

**PROSES ENZIMATIS SEPARASI SELULOSA DARI LIMBAH
BROMELIN NANAS DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI OLEH
ISOLAT *Actinomyces* HALOFILIK**

(Skripsi)

Oleh

**Anggun Marchella
2117011045**



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

ABSTRAK

PROSES ENZIMATIS SEPARASI SELULOSA DARI LIMBAH BROMELIN NANAS DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI OLEH ISOLAT *Actinomycetes* HALOFILIK

OLEH

ANGGUN MARCHELLA

Limbah bromelin nanas merupakan biomassa lignoselulosa yang melimpah dan kaya dengan selulosa dan karbohidrat. Penelitian ini berfokus pada dua tujuan utama yaitu pertama memisahkan selulosa dari limbah bromelin nanas secara enzimatik dan yang kedua memproduksi gula pereduksi dengan memanfaatkan isolat *Actinomycetes* halofilik yang berasal dari ekosistem mangrove. Analisis komposisi biopolimer dengan menggunakan metode TAPPI menunjukkan bahwa limbah bromelin nanas mengandung karbohidrat (selulosa dan hemiselulosa) sebesar 50,21% dan lignin sebesar 39,16%.

Peningkatan indeks kristalinitas selulosa meningkat dari 3,11% sebelum proses *pretreatment* menjadi 5,38% setelah *pretreatment*. Hal ini mengindikasikan peningkatan aksesibilitas enzim terhadap substrat selulosa, yang kurisal untuk proses degradasi. Dari 13 isolat *Actinomycetes* yang diperoleh, isolat ActCK-21 menjadi salah satu isolat yang menunjukkan aktivitas selulolitik yang tinggi dengan indeks 0,471 dan menunjukkan aktivitas enzim selulase optimum sebesar 4,51 U/mL pada jam ke-48 hasil fermentasi.

Selain itu proses hidrolisis enzimatik dengan menggunakan isolat ActCK-21 menghasilkan gula pereduksi maksimum sebesar 12,19 mg/mL pada waktu fermentasi optimum. Hasil penelitian ini secara signifikan menunjukkan bahwa limbah bromelin nanas memiliki potensi besar sebagai sumber bahan baku berkelanjutan dan ramah lingkungan untuk produksi gula pereduksi melalui pemanfaatan mikroorganisme halofilik.

Kata kunci: *Actinomycetes* halofilik, bromelin nanas, gula pereduksi, hidrolisis enzimatik, dan lignoselulosa

ABSTRACT

ENZYMATIC PROCESS OF SEPARATING CELLULOSE FROM PINEAPPLE BROMELAIN WASTE AND PRODUCTION OF REDUCING SUGAR BY HALOPHILIC *Actinomycetes* ISOLATES

BY

ANGGUN MARCHELLA

Pineapple bromelain waste is an abundant lignocellulosic biomass rich in cellulose and carbohydrates. This study focuses on two main objectives: first, to enzymatically separate cellulose from pineapple bromelain waste, and second, to produce reducing sugars using halophilic *Actinomycetes* isolates from mangrove ecosystems. Analysis of the biopolymer composition using the TAPPI method showed that pineapple bromelain waste contains carbohydrates (cellulose and hemicellulose) at 50.21% and lignin at 39.16%. The increase in cellulose crystallinity index rose from 3.11% before pretreatment to 5.38% after pretreatment. This indicates improved enzyme accessibility to the cellulose substrate, which is crucial for the degradation process. Among the 13 *Actinomycetes* isolates obtained, isolate ActCK-21 was one of the isolates showing high cellulolytic activity with an index of 0.471 and exhibited optimal cellulase enzyme activity of 4.51 U/mL at the 48th hour of fermentation. Additionally, the enzymatic hydrolysis process using the ActCK-21 isolate produced a maximum reducing sugar concentration of 12.19 mg/mL at the optimal fermentation time. The results of this study significantly indicate that pineapple bromelain waste has great potential as a sustainable and environmentally friendly raw material source for reducing sugar production through the utilization of halophilic microorganisms.

Keywords: Halophilic actinomycetes, pineapple bromelain, reducing sugar, enzymatic hydrolysis, and lignocellulose

PROSES ENZIMATIS SEPARASI SELULOSA DARI LIMBAH BROMELIN
NANAS DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI OLEH ISOLAT *Actinomyces*
HALOFILIK

Oleh

Anggun Marchella

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR
LAMPUNG 2025

Judul Skripsi

: PROSES ENZIMATIS SEPARASI SELULOSA
DARI LIMBAH BROMELIN NANAS DAN
PRODUKSI GULA PEREDUKSI OLEH
ISOLAT *Actinomyces* HALOFILIK

Nama Mahasiswa

: *Anggun Marchella*

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117011045

Program Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. Eng Hori Satria, S.Si., M.Si.
NIP 110012005011002

Prof. Dr. Kamisah D. Pandiangan, M.Si.
NIP 1972120519970302002

**2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung**

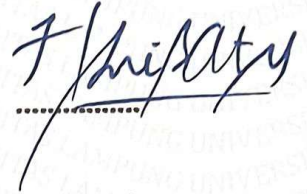
Prof. Dr. Mira Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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



Sekretaris

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



Penguji

Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ilim, M.S.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 12 Agustus 2025

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anggun Marchella
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117100145
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Proses Enzimatis Separasi Selulosa Dari Limbah Bromelin Nanas Dan Produksi Gula Pereduksi Oleh Isolat *Actinomyces* Halofilik”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 27 Agustus 2025

Yang menvatakan.



Anggun Marchella

NPM. 2117011045

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Anggun Marchella. Anak kedua dari dua bersaudara, serta putri bungsu dari Bapak Dasuki dan Ibu Sumiyati. Penulis lahir pada 06 Maret 2003 di Kec.Kotabumi, Kab.Lampung Utara. Pendidikan awal penulis terjadi di TK Nurul iman Kotabumi Selatan pada tahun 2008.

Kemudian, pada tahun 2009 melanjutkan pendidikan ke sekolah dasar, yaitu SDN 05 Kotabumi Selatan. Selanjutnya, penulis menempuh pendidikan menengah pertama di SMPN 07 Kotabumi pada tahun 2015 - 2018. Tahun 2018, penulis melanjutkan pendidikan di SMK Kesehatan YPIB Kotabumi dan lulus pada tahun 2021. Setelah lulus pada tahun 2021, penulis meneruskan pendidikan di Universitas Lampung, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai mahasiswa Jurusan Kimia melalui jalur SBMPTN.

Selama menempuh pendidikan sebagai mahasiswa kimia di Universitas Lampung, penulis telah mengikuti kegiatan organisasi Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Unila tahun 2021-2022. Selanjutnya, penulis menjabat sebagai staf kepengurusan Badan Esekutif Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (BEMF) periode 2022-2023. Selanjutnya, yaitu 2021, penulis mengikuti organisasi intrakampus yaitu UKM Taekondo dan English Society Universitas Lampung. Tahun 2024, penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja nyata (KKN) di desa Mekar Karya Kecamatan Wawai Karya Kabupaten Lampung Timur dan di tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT. Great Giant Pineapple, Lampung Tengah

Pada periode perkuliahan akhir, penulis berkesempatan untuk menjadi Asisten Praktikum Biokimia untuk Jurusan Biologi angkatan 2024 dan. Penulis telah

menyelesaikan riset penelitian dengan judul “Proses Enzimatis Separasi Selulosa Dari Limbah Bromelin Nanas Dan Produksi Gula Pereduksi Oleh Isolat *Actinomyces* Halofilik” pada tahun 2025 di Jurusan Kimia, Universitas Lampung.

MOTTO

“Bukan tuhan tidak tau sedihmu, Tapi tuhan tau kamu kuat”

-Mark Lee

“Itu tidak selalu mudah, tapi itulah hidup. Jadilah kuat karna ada hari hari yang lebih baik didepan”

-Mark Lee

“Tidak ada orang yang tidak mengalami kesulitan. Kamu tidak sendirian”

-Mark Lee

“Atasi kesulitan dengan hal positif”

-Mark Lee

“Hidup adalah proses yang terus berlanjut. Bahkan saat kamu berfikir bahwa itu akan benar-benar berakhir, pada akhirnya kamu akan bisa melaluinya. Semuanya akan baik baik saja”

-Na Jaemin

“Kita harus berusaha 200% agar bisa mendapatkan hasil 100%.”

-Na Jaemin

“Tidak peduli siapa dirimu kamu adalah individu yang sangat berharga dan patut dicintai. Jangan lupa itu”

-Na Jaemin

“Knowledge isn't free. You have to pay attention.”

-Prof. Richard Feynman

“Jangan pernah takut untuk berubah, karna setiap manusia tidak akan berada ditangga yang sama selama hidupnya.”

