades untuk melarutkan zat-zat lain yang dapat larut dalam air.

3.3.2.2. Analisis lignin tidak larut asam

Endapan yang ada pada kertas saring yang sudah dicuci dikeringkan di oven pada suhu 90°C sampai beratnya stabil, sekitar selama 2 jam. Setelah itu, kertas saring didinginkan di suhu ruangan atau didalam desikator, lalu ditimbang dan dicatat beratnya. Untuk menghitung jumlah lignin yang tidak larut dalam asam, gunakan Persamaan 1.

$$\text{Lignin tidak larut asam} = \frac{\text{Berat endapan akhir hidrolisis}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

3.3.2.3. Analisis lignin larut asam

Absorbansi filtrat yang dihasilkan dari hidrolisis diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 240 nm. Sampel kemudian diencerkan dengan akuades agar nilai absorbansinya berada dalam rentang 0,7-1. Jumlah lignin larut asam (LLA) dapat dihitung dengan menggunakan Persamaan 2 dan 3.

$$\% \text{ LLA} = \frac{Uv \text{ abs} \times V_{\text{filtrat}} \times \text{Pengenceran}}{\epsilon \times \text{ODW sampel} \times \text{lebar kuvet}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Pengenceran} = \frac{V_{\text{sampel}} + V_{\text{pelarut}}}{V_{\text{sampel}}} \quad (3)$$

3.3.2.4. Analisis karbohidrat total

Filtrat hasil hidrolisis dinetralkan dengan menambahkan kalsium karbonat secara perlahan hingga pH mencapai 5-7 di dalam gelas kimia 500 mL dan filtrat diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Apabila pH mencapai 5-7, penambahan kalsium karbonat dihentikan dan sampel dibiarkan hingga mengendap. Filtrat kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540

nm dengan cara mereaksikan sampel dan reagen DNS lalu diinkubasi selama 15 menit.

3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah Bromelin

Pengukuran kristanilitas tepung bromelin dilakukan melalui analisis XRD. Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengidentifikasi struktur kristal selulosa pada tepung bromelin yang telah melalui *pretreatment* secara fisika. Indeks kristanilitas selulosa dapat dihitung menggunakan metode empiris dengan rumus yang terdapat dalam Persamaan 4.

$$\%CrI = \frac{\text{Area fase kristalin}}{\text{Area total fase kristalin dan amorf}} \times 100\% \quad (4)$$

3.3.4. Penapisan Isolat *Actinomyces*

Uji kemampuan selulolitik pada isolat *Actinomyces* dilakukan dengan mengkultur isolat terpilih dalam media ISP-2 yang ditambahkan CMC 0,5 g yang berfungsi untuk uji aktivitas selulolitik. Media tersebut disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 40 menit, lalu ditambahkan ampisilin sebanyak 8 mL dalam 100 mL media ISP-2 yang berfungsi sebagai anti bakteri dan 1 tetes kandistatin yang berfungsi sebagai anti jamur, lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Isolat murni kemudian ditotolkan ke media yang telah disiapkan dan diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi, media yang menunjukkan pertumbuhan bakteri disiram dengan reagen *Congo red* selama 15 menit, kemudian dibilas dengan NaCl 1% sebanyak 3 kali untuk mempermudah pengamatan zona bening yang terbentuk (Satria *et al.*, 2020). Zona bening di sekitar koloni menunjukkan bahwa bakteri memiliki aktivitas selulolitik. Indeks dan aktivitas selulolitik dapat dihitung menggunakan Persamaan 5.

$$\text{Indeks Aktivitas} = \frac{A-B}{B} \quad (5)$$

Keterangan :

A = Diameter zona bening (mm)

B = Diameter koloni (mm)

3.3.5. Produksi Glukosa dan Enzim Selulase

Produksi glukosa dari isolat *Actinomycetes* diawali dengan inokulasi isolat terpilih pada media fermentasi ISP-2. Media ini disiapkan dengan menambahkan 1 gram biomassa bromelin nanas yang dilarutkan dalam akuades. Perlakuan serupa dilakukan pada Erlenmeyer terpisah dengan penambahan CMC sebagai kontrol. Proses pelarutan bahan dibantu dengan pemanasan menggunakan *hotplate*. Selanjutnya, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi, isolat *Actinomycetes* diinokulasi ke dalam media tersebut dan diinkubasi menggunakan *shaker* untuk memastikan pertumbuhan dan produksi enzim yang optimal. Pemanenan enzim dilakukan secara berkala setiap 24 jam selama 7 hari. Produk yang dihasilkan, yaitu supernatan yang mengandung enzim kemudian dipisahkan dari sel-sel biomassa melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit.