(penulis)



Dengan mengucapkan 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 untuk:

Bapak dan mamak tercinta, Dasuki dan Sumiyati, 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.

Ayuk tersayang, Indah Septianingsih yang telah dan terus menjadi generator semangat dan motivasiku untuk terus berjuang serta menjadi salah satu donator dalam menyelesaikan proses perkuliahan. Semoga ayuk 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 sertapengalaman kepadaku selama menempuh pendidikan di kampus.

Rekan-rekan satu tim, 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 “Proses Enzimatis Separasi Selulosa Dari Limbah Bromelin Nanas Dan Produksi Gula Pereduksi Oleh Isolat *Actinomycetes* Halofilik.” 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, bapak dan mamak yang sangat berjasa karena selalu mendukung, mendo'akan, memotivasi, menjadi tempat berkeluh kesah, dan selalu berusaha memberikan yang terbaik kepada penulis.
Ucapan terimakasih tidak akan cukup mewakili rasa syukur penulis karena terlahir dan tumbuh sebagai putri yang selalu dididik untuk menjadi lebih baik setiap waktunya. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan, kesehatan, rezeki, kebahagiaan dunia akhirat, dan umur yang panjang sehingga dapat selalu bersama dalam suka maupun duka yang akan datang. Terimakasih untuk tidak menyerah dalam mendukung dan menemani penulis sejak awal penulis melihat dunia hingga saat ini.
3. Ayuk penulis yang selalu mendukung dan menyempatkan bertanya akan keadaan penulis. Terimakasih untuk selalu dapat memberikan solusi terbaik terhadap setiap permasalahan yang dihadapi penulis.
Terimakasih telah menjadi sosok ayuk yang selalu menjadi contoh baik dalam mengejar dunia dan akhirat, selalu menegaskan mana yang benar

dan salah, serta tidak pernah menyerah untuk mendidik penulis manja ini menjadi sosok yang lebih dewasa dan selalu menjadi motivasi penulis untuk tetap berusaha yang terbaik selama menjalani perkuliahan, meskipun terhalang jarak dan komunikasi yang terbatas, terimakasih telah menghibur dan menjadi penyemangat selama ini. Semoga selalu berbakti kepada orang tua dan sukses untuk dunia dan akhirat. Semoga selalu berada di jalur yang benar dan dilindungi oleh Allah SWT.

4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku 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, terimakasih kepada Pak Heri 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 D. Pandiangan, M.Si selaku pembimbing kedua penulis yang selalu membantu dalam menemukan jalan keluar di kala penulis berada di kondisi *stuck* selama penelitian. Terimakasih 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. Ilim, M.S. selaku pembahas atas kritik, saran, dan ilmu yang bermanfaat. Terimakasih 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. Ibu Hapin Afriyani, M. Si selaku pembimbing akademik atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis selama perkuliahan.
8. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia atas ilmu pengetahuan dan pengalaman yang sangat bermanfaat dan berharga kepada penulis selama menjadi mahasiswa jurusan kimia.

10. Keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan do'a dan dukungan kepada penulis dan kucing-kucing penulis, Moci, Popo, ibet dan Milki yang selalu memeluk penulis di kala sedih dan sepi.
11. Teruntuk sahabat terbaikku, Eny Ratnawati yang selalu menyempatkan waktu untuk mendengar segala keluh kesah penulis, serta tidak pernah lupa memberikan saran dan kritik terhadap permasalahan meskipun untuk setiap masalah yang selalu berulang. Terimakasih untuk segala kebaikan dan dukungan, serta tidak pernah menyerah akan emosiku yang labil. Terimakasih telah memahami emosi penulis dan menjadi teman bercerita yang menyenangkan. Terimakasih untuk setiap bimbingan, do'a, serta dukungan yang tidak berhenti hingga saat ini. Semoga kita akan menjadi sahabat selamanya dan dipertemukan kembali dalam keadaan dan pribadi yang terbaik.
12. Teman seperjuangan penelitian nanas *fighter* sekaligus teman gibah Suci Dera Jenita dan tim *Actinomyces* Tiara Putri Berliani dan Novi Purnama Sari dan teman berburu Es Teh. Terimakasih atas kesediaannya dalam berbagi tawa dan tangis selama penelitian dan perkuliahan. Atas segala arahan yang membuat penulis selalu termotivasi untuk bergerak maju dan tidak mudah menyerah. Terimakasih atas saran dan kritik yang selalu diberikan di setiap langkah penulis selama penelitian. Setiap perbincangan yang terselip di waktu luang dengan kalian menjadi memori yang tidak terlupakan dan terimakasih atas setiap tawa yang telah kita ukir bersama. Semoga dengan izin Allah SWT, kebersamaan ini akan terus terjaga dan semua mimpi kita dapat terwujud.
13. Teruntuk Mahen, melalui tulisan ini aku ingin mengucapkan terimakasih atas semua kerja keras, karya dan dedikasimu. Bagiku kamu bukan hanya sekedar seorang idola, tetapi juga sebagai inspirasi terbesarku. Setiap kali aku merasa lelah atau ragu, setiap musikmu akan menjadi pengingat bahwa setiap perjuangan itu akan berakhir indah pada waktunya. Terimakasih telah menjadi cahaya di saat aku merasa gelap aku akan selalu mendukungmu.
14. 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.

15. Teman-teman *Chemistry* '21 atas segala kehangatan, keceriaan, kebersamaan, semangat, dan pancaran bahagia yang diberikan kepada penulis selama perkuliahan. Semoga kita bisa sukses bersama.
16. Almamater tercinta Universitas Lampung.
17. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi.
18. Terakhir, teruntuk sosok penulis yang telah dan terus berjuang, serta berusaha tanpa menyerah. Selalu tawakal akan usaha yang telah dilakukan semampunya dalam menghadapi setiap tantangan dan ujian selama menjalani waktu perkuliahan, terimakasih telah berusaha memberikan yang terbaik dalam setiap langkah untuk meraih impianmu. Semoga akhir dari perjalanan ini menjadi awal yang baik untuk karir hidupmu maupun bekal untuk masa- masa yang akan datang.
19. Terimakasih 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. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, 27 Agustus
2025 Penulis

Anggun Marchella
NPM.2117011045

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Tujuan penelitian.....	3
1.3 Manfaat penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Limbah Bromelin Nanas	4
2.1.1 Hemiselulosa.....	6
2.1.2 Selulosa	6
2.1.3 Lignin.....	7
2.2 Enzim Selulase.....	8
2.3 Pengukuran Aktivitas Enzim Selulose.....	8
2.4 Hidrolisis.....	9
2.5 <i>Actinomyces</i>	10
2.6. Halofilik	10
2.7. <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD).....	11
2.8. Spektrofotometer UV- <i>Vis</i>	12
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan.....	14
3.3 Metode Penelitian	15
3.3.1 Preparasi Limbah Bromelin	15
3.3.2 Analisis Komponen Limbah Bromelin dengan Metode TAPPI	15
3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah Bromelin.....	17
3.3.4. Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i> Asal Mangrove.....	17

3.3.5. Produksi Glukosa dan Enzim Selulase	18
3.3.6 Pembuatan Kurva Standar Glukosa	19
3.3.7. Uji Kadar Glukosa dan Aktivitas enzim selulase	19
3.4. Diagram Alir	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1. Preparasi Limbah Bromelin.....	22
4.2. <i>Pretreatment</i> Limbah Bromelin	23
4.3. Komposisi Limbah Nanas Dengan Metode TAPPI	24
4.3.1 Kadar Lignin.....	25
4.3.2. Kadar Karbohidrat Total.....	26
4.4. Pengukuran Indeks Kristalinitas Selulosa Pada Bromelin Nanas	29
4.5 Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i>	32
4.6. Produksi Glukosa dan Uji Aktivitas Enzim Selulase	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan.....	40
5.2. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan senyawa dalam nanas	6
2. Perhitungan kadar lignin dalam limbah bromelin nanas.....	26
3. Perhitungan kadar karbohidrat total dalam limbah bromelin nanas.....	28
4. Indeks aktivitas selulolitik 13 isolat ActCK	34
5. Indeks aktivitas selulolitik	37
6. Data standar glukosa.....	48
7. Indeks aktivitas Selulolitik isolat <i>Actinomycetes</i>	49
8. Data aktivitas unit enzim selulase.....	52
9. Data puncak area kristalin selulosa sebelum <i>pretreatment</i>	52
10. Data daerah amorf dan kristalin selulosa sebelum <i>pretreatment</i>	53
11. Data puncak area kristalin sampel selulosa setelah <i>pretreatment</i>	54
12. Data daerah amorf dan kristalin sampel nanas setelah <i>pretreatment</i>	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi tanaman nanas	6
2. Struktur hemiselulosa	7
3. Struktur Lignin.....	8
4. Struktur Selulosa	8
5. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis.....	10
6. Spektrofotometer UV-Vis	13
7. Limbah bromelain sebelum preparasi	23
8. Presentase komposisi biopolymer limbah bromelin nanas.....	25
9. Limbah bromelin nanas (a) sebelum dan (b) Sesudah	28
10. Pola difraktogram sebelum dan sesudah <i>pretreatment</i>	31
11. Zona bening hasil penapisan isolat <i>Actinomyces</i> (a) ActCK-3, (b) ActCK-8, (c).ActCK-12 dan (d)ActCK2.....	36
12. Kadar glukosa pada sampel limbah bromelin nanas	37
12. Grafik indeks aktivitas selulolitik	38
13. Grafik indeks aktivitas selulolitik.....	39
14. Kurva standar glukosa.....	48
15. Hasil XRD bromelin nanas sebelum <i>pretreatment</i>	54
16. Hasil XRD bromelin nanas sesudah <i>pretreatment</i>	55

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Sebagai negara tropis, Indonesia memiliki hasil pertanian yang melimpah, salah satunya nanas. Pada tahun 2024 produksi nanas di Indonesia mencapai 3,16 juta ton, dengan provinsi Lampung menjadi penyumbang terbesar yaitu 722.847 ton menurut badan pusat statistik (BPS) 2024. Namun, pemanfaatan nanas masih terbatas pada bagian daging buahnya. Hal ini menimbulkan masalah limbah yang signifikan, dimana limbah bonggol dan kulit nanas mencapai 48,6% dari berat total (Marlina dkk., 2018).

Bonggol nanas merupakan biomassa lignoselulosa yang tersusun atas selulosa 24,53 %, hemiselulosa 28,53 % dan lignin sebesar 5,78% (Pardo *et al*, 2014). Kandungan selulosa yang relatif tinggi pada bonggol ini memberikan peluang pemanfaatan lignoselulosa sebagai sumber glukosa, yang dapat meningkatkan nilai ekonomis. Namun, tidak semua komponen lignoselulosa dapat diubah menjadi glukosa. Untuk mengoptimalkan produksi dari selulosa bonggol nanas, diperlukan tahapan eliminasi lignin dan hemiselulosa. Hal ini dilakukan mengingat lignoselulosa resisten terhadap hidrolisis enzimatik, sehingga memerlukan proses delignifikasi untuk meningkatkan efisiensi hidrolisis (Pardo *et al*, 2014).

Hidrolisis merupakan proses yang bertujuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa, yang akan dikonversi menjadi produk lain dengan bantuan mikroorganisme (Rilek *et al.*, 2017). Hidrolisis dapat dilakukan melalui hidrolisis enzimatik. Hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase, yang merupakan enzim kompleks yang bekerja dengan melepas unit-unit rantai selulosa, sedangkan endo- β -1,4-glukanase menghidrolisis selulosa secara acak menghasilkan glukosa. Enzim β -1,4-glukosidase kemudian

menghidrolisis selo-oligomer pendek lainnya untuk menghasilkan glukosa. Mekanisme ini, berperan penting dalam meningkatkan efisiensi proses hidrolisis enzimatik dan produksi glukosa dari biomassa lignoselulosa. Degradasi struktur kristal selulosa dapat meningkatkan aksesibilitas enzim terhadap substrat, sehingga memudahkan proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa juga dapat terdegradasi menjadi gula sederhana (Afdila dkk., 2014). Untuk mengoptimalkan konversi biomassa lignoselulosa menjadi gula pereduksi, diperlukan mikroba dengan aktivitas selulolitik yang tinggi, seperti *Actinomyces*, yang mampu mendegradasi selulosa secara efisien dan menghasilkan gula dari fermentasi.

Actinomyces merupakan salah satu kelompok bakteri yang ditemukan di ekosistem mangrove dan memiliki aktivitas selulolitik yang signifikan. Mikroba berfilamen ini dapat menembus jaringan tumbuhan, sehingga meningkatkan efisiensi dalam proses degradasi biopolimer alami. Hal ini memungkinkan *Actinomyces* untuk mendegradasi lignoselulosa secara efektif dengan memproduksi enzim selulase yang mampu memutuskan ikatan glikosidik dalam struktur selulosa dan hemiselulosa (Utarti dan Hesti, 2019). Aktivitas enzim selulase ini juga dapat mendegradasi hemiselulosa, sehingga menghasilkan selulosa yang lebih mudah dihidrolisis menjadi monomer glukosa (Satria dkk., 2010).

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi serta memanfaatkan *Actinomyces* terpilih dalam produksi enzim selulase untuk mendegradasi hemiselulosa dan selulosa menjadi monomer glukosa melalui proses hidrolisis biomassa lignoselulosa yang berasal dari limbah bromelin nanas. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat menyediakan alternatif dalam produksi gula pereduksi dengan memanfaatkan isolat *Actinomyces* yang memiliki aktivitas selulolitik. Pemanfaatan limbah sebagai sumber biomassa lignoselulosa tidak hanya berpotensi meningkatkan produksi gula pereduksi, tetapi juga dapat mengurangi dampak lingkungan yang ditimbulkan oleh limbah industri. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki signifikansi dalam pengembangan teknologi bioproses yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

1.2 Tujuan penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

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

1.3 Manfaat penelitian

Adapun manfaat penelitian ini yaitu sebagai berikut

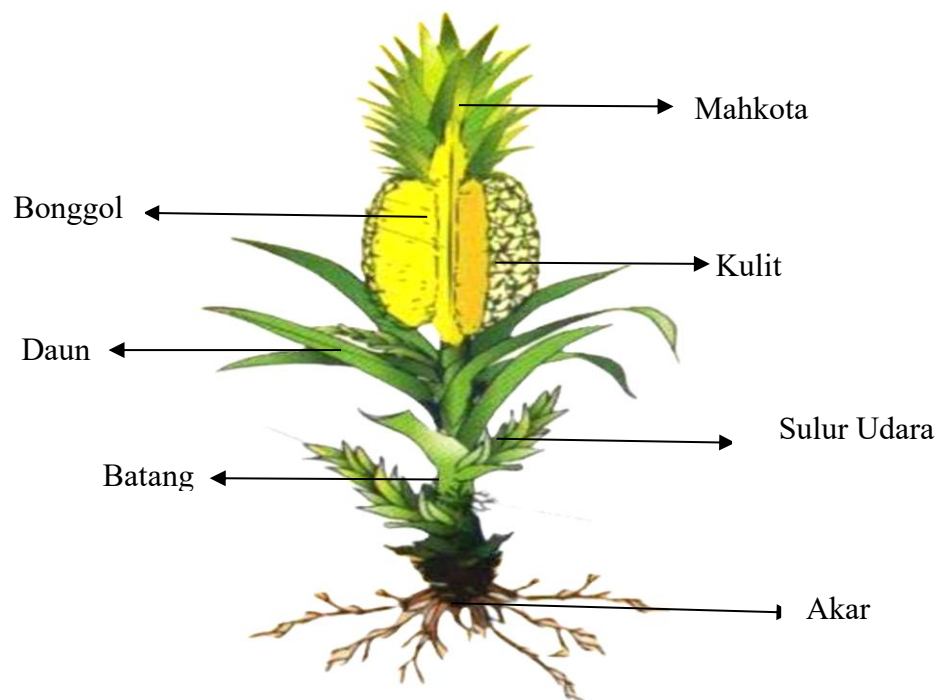
1. Memberikan informasi tentang komposisi limbah bromelain nanas.
2. Memberikan informasi tentang isolat *Actinomyces* yang memiliki aktivitas selulolitik tinggi.
3. Memberikan informasi tentang indeks kristalinitas selulosa dari limbah bromelin nanas sebelum dan sesudah *pretreatment*
4. Memberikan informasi tentang potensi produksi gula pereduksi dari limbah bromelain nanas menggunakan isolat *Actinomyces*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Limbah Bromelin Nanas

Nanas (*Ananas comosus L.*) adalah komoditas buah konsumsi yang kaya biopolimer, termasuk selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Indonesia merupakan salah satu produsen nanas terbesar di dunia, dengan kontribusi sebesar 23% dari total produksi global. Berdasarkan data *Agricultural Technology Transfer and Adoption Program (ATTAP)*, Pada tahun 2020 produksi nanas mencapai 2,08 juta ton (Harahap *et al.*, 2019). Jumlah yang signifikan ini menunjukkan adanya peluang besar untuk memanfaatkan bagian nanas yang selama ini terabaikan, guna meningkatkan nilai ekonomis dan mengurangi dampak lingkungan.