3.3.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dari larutan induk dengan konsentrasi 5 g/L. Larutan induk ini kemudian dibuat menjadi deret standar dengan konsentrasi berturut-turut 0,2; 0,4; 0,6; 0,8, dan 1 g/L. Setiap larutan standar tersebut kemudian ditambahkan pereaksi DNS dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

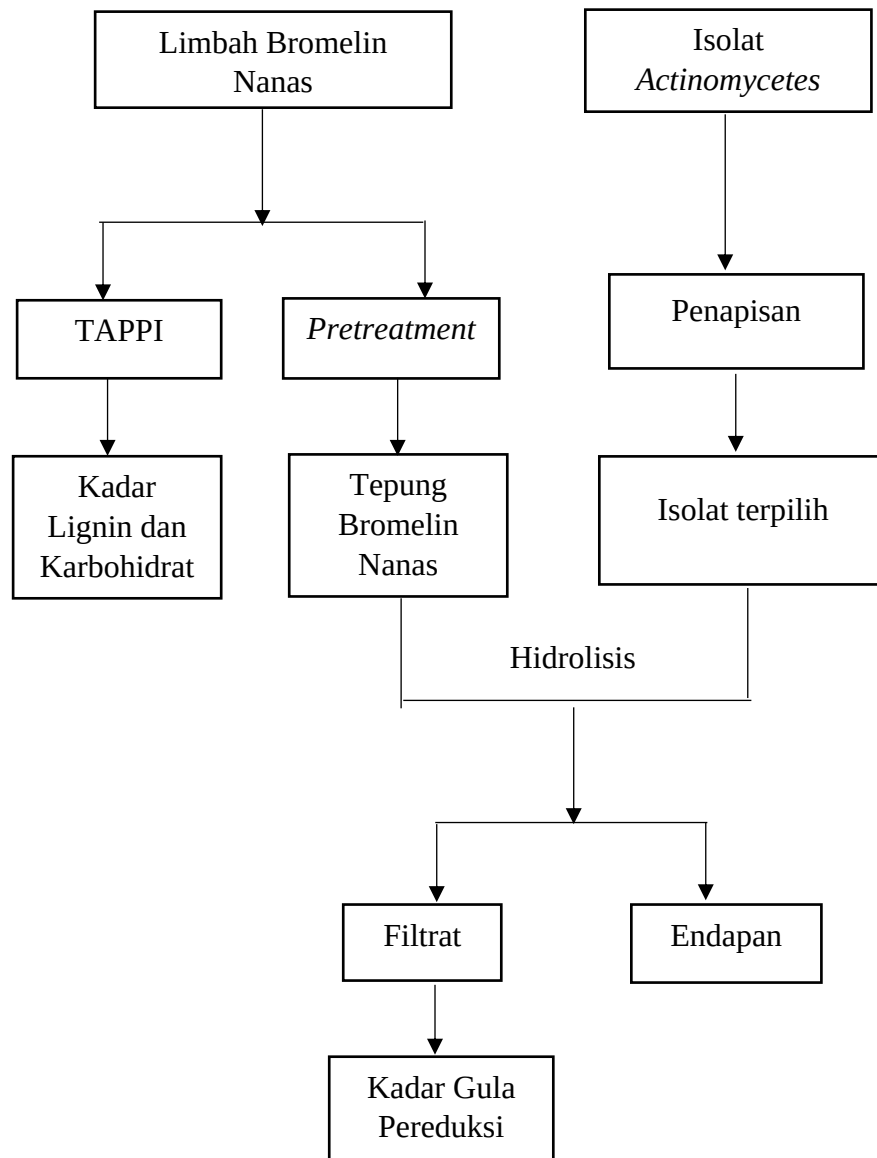
3.3.7. Uji Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase

Pengujian kadar glukosa dan aktivitas enzim selulase dilakukan menggunakan metode DNS. Prosedur dimulai dengan mencampurkan 0,5 mL ekstrak kasar enzim dengan 0,5 mL CMC dalam tabung reaksi. Campuran ini kemudian diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 30 menit. Untuk menghentikan reaksi, 1 mL reagen DNS ditambahkan lalu dilakukan pemanasan campuran tersebut dalam air mendidih selama 15 menit. Setelah proses pemanasan, tabung reaksi didinginkan, dan larutan diencerkan 10 kali (menggunakan 4,5 mL akuades dan 0,5 mL larutan sampel). Lalu, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan kadar glukosa dan aktivitas enzim. Aktivitas enzim dihitung dengan mengkonversi nilai absorbansi menjadi konsentrasi glukosa menggunakan kurva standar, kemudian dianalisis menggunakan Persamaan 6.