Menurut Murni *et al.* (2008), limbah nanas dapat mencapai 60-80% dari total produksi buah nanas, dengan komposisi 56% kulit, 17% mahkota, 15% pucuk, dan 5% ampas. Sehingga dari 261,18 ton buah nanas yang dihasilkan, akan diperoleh 145,26 ton limbah nanas yang belum termanfaatkan secara optimal. Oleh karena itu, identifikasi kandungan senyawa dalam limbah nanas dapat mengurangi dampak lingkungan yang ditimbulkan. Limbah nanas mengandung tiga komponen biopolimer utama, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin, yang berpotensi untuk diolah menjadi produk bernilai ekonomis, sehingga dapat mengurangi dampak lingkungan dari limbah nanas.



Gambar 1. Morfologi tanaman nanas (Arraniry dkk., 2014)

Dalam limbah buah nanas seperti makota, kulit, bonggol, dan daun nanas yang sering diabaikan, terkandung biopolimer melimpah seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin. Jumlah kandungan biopolimer tersebut dapat dilihat pada Table 1

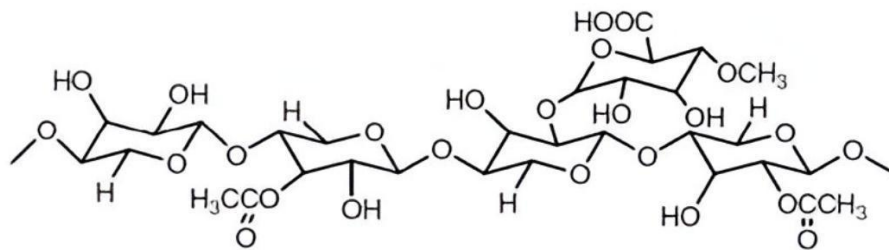
Tabel 1. Kandungan biopolimer dalam nanas (Aprilyanti, 2018)

No	Komposisi biopolimer	Kandungan (%)
1	Hemiseluosa	20 - 30
2	Selulosa	48 – 80
3	Lignin	10 - 28

Berdasarkan pada Tabel 1 selulosa merupakan biopolimer terbesar yang terkandung dalam buah nanas yaitu sebesar 48 – 80% serta kandungan biopolimer lainnya yang terdiri dari hemiselulosa sebesar 20 – 30 % dan lignin sebesar 10 – 28 %.

2.1.1 Hemiselulosa

Hemiselulosa termasuk dalam polisakarida yang berada pada sel-sel dinding tumbuhan, hemiselulosa tersusun dari monomer seperti D-glukosa, D-mannosa, D-galaktosa, dan pentosa. Oleh karena itu hemiselulosa tergolong dalam kelompok polisakarida melalui jalur biosintesis dari selulosa (Bina dkk., 2023).

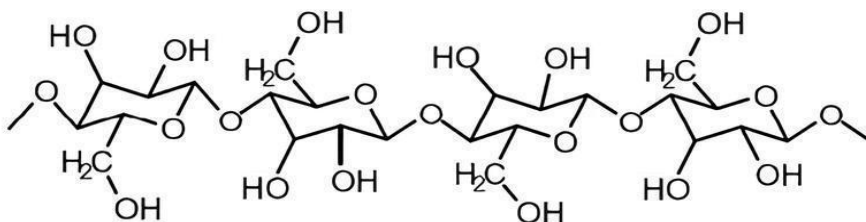


Gambar 2. Struktur hemiselulosa (Bina dkk., 2023)

Struktur hemiselulosa yang tidak stabil menyebabkan hemiselulosa mudah untuk di hidrolisis di bandingkan dengan selulosa. Proses ini akan melepas monomer-monomer gula penyusunnya, sehingga menghasilkan kumpulan gula pereduksi yang beragam seperti glukosa (Octavia, 2008)

2.1.2 Selulosa

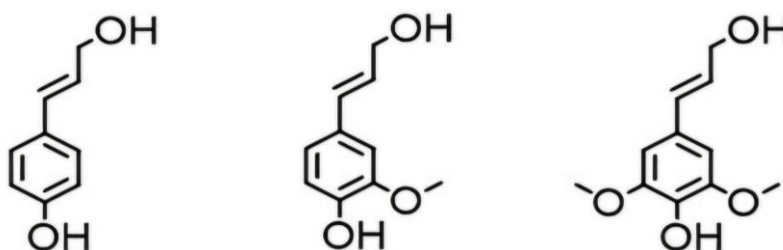
Selulosa umumnya akan ditemukan bersamaan dengan lignin dan polisakarida lainnya seperti hemiselulosa yang berpotensi menghasilkan gula pereduksi (Arifin *et al.*, 2019). Konversi selulosa menjadi gula pereduksi seperti glukosa dapat dilakukan melalui hidrolisis enzimatis. Setiap unit glukosa dalam rantai selulosa berada dalam ikatan β -1,4- glikosidik menjadi target utama dalam proses hidrolisis enzimatis untuk melepaskan unit-unit glukosa. Dengan memanfaatkan enzim selulase, ikatan-ikatan dalam selulosa dapat dipecah menjadi monomer gula sederhana yang dapat difermatasi menjadi gula pereduksi (Oliveira *et al.*, 2016).



Gambar 3. Struktur selulosa (Oliveira *et al.*, 2016).

2.1.3 Lignin

Lignin merupakan salah satu dari polimer tiga dimensi yang terbentuk dari fenol propana dengan ikatan eter. Fungsi utama dari lignin yaitu sebagai perekat yang akan terletak di antara sel sel sehingga akan mengikat atau menghilangkan setiap sel dalam tumbuhan. (Kismeti dkk., 2016).



Gambar 4. Struktur Lignin (Daulay, 2009)

Lignin pada tanaman nanas, terutama di bagian daun dan kulit berfungsi sebagai elemen struktural yang memberikan kekuatan pada bagian daun. Lignin yang terkandung di dalam serat daun nanas berkisar antara 12% hingga 17% (Daulay, 2009). Untuk dapat mengisolasi selulosa dari limbah nanas, proses delignifikasi sering dilakukan, untuk menghilangkan lignin dan hemiselulosa (Sumiati dkk., 2023). Lignin juga dapat menjadi penghambat dalam proses degradasi lignoselulosa dengan enzim untuk memperoleh selulosa sehingga di perlukan interaksi antara lignin dan molekul yang dapat menurunkan kemampuan enzim untuk menghidrolisis selulosa (Darojati, 2017)

2.2 Enzim Selulase

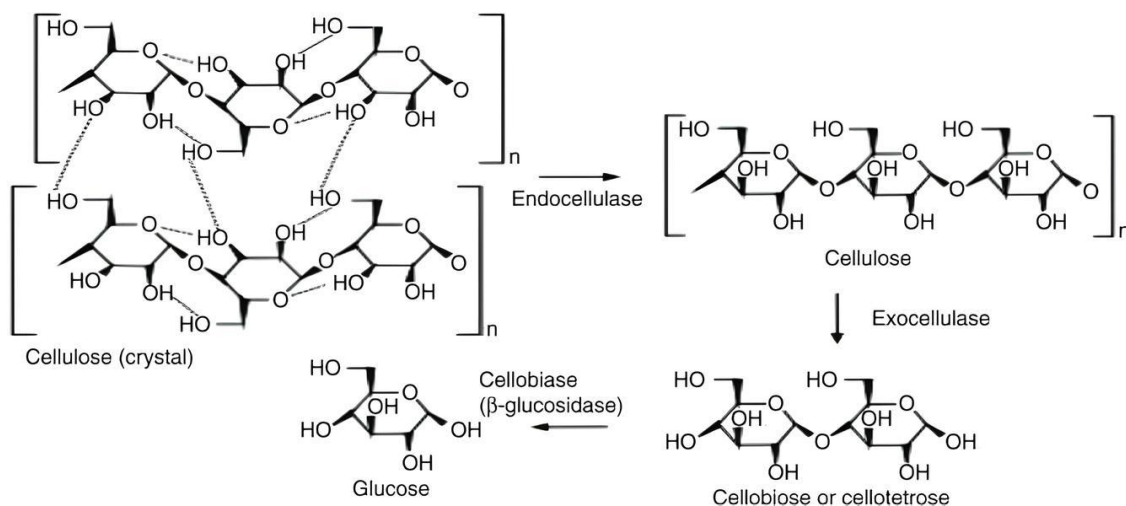
Enzim selulase merupakan enzim induktif yang memerlukan adanya induser dalam media fermentasi. Induser tersebut berfungsi untuk merangsang pembentukan enzim selulase pada sel mikroba (Adri *et al.*, 2013). Enzim selulase terdiri dari sistem enzim yang kompleks, meliputi endo-1,4- β -glukanase, ekso-1,4- β -glukanase, dan β -D-glukosidase. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis untuk mendegradasi selulosa dan menghasilkan gula pereduksi sebagai produk akhir. Endo-1,4- β -glukanase memecah ikatan dalam rantai selulosa, menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek. Ekso-1,4- β -glukanase memotong ujung rantai selulosa untuk menghasilkan molekul selobiosa, sementara β -D-glukosidase memecah molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Purkan *et al.*, 2015). Kerja sama antara ketiga enzim ini memungkinkan degradasi selulosa yang efektif dan produksi gula pereduksi yang optimal.

2.3 Pengukuran Aktivitas Enzim Selulose

Pengukuran aktivitas enzim selulase merupakan aspek penting dalam bidang biokimia terkait dengan hidrolisis selulosa menjadi gula sederhana. Metode yang umum digunakan melibatkan inkubasi enzim dengan substrat selulosa dan turunannya seperti karboksimetil selulosa (CMC) pada kondisi pH dan suhu optimal (Saha, 2014). Pelepasan produk reduksi, yaitu gula pereduksi kemudian diukur menggunakan reagen dinitrosalisilat (DNS) yang akan bereaksi dengan gugus aldehida dan keton pada gula, membentuk kompleks berwarna yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Validasi hasil pengukuran aktivitas selulase sangat penting untuk memastikan keakuratan data, sehingga diperlukan kurva standar gula pereduksi yang berfungsi sebagai referensi kuantitatif dalam mengkonversi nilai absorbansi hasil pengukuran menjadi konsentrasi gula pereduksi yang akurat (Rahman *et al.*, 2011).

2.4 Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses yang bertujuan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa, yang selanjutnya dapat dikonversi menjadi produk lain dengan bantuan mikroorganisme (Rilek *et al.*, 2017). Hidrolisis dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu hidrolisis enzimatik dan hidrolisis asam. Namun, hidrolisis enzimatik memiliki beberapa kelebihan dibandingkan hidrolisis asam. Hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase, yang merupakan enzim kompleks yang terdiri dari eksoselulase, endoselulase, dan β -1,4-glukosidase. Eksoselulase atau selobiohidrolase bekerja dengan melepas unit-unit selobiosa dari ujung rantai selulosa, sedangkan endoselulase atau endo- β -1,4-glukanase menghidrolisis selulosa secara acak menghasilkan selodekstrin, selobiosa, dan glukosa. Enzim β -1,4-glukosidase atau selobiase kemudian menghidrolisis selobiosa dan selo-oligomer pendek lainnya untuk menghasilkan glukosa (Nugharini *et al.*, 2016). Kerja sama antara ketiga enzim ini memungkinkan hidrolisis selulosa yang efektif dan produksi glukosa yang optimal. Untuk mengoptimalkan konversi biomassa lignoselulosa menjadi gula pereduksi, diperlukan mikroba dengan aktivitas selulolitik yang tinggi, seperti *Actinomycetes* (Rahman *et al.*, 2011)



Gambar 5. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik (Basak *et al.*, 2021)

2.5 *Actinomycetes*

Actinomycetes merupakan kelompok bakteri Gram positif berfilamen yang memiliki peran penting dalam degradasi lignoselulosa melalui produksi multienzim hidrolitik, terutama enzim selulase dan ligninase. Enzim-enzim ini memungkinkan *Actinomycetes* untuk menghidrolisis komponen utama lignoselulosa seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang membentuk struktur kompleks dinding sel tumbuhan. Kemampuan ini didukung oleh struktur filamen (Amin *et al.*, 2018). *Actinomycetes* yang memudahkan penetrasi jaringan tanaman, sehingga meningkatkan efisiensi degradasi biopolimer alami. Mikroorganisme ini mampu menghasilkan sistem enzim hidrolitik. Enzim-enzim ini memungkinkan dekomposisi struktur kompleks lignoselulosa menjadi gula sederhana melalui proses delignifikasi (Naikpatil *et al.*, 2011)

2.6. Halofilik

Actinomycetes halofilik merupakan kelompok bakteri Gram positif yang dapat bertahan dan tumbuh optimal pada lingkungan dengan kadar garam tinggi. Adaptasi fisiologis mereka memiliki kemampuan produksi metabolit sekunder yang beragam, termasuk antibiotik dan enzim hidrolitik, yang berperan penting dalam interaksi ekologis dan pengendalian mikroorganisme patogen. *Actinomycetes* halofilik juga memiliki peran ekologis dalam menjaga keseimbangan mikrobiota dan mendukung kesehatan ekosistem bakau (Anggraini, 2015).

Actinomycetes halofilik mampu membentuk spora yang tahan terhadap kondisi ekstrim, termasuk kekeringan dan salinitas tinggi. Pertumbuhan *Actinomycetes* halofilik bervariasi, tetapi umumnya antara pH 6,5-8,0 dan suhu 25-30°C. Habitat *Actinomycetes* halofilik sangat luas, mencakup tanah, kompos, sedimen, dan rizosfer tanaman di lingkungan dengan salinitas tinggi. Peran ekologis *Actinomycetes* halofilik sangat penting dalam siklus biogeokimia, dekomposisi bahan organik, dan degradasi polimer kompleks. Selain itu, kemampuan mereka menghasilkan senyawa bioaktif menjadikan

Actinomycetes halofilik sumber potensial untuk pengembangan antibiotik dan agen biokontrol. Oleh karena itu, studi lebih lanjut mengenai *Actinomycetes* halofilik sangat diperlukan untuk memahami mekanisme adaptasi mereka dan potensi aplikasinya dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan dan teknologi

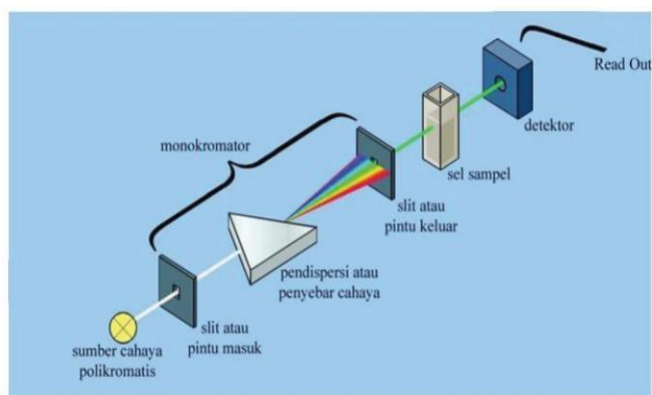
2.7. X-Ray Diffraction (XRD)

Difraksi sinar-X adalah metode karakterisasi material yang bergantung pada hamburan koheren sinar-X oleh awan elektron dan interferensi konstruktif yang terjadi antara sinar-X yang dipantulkan oleh deretan atom dalam kristal. Metode ini menggunakan sinar-X yang dihamburkan pada sudut tertentu (sudut *Bragg*) oleh atom-atom yang tersusun dalam sistem kristal. XRD dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif, serta untuk menentukan determinan senyawa dalam campuran. Difraksi sinar-x memiliki beberapa keunggulan utama yaitu lebih spesifik terhadap komposisi kimia dan struktur kristal material (Setianingsih dan Sutarno, 2018).

Instrumen XRD merupakan teknik yang sangat efektif untuk menganalisis struktur selulosa karena memanfaatkan sifat semi-kristalin polimer ini. Ketika sinar-X mengenai sampel selulosa, sinar tersebut akan mengalami difraksi pada sudut-sudut tertentu oleh daerah-daerah kristalin yang teratur, sesuai dengan Hukum *Bragg*, menghasilkan puncak-puncak tajam pada difraktogram. Pola difraksi yang spesifik ini memungkinkan identifikasi polimorf selulosa yang berbeda yang masing-masing memiliki susunan molekuler unik. Selain itu, dengan menganalisis intensitas dan lebar puncak difraksi, XRD memungkinkan penentuan derajat kristalinitas (CrI), yaitu perbandingan antara daerah kristalin dan amorf, serta ukuran kristalit selulosa. Informasi ini sangat krusial karena derajat kristalinitas dan ukuran kristalit secara signifikan memengaruhi sifat fisik, mekanik, dan kimia selulosa, seperti kekuatan, stabilitas termal, dan reaktivitasnya dalam berbagai aplikasi industri dan penelitian (Agarwal *et al.*, 2016)

2.8. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV- *Vis* merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengukur serapan cahaya oleh sinyal sampel dengan panjang gelombang ultraviolet. Interaksi yang terjadi antara senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan cahaya tampak dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa tersebut. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar ini adalah elektron-elektron yang terikat dan elektron-elektron non-ikatan (elektron bebas). Sinar ultraviolet dan cahaya tampak membawa energi yang, ketika mengenai elektron-elektron tersebut, dapat mengeksitasi elektron dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Proses eksitasi ini dicatat dalam bentuk spektrum yang dinyatakan dalam panjang gelombang dan serapan, sesuai dengan jenis elektron yang ada dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron untuk tereksitasi, semakin besar panjang gelombang yang diserap maka semakin banyak elektron yang tereksitasi, semakin tinggi nilai serapan. Dalam spektrofotometri UV-*Vis*, terdapat beberapa istilah yang berkaitan dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik (pergeseran merah), efek hipokromik (pergeseran biru), hipsokromik, dan hipokromik(Suharti, 2017).