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{\text{Unit}}{\text{mL enzim}} \quad (6)$$

3.4. Diagram Alir

Adapun diagram alir pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Diagram alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Komposisi limbah bromelin nanas menggunakan metode TAPPI menunjukkan bahwa limbah ini mengandung 50,21% total karbohidrat dan 39,16% total lignin.
2. Isolat *Actinomyces* yang dipilih diperoleh dengan kode ActCK-8 yang memiliki indeks aktivitas sebesar 0,64 mm.
3. Dari hasil pengukuran indeks kristalin pada bromelin nanas sebelum *pretreatment* menunjukkan hasil sebesar 3,11% dan sesudah *pretreatment* sebesar 5,64%.
4. Tahap hidrolisis dilakukan dengan memanfaatkan enzim yang dihasilkan oleh isolat ActCK-8 pada hari ke-2 dengan kadar glukosa sebesar 13,00 g/L dengan aktivitas enzim selulase sebesar 4,61 U/mL.

5.2. Saran

Pada penelitian ini menghasilkan gula pereduksi dengan memanfaatkan selulosa sebesar 13,00 g/L dari limbah bromelin nanas, namun kadar ini belum optimal karena hanya berfokus pada parameter waktu. Sehingga, disarankan untuk penelitian selanjutnya agar dapat melakukan perbedaan suhu dan waktu hidrolisis yang berbeda untuk memahami kinetika pembentukan gula pereduksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abakar, A., Dadi Mahamat, A., Donnot, A., Tanguier, J.-L., and Benelmir, R. 2020. Physical and Chemical Characteristics of Rice Straw. *Research Journal of Applied Sciences. Engineering and Technology*. 17(4): 115–121.
- Abdelmohsen, U. R., Bayer, K., and Hentschel, U. 2014. Diversity, Abundance and Natural Products of Marine Sponge-Associated Actinomycetes. *Natural Product Reports*. 31(3): 381–399.
- Abdullah, N. A. R., Ahmad, I., and Kormin, S. 2022. Effect of The Chemical Treatment Sequence on Pineapple Peel Fiber: Chemical Composition and Thermal Degradation Behavior. *Cellulose*. 29(1).
- Aiman, S. 2016. Pengaruh Ukuran Partikel Biomasa Lignoselulosa pada Pembuatan Bioetanol dan Biobutanol : Tinjauan. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 18(01): 11–25.
- Badan Pusat Statistik. 2024. *Luas Panen dan Produksi Nanas Menurut Provinsi*. Badan Pusat Statistik (BPS). Lampung.
- Basak P., Adhikary, T., Das, P., Shee, M., Dutta, T., Biswas, S., Paul, S., and Manna, S. 2021. Cellulases in Paper and Pulp, Brewing and Food Industries: Principles Associated with Its Diverse Applications. *Microbial Cellulase System Properties and Applications*. 1(1): 275-293.
- Boucher, G. 2011. Book Reviews: Book Reviews. *Critical Sociology*. 37(4): 493–497.
- Brasseur, C., Bauwens, J., Tarayre, C., Mattéotti, C., Thonart, P., Destain, J., Francis, F., Haubruge, E., Portetelle, D., Vandenbol, M., Focant, J. F., and De Pauw, E. 2014. MALDI-TOF Ms Analysis of Cellodextrins and Xylo-oligosaccharides Produced by Hindgut Homogenates of *Reticulitermes* *Santonensis*. *Molecules*. 19(4): 4578–4594.
- Budiharjo, R., Sarjono, P. R., and Asy'ari, M. 2017. Pengaruh Konsentrasi NaCl Terhadap Aktivitas Spesifik Protease Ekstraseluler dan Pertumbuhan Bakteri Halofilik Isolat Bittern Tambak Garam Madura. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. 20(3): 142–145.