Gambar 6. Spektrofotometer UV-*Vis* (Suharti, 2017)

2.9. Metode *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI)

Metode *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI) merupakan metode yang memainkan peran penting dalam analisis komponen biomassa, khususnya untuk bahan baku lignoselulosa. Standar TAPPI menyediakan prosedur terperinci untuk mengukur kadar selulosa, hemiselulosa, dan lignin, yang merupakan komponen struktural utama biomassa. Misalnya, TAPPI T 222 adalah metode standar untuk penentuan lignin tak larut dalam asam (Klason lignin), sementara metode lain berfokus pada analisis karbohidrat untuk mengidentifikasi selulosa dan hemiselulosa. Di samping itu, terdapat pula beberapa metode-metode TAPPI lain yang difokuskan pada analisis karbohidrat guna mengidentifikasi secara akurat kandungan selulosa dan hemiselulosa (Sjostrom, 1993).

Akurasi dalam penentuan komponen-komponen ini sangat penting karena memengaruhi potensi pemanfaatan biomassa untuk berbagai aplikasi (Biermann, 1996). Penggunaan standar TAPPI memastikan konsistensi dan komparabilitas data antar penelitian dan industri, yang esensial untuk optimalisasi proses biorefinery dan pengembangan produk berbasis biomassa yang berkelanjutan (TAPPI, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga Mei 2025 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Penelitian menggunakan biomassa limbah bromelin nanas dari PT.Great Giant Paineppel Isolat *Actinomyces* diisolasi dari tanah mangrove di hutan mangrove CukuNyiNyi. Analisis karakter substrat tepung bromelin menggunakan *X-Ray Diffractometer (XRD)*. Analisis penentuan konsentrasi gula pereduksi menggunakan Spektrofotometer UV-*Vis* dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain : low temperature freezer (lab freez), Laminar Air Flow (LAF) Airtech HVS-1300, autoclave GEA LS-35 L EDWN 63, *water bath* (Mammert W 350), oven (T60 Heracus), *Shaker Labtech* LSI EDAM 97, Inkubator Precistern P'selecta, Sentrifuse Hermle Z327K, spektrofotometer Uv-*Vis* (Shimadzu UV-1780), *X-Ray Diffraction (XRD)*, magnetic stirrer CB161 Stuart, neraca analitik DJ-V220A, pH METER (pH mobile 827 Metrohm), hot plate, blender (philips), grinder, gelas, beaker berbagai volume, Erlenmeyer, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur berbagai volume, pipet tetes, mikropipet, spatula, neraca analitik, termometer, jarum ose, cawan petri, corong, rak tabung reaksi, mortal dan alu.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : adalah substrat bromelin nanas, sedimen tanah mangrove, asam sulfat pekat (H_2SO_4), kalsium karbonat (CaCO_3), media *International Streptomyces Project-2* (ISP-2 *carboxymethyl cellulose* (CMC), *natrium klorida* (NaCl), *Congo-red*, glukosa, indikator metil merah, fenol, ampicillin, kandistatin, alkohol, spirtus, kapas dan kasa, dinitrosalisilat (DNS), buffer fosfat pH 7, indikator universal, alumunium foil, kertas saring, dan akuades.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Preparasi Limbah Bromelin

Limbah bromelin nanas dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari. Setelah itu, dipotong kecil-kecil agar mudah dihaluskan menggunakan grinder menjadi tepung bromelin. Tepung tersebut kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh (250 μm) dan disimpan dalam wadah tertutup.

3.3.2 Analisis Komponen Limbah Bromelin dengan Metode TAPPI

3.3.2.1 Hidrolisis asam

Sebanyak 300 mg tepung bromelin ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berkapasitas 50 mL, kemudian ditambahkan 7 mL asam sulfat (H_2SO_4) 72%. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan distirer selama 90 menit. Setelah proses distilasi, campuran dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL dan dicampur dengan 199 mL akuades untuk mengencerkan asam menjadi 4%. Campuran kemudian dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 1 jam. Hasil dari proses ini adalah filtrat (lignin terlarut) dan pengendapan (lignin tidak terlarut). Filtrat dan endapan dikeluarkan menggunakan kertas saring yang telah

ditimbang sebelumnya. Setelah endapan dicuci dengan 50 mL akuades untuk melarutkan zat-zat lain yang dapat larut dalam air.

3.3.2.2. Analisis lignin larut

Absorbansi filtrat hasil hidrolisis diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 240 nm. Sampel diencerkan dengan akuades agar nilai serapan berada pada kisaran 0,7-1,0. Jumlah lignin larut asam (LLA) dapat dihitung dengan menggunakan Persamaan 1 dan 2.

$$\text{Soluble Lignin} = \frac{UV \text{ abs} \times V \text{ filtrat} \times \text{Pengenceran}}{\epsilon \times ODW \text{ sampel} \times \text{Lebar kuvet}} \quad (1)$$

$$\text{Pengenceran} = \frac{V \text{ sampel} + V \text{ pelarut}}{V \text{ sampel}} \quad (2)$$

Keterangan:

- LLA adalah lignin larut asam (%)
- abs adalah absorbansi UV-*Vis*
- Volume filtrat adalah filtrat hasil hidrolisis (mL)
- ϵ adalah absorptivitas biomassa
- Sampel ODW adalah berat sampel (mg)
- lebar kuvet yang digunakan adalah 1 cm.

3.3.2.3. Analisis lignin tidak larut

Endapan yang tertinggal pada kertas saring yang telah dicuci dikeringkan dalam oven hingga mencapai berat konstan, sekitar 4 jam. Setelah itu, kertas saring ditimbang, kemudian dicatat beratnya. Untuk menghitung jumlah lignin tidak larut asam, digunakan Persamaan 3.

$$\text{Insoluble Lignin} = \frac{\text{Berat endapan akhir hidrolisis}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\% \quad (3)$$

3.3.2.4. Analisis karbohidrat total

Filtrat hasil hidrolisis dinetralkan dengan menambahkan kalsium karbonat secara perlahan hingga mencapai pH 5-7 dalam gelas beaker berkapasitas 500 mL ke dalam filtrat dan diaduk menggunakan pengaduk magnetik. Setelah pH mencapai 5-7, penambahan kalsium karbonat dihentikan dan sampel dibiarkan hingga mengendap. Filtrat kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang (λ) 540 nm dengan mereaksikan sampel menggunakan reagen DNS dan diinkubasi selama 15 menit.

3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah Bromelin

Pengukuran kristalinitas tepung bromelin dilakukan melalui analisis XRD. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui struktur kristal selulosa dalam tepung bromelin yang telah menjalani proses *pre-treatment* secara fisik. Indeks kristalinitas selulosa dapat dihitung menggunakan metode empiris dengan rumus yang terdapat pada 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* Asal Mangrove

Penapisan isolat *Actinomyces* dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik. Proses penapisan dilakukan dengan menggunakan media ISP-2 ditambahkan CMC (untuk uji aktivitas selulolitik). Media tersebut disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu ditambahkan ampicilin sebagai anti bakteri dan satu tetes kandistatin sebagai anti jamur. Campuran tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak ± 20 mL dan dibiarkan hingga kental. Isolat murni hasil isolasi ditotolkan pada media yang telah disiapkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5-7 hari. Setelah inkubasi, media yang telah ditumbuhi bakteri disiram dengan *Congo-red* selama 15 menit untuk menghidrolisis selulosa dalam media CMC

menjadi glukosa, yang membentuk zona bening di sekitar koloni. Media kemudian dibilas dengan NaCl 1% untuk memperjelas zona bening yang terbentuk agar lebih mudah diamati. Zona bening yang muncul di sekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki aktivitas selulolitik. Setelah zona bening terbentuk, indeks aktivitas selulolitik dan xilanolitik diukur dengan 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 *Actinomyces* dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat terpilih ke dalam media fermentasi ISP-2. Pada media tersebut ditambahkan biomassa limbah bromelin nanas sebanyak 1 gram yang telah dilarutkan dalam akuades. Sebagai kontrol, perlakuan serupa juga dilakukan dengan penambahan CMC pada Erlenmeyer terpisah. Proses pelarutan bahan dibantu dengan pemanasan menggunakan hot plate, kemudian media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi, isolat *Actinomyces* diinokulasikan ke dalam media dan diinkubasi menggunakan shaker. Proses pemanenan enzim dilakukan setiap 24 jam selama 7 hari. Produk yang dihasilkan selanjutnya dipisahkan dari biomassa sel dengan cara 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. Proses analisis dilakukan dengan memasukkan sebanyak 0,5 mL larutan enzim yang telah diekstraksi ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,5 mL larutan CMC sebagai substrat. Campuran reaksi kemudian diinkubasi dalam waterbath pada suhu 37°C selama 30 menit untuk memberikan waktu yang cukup agar reaksi hidrolisis berlangsung secara optimal. Setelah masa inkubasi berakhir, penambahan 1 mL reagen DNS dilakukan untuk menghentikan aktivitas enzim sekaligus berfungsi sebagai pereaksi pembentuk warna merah kompleks, menandakan keberadaan gula pereduksi hasil hidrolisis.

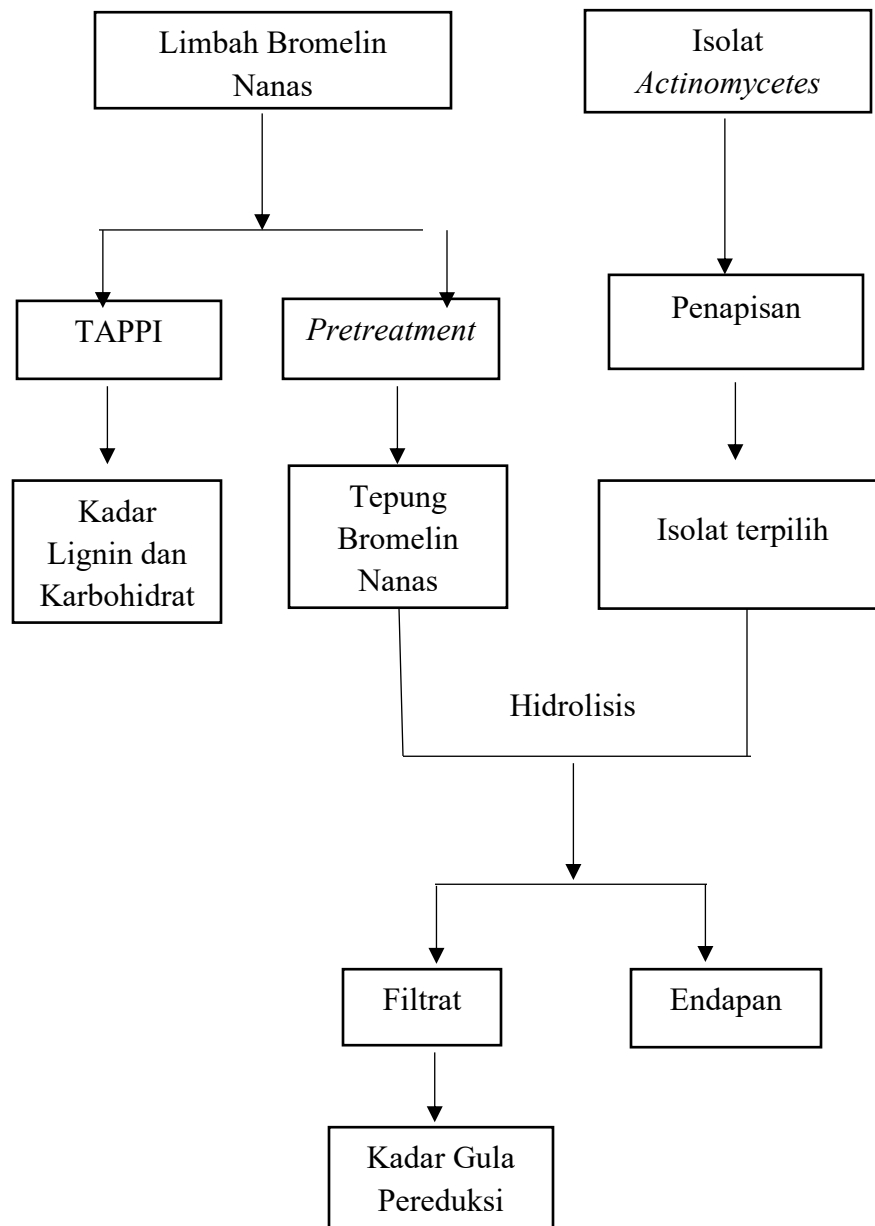
Selanjutnya, campuran reaksi tersebut dipanaskan didalam air mendidih selama 15 menit untuk memastikan terjadinya reaksi antara glukosa hasil hidrolisis dengan reagen DNS sehingga warna yang terbentuk menjadi maksimal. Setelah proses pemanasan selesai, tabung reaksi didinginkan secara perlahan hingga mencapai suhu ruang untuk mengstabilkan warna yang terbentuk. Tahap berikutnya adalah melakukan pengenceran sampel sebanyak 10 kali lipat, yakni dengan mencampurkan 0,5 mL hasil reaksi dengan 4,5 mL akuades, agar konsentrasi glukosa berada dalam rentang yang dapat dideteksi dengan baik oleh spektrofotometer. UV-*Vis* dengan panjang gelombang 540 nm. Dalam analisis biokimia, aktivitas selulase dievaluasi melalui serangkaian proses yang akurat dan terstandarisasi. Penentuan aktivitas ini secara presisi didasarkan pada konversi nilai absorbansi yang diperoleh. Nilai absorbansi yang diperoleh dari hasil pengukuran ini berkaitan dengan konsentrasi

glukosa standar yang telah ditetapkan sebelumnya melalui kurva kalibrasi. Selanjutnya, untuk memperoleh besaran aktivitas enzim yang kuantitatif dan terpercaya, data yang telah dikonversi tersebut diolah lebih lanjut dengan mengaplikasikan suatu persamaan spesifik yang relevan dengan metode pengujian yang digunakan. kemudian dihitung dengan menggunakan Persamaan 6.

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

3.4. Diagram Alir

Adapun diagram alir dari penelitian ini adalah sebagai berikut:



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan lignoselulosa pada limbah bromelin nanas telah dianalisis dengan metode TAPPI yang terdiri dari karbohidrat dan lignin berturut-turut sebesar 50,21% dan 39,16%.
2. Isolat *Actinomyces* terpilih diperoleh dengan kode ActCK-21 yang diisolasi dari sedimen mangrove memiliki aktivitas selulolitik dari hasil penapisan yaitu 0,471 dengan aktivitas enzim selulase sebesar 4,50 U/mL.
3. Hasil pengukuran kristalinitas selulosa sebelum dan sesudah *pretreatment* menunjukkan peningkatan kristalinitas dimana sebelum *pretreatment* yaitu 3,11% dan sesudah *pretreatment* 5,38%.
4. Tahap hidrolisis dilakukan dengan memanfaatkan enzim yang dihasilkan oleh isolat ActCK-21 pada kondisi waktu optimum hidrolisis pada hari ke-2 sehingga menghasilkan konsentrasi gula pereduksi maksimum sebesar 12,18 mg/ml.

5.2. Saran

Pada penelitian ini gula pereduksi telah berhasil diperoleh dari hidrolisis selulosa pada limbah bromelin nanas dengan kadar sebesar 12,18 mg/ml meskipun demikian, kadar ini belum optimal karena hanya berfokus pada parameter waktu. Untuk dapat meningkatkan perolehan gula pereduksi, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan mengamati dan mengoptimalkan parameter lain seperti konsentrasi enzim, inokulum, dan konsentrasi substrat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afdila, N., Salim, M dan Chaidir, Z. 2014. Produksi Bioetanol Menggunakan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* Dari Limbah Kulit Nanas Dengan Perlakuan Basa. *Jurnal kimia* Unand. 3(1): 2303–3401.
- Agarwal, U. P., Ralph, S. A., & Reiner, R. S. (2016). Cellulose crystallinity. In *Lignocellulosic Biorefining: A Process Perspective* (59-78).
- Ali, M., Budi, S., & Cahya, D. (2020). Analisis komponen kimia kayu akasia (Acacia mangium) menggunakan metode standar TAPPI. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu*, 15(1), 45-56.
- Amin, B., Dako, R., Paino, C., Block, D. D., Utina, R., Katili, A. S., Baderan, D. W, K dan lapolo, N. 2018. *Dinamika Pengelolaan Ekosistem Mangrove Di Provnsi Gorontalo*. Ideas Publishing. Gorontalo.
- Amrita, K., Nitin, J., Devi, C. 2012. Novel Bioactive Compounds from Mangrove Derived *Actinomyces*. *Research Journal Pharmacology*. 3(9): 25–9.
- Andrade, P., Silva, R., Costa, L., & Oliveira, M. (2025). Potensi ekstraksi bromelain dan analisis indeks kristalinitas selulosa dari limbah nanas. *Jurnal Teknologi Pangan dan Bioindustri*, 12(1), 45-58.
- Anggraini, W. 2015. Isolasi *Actinomyces* Menggunakan Metode Skrining Sebagai Penghasil Enzim Kitinase. *Jurnal ilmiah Pendidikan Fisika*. 4(1): 85-95.
- Apriliyanti, S. 2018. Pengaruh Konsentrasi NaOH Dan Waktu Hidrolisis Terhadap Kadar Selulosa Pada Daun Nanas. *Jurnal Teknik Industri*. 1(24): 28-31.
- Arifin, Z., Gunam, I, B, W., dan Setyo, Y. 2019. Isolasi Bakteri Selolitik Pengdegradasi Selulosa Dari Kompos. *Jurnal Rekayasa dan Management Agroindustri*. 7(1): 30-37.
- Arraniry, B. A., T. Nurhidayati dan D. Metusala. 2013. Perbandingan Anatomi Akar dan Daun Pada Anggrek Epifit dan Terrestrial: Studi Kasus Beberapa Spesies Anggota Genus *Liparis* dan *Malaxis* (Orchidaceae). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1)