- Carvalho, M. L., Sousa, R., Rodríguez-Zúñiga, U. F., Suarez, C. A. G., Rodrigues, D. S., Giordano, R. C., and Giordano, R. L. C. 2013. Kinetic Study of The Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 30(3): 437–447.
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., and Ismail, N. 2020. Lignocellulolytic Enzymes in Biotechnological and Industrial Processes: A Review. *Sustainability (Switzerland)*. 12(18): 1–31.
- Darojati, H. A. 2017. Prospek Pengembangan Teknologi Radiasi Sebagai Perlakuan Perlakuan Biomassa Lignoselulosa. *Jurnal Forum Nuklir*. 11(2): 71.
- Hernández-Beltrán, J. U., Hernández-De Lira, I., Cruz-Santos, M., Saucedo-Luevanos, A., Hernández-Terán, F., and Balagurusamy, N. 2019. Insight into Pretreatment Methods of Lignocellulosic. *Applied Sciences*. 9: 3721.
- Kakroodi, A. R., and Sain, M. 2016. *Lignin-Reinforced Rubber Composites*. In Lignin in Polymer Composites. Elsevier Inc.
- Kunusa, W. R. 2017. Kajian Tentang Isolasi Selulosa Mikrokristalin (SM) dari Limbah Tongkol Jagung. *Jurnal Entropi*. 12(1): 105–108.
- Kumala, M. I., Nurulita, S., and Sari, I. M. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Gambut Sebagai Sumber Enzim Selulase. *Jurnal Biologi Tropis*. 17(1): 1-8.
- Kurniati, Y., Khasanah, I. E., dan Firdaus, K. 2021. Kajian Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas (*Ananas comosus*. L). *Jurnal Teknik Kimia USU*. 10(2): 95–101.
- Pardo, M. E. S., Cassellis, M. E. R., Escobedo, R. M., and García, E. J. 2014. Chemical Characterisation of The Industrial Residues of The Pineapple (*Ananas comosus*). *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*. 03(02): 53–56.
- Puspitasari, D., Rachmat, D. D., dan Aditiawati, P. 2018. *Studi Produksi Bioetanol dari Kulit Nanas (Ananas comosus L. Merr) melalui Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi*. *Jurnal Integrasi Proses*. 7(1): 1-6.
- Putama, M, I, L. 2018. Karakterisasi XRD dan SEM pada Material Nanopartikel serta Peran Material Nanopartikel dalam Drug Delivery System. *Pharma Explore: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(2): 214-221.
- Rilek, N, M., Nur H., dan Yusron, S. 2017. Hidrolisis Lignoselulosa Hasil Pretreatment Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis Jacq*) Menggunakan H₂SO₄ pada Produksi Bioetanol. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 6(2): 53-63.
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A., and Yadav, A. 2015. *Actinomycetes: A Source of Lignocellulolytic Enzymes*. *Enzyme Research*. 20.1-15.

- Sankat, C. K., Mahabir, D., and Nancoo, A. 2014. Characterization of pineapple (*Ananas comosus*) Stem Waste for Use As A Potential Source of Fermentable Sugars. *Journal of the Caribbean Academy of Sciences*. 10(1): 1-10.
- Satria, H., Herasari, D., and Yuwono, S. D. 2011. Kinetika Fermentasi Produksi Selulase dari Isolat *Actinomycetes* AcP-7 Pada Media Padat Jerami Padi. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 33(2): 152.
- Satria, H., Yandri, Nurhasanah, Yuwono, S. D., and Herasari, D. 2020. Extracellular Hydrolytic Enzyme Activities of Indigenous *Actinomycetes* on Pretreated Bagasse using Choline Acetate Ionic Liquid. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 24
- Seprianto. 2017. Isolasi dan Penapisan Bakteri Selulolitik dari Berbagai Jenis Tanah Sebagai Penghasil Enzim Selulase. *Ijobb*. 1(2): 64–80.
- Setyoko, H., dan Utami, B. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 863–867.
- Sharma, R., Bisen, D. P., Shukla, U., and Sharma, B. G. 2012. *X-Ray Diffraction: A Powerful Method of Characterizing Nanomaterials*. *Recent Research in Science and Technology*. 4(8): 77–79.
- Shivanand, P., & Mugeraya, G. 201). Halophilic Bacteria and Their Compatible Solutes -Osmoregulation and Potential Applications. *Current Science*. 100(10): 1516–1521.
- Subramani, R., and Sipkema, D. 2019. Marine Rare Actinomycetes: A promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products. In *Marine Drugs*. 17(5).
- Sun, Y., and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: A Review. *Bioresource Technology*. 83(1): 1–11.
- Sutini, S., Widiastuty, Y. R., and Ramadhani, A. N. 2020. Review: Hidrolisis Lignoselulosa dari Agricultural Waste Sebagai Optimasi Produksi Fermentable Sugar. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*. 3(2): 59.
- TAPPI. 2018. T 205 sp-18: Forming Handsheets for Physical Tests of Pulp. Atlanta, GA: TAPPI Press.
- Widiasih, D. R., Kusriani, D., and Haryanto, T. A. D. 2022. Isolation of An Acidophilic Cellulolytic Bacterial Strain and Its Cellulase Production Characteristics. *Microorganisms*. 10(7): 1290.
- Widiyastuti, S., Hadiyanto, A., dan Budiyono, B. 2019. Peningkatan Yield Gula Pereduksi dari Hidrolisis Batang Jagung dengan Kombinasi Asam dan Enzim. *Jurnal Rekayasa Proses*. 13(2): 55-62.

- Wiratmaja, I. G., Bagus, I. G., Kusuma, W., and Winaya, I. N. S. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*. 5(1): 75–84.
- Yuniarti, D. P., Hatina, S., and Efrinalia, W. 2018. Pengaruh Jumlah Ragi dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dengan Bahan Baku Ampas Tebu. *Jurnal Redoks*. 3(2): 1–12.
- Zhang, Y. H. P., and Lynd, L. R. 2004. Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems. *Biotechnology and Bioengineering*. 88(7): 797–824.