- Bina, M. R., Syarudin., Sahara, L. O dan Sayuti, M. 2023. Kandungan Selulosa, Hemiselulosa Dan Lignin Dalam Selulase Rasnum Komplit Dengan Taraf Jerami Sorgum Yang Berbeda. *Journal Of Equatorial Animals*. 2(1): 44–53.
- Biermann, C. J. (1996). Handbook of Pulping and Papermaking. Academic Press.
- Darojati, S. (2017). Ekstraksi dan karakterisasi lignin dari limbah padat biomassa kayu mahoni (*Swietenia mahagoni*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Hutan*, 10(3), 150-162.
- Daulay, S. (2009). Pemanfaatan lignin dari limbah industri kertas sebagai bahan adsorben. *Jurnal Ilmu Material*, 8(3), 112-125
- Gupta, S., & Mishra, A. K. (2020). Microbial Cellulases: Production, Properties, and Applications. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 12(2), 80-92.
- Harahap *et al.* Kultur Jaringan Nanas. Surabaya: Media Sahabat Cendekia. 2019.
- Hidayat, P., 2013. *Teknologi Pemanfaatan Serat Daun Nanas sebagai Alternatif Bahan Baku Tekstil*. Yogyakarta . Tektonin.
- Hidayatulloh, A., Yahdiyani, N., & Nurhayati, L. S. (2022). Isolasi dan Seleksi Bakteri Kandidat Selulolitik Dari Proses Pembuatan Pupuk Organik Pada Pengolahan Limbah Peternakan. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 3(2), 65-72.
- Jamil, S. N. A., et al. (2020). Characterization of pineapple peel waste for sustainable bioproducts. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 103-118.
- Johnson, L. M., & Lee, K. S. (2022). Substrate Utilization Patterns in Bacterial Growth Curves. *Biotechnology Reports*. 15(3), 75-82.
- Kementrian Pertanian RI. 2016. Outlook Nanas. [Online]. Tersedia dari <https://epublikasi.sekjen.pertanian.go.id>
- Kim, Y., et al. (2016). Compositional analysis of agricultural residues for biofuel production. *Journal Industrial Crops and Products*, 93, 716-724.
- Schuman, D., Kramer, F., Hebler, N., Hornung, M., Schmauder, H.P., and Marsch, S. 2006. Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application. *Journal Of Biotechnology*. 20(5): 49-96.
- Kismet, P., Lestari, S., & Widodo, B. (2016). Isolasi dan karakterisasi lignin dari limbah ampas tebu sebagai bahan baku bioplastik. *Jurnal Kimia Terapan*, 8(1), 45-58.
- Kurniati, y., Khasanah, L, Y dan Firdaus, k. 2021. Kajian Pembuatan Bioetanol Dari Limbah Kulit Nanas. *Jurnal Tehnik Kimia*. 10(2): 95-101.

- Nisa, N. S., Irdawati, Putri, D. H., Hadayani, D dan Yusrizal, y. 2022. Potensi Xilanase Bakteri Termofilik Sebagai Pemutih Kain Ramah Lingkungan. *Jurnal Biologi*. 7(1): 35-43.
- Nazir, N., Lestari, S. D., & Fitriani, R. (2017). Analisis kadar lignin pada berbagai jenis serat tanaman untuk aplikasi biokomposit. *Jurnal Ilmu Material*, 12(3), 45-58.
- Marlina, N., Suryani, A., & Astuti, R. (2018). Peningkatan produksi dan kualitas nanas (*Ananas comosus* L.) melalui aplikasi pupuk organik dan anorganik. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 10(2), 75-88
- Murni, S. S., Widyaningsih, S., & Lestari, A. D. (2008). Karakterisasi komponen kimia dan aktivitas antioksidan ekstrak nanas. *Jurnal Kimia Terapan*, 15(3), 112-125.
- Octavia, S. (2008) *Efektivitas kombinasi proses perendaman dengan amoniak dan asam pada pengolahan awal biomassa sebagai bahan baku pembuatan bioethanol*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Oliveira, F. B., Bras, J., Pimenta, M. T. B., Curvelo, A. A. S., Belgacem, M. N. (2016). Production Of Cellulose Nanocrystals From Sugarcane Bagasse Fibers And Pith. *Journal Industrial Crops and Products*. (9)3: 48-57.
- Pardo, M. E. S., Cassellis, M. E. R., Escobedo, R. M., and Garcia, E., J. (2014). Chemical Characterisation of the Industrial Residues of the Pineapple (*Ananas comosus*). *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*. 3: 53–56.
- Prawignya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal Dari Limbah Nanas Dengan Proses Fermentasi. *Journal of Agricultural*. 1693-4393.
- Purkan., Purnama dan Sumarsih. 2015. Produksi Enzim Selulase Dari Produksi *Aspergillus Niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu Sebagai Induser. *Jurnal industry*. 16(2): 95–102.
- Rahman. 2011. *Antibacterial Activities of Actinomycetese Isolates Collected from Soils of Rajshahi, Bangladesh*. SAGE-Hindawi Access to Research Biotechnology Research International Volume 2011
- Rilek, N, M., Hidayat, N dan sugiarto. 2017. hidrolisis Ligniselulosa Hasil Pretreatment Pelepah sawit Menggunakan H₂SO₄ Pada Produksi Bioetanol. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 6(20): 76–82.
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A., and Yadav, A. (2015). *Actinomycetes: A Source of Lignocellulolytic Enzymes*. Hindawi Publishing Corporation.

- Satria, H., Nurhasanah, dan Martasih, F.(2010). *Aktivitas Selulase Isolat Actinomyces Terpilih pada Fermentasi Padat Jerami Padi. Prosiding: Seminar Nasional Sains & Teknologi.*
- Saha, B. C. (2014). Lignocellulose Biodegradation and Conversion To Ethanol. *Journal Food Technology and Biotechnology.* 42(2): 87-92
- Seprianto, S. (2017). Uji potensi isolat Aspergillus sp. lokal dalam menghasilkan enzim selulase dengan metode zona bening. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 11(1): 45-56.
- Sharma, R., Singh, R., & Kumar, R. (2018). Factors affecting cellulase production by microorganisms: A review. *Journal of Environmental Science and Health, Part B.* 53(4): 205-215.
- Smith, J. A., et al. (2020). Metabolic Dynamics of *Saccharomyces cerevisiae* in Fermentation Processes. *Journal of Applied Microbiology.* 45(2): 140-150.
- Song, H, Y et.al. 2014. A new bi-modular endo-1,4-xylanase KRICT PX-3 from wholegenome sequence of *Paenibacillus terrae* HPL-003. *Journal Enzyme and Microbial Tecnology.* 54: 1-7.
- Sumiati, T., Yuningtyas, S., Haloho, L, E, B. 2023. Delignifikasi Lignoselulosa Daun Nanas
- Tezara, C., Siregar, J. P., Lim, H. Y., Fauzi, F. A., Yazdi, M. H., Moey, L. K., and Lim, J. W. (2016). Factors that Affect The Mechanical Properties of Kenaf Fiber Reinforced Polymer: A Review. *Journal of Mechanical Engineering and Sciences (JMES).* 10(2): 2159–2175.
- Utari, D., & Hesti, R. (2019). Isolasi dan karakterisasi *Actinomyces* dari tanah rizosfer tanaman jagung sebagai penghasil senyawa antibiotik. *Jurnal Biologi Tropis*, 14(1): 30-42