

**PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger* MENGGUNAKAN  
SUBSRAT AMPAS TEBU**

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Bidang Studi Kimia**



Oleh:

**NIRLIANA QOLBI EKA SAPUTRI**

**08031282025049**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2025**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger* MENGGUNAKAN**  
**SUBSTRAT AMPAS TEBU**

**SKRIPSI**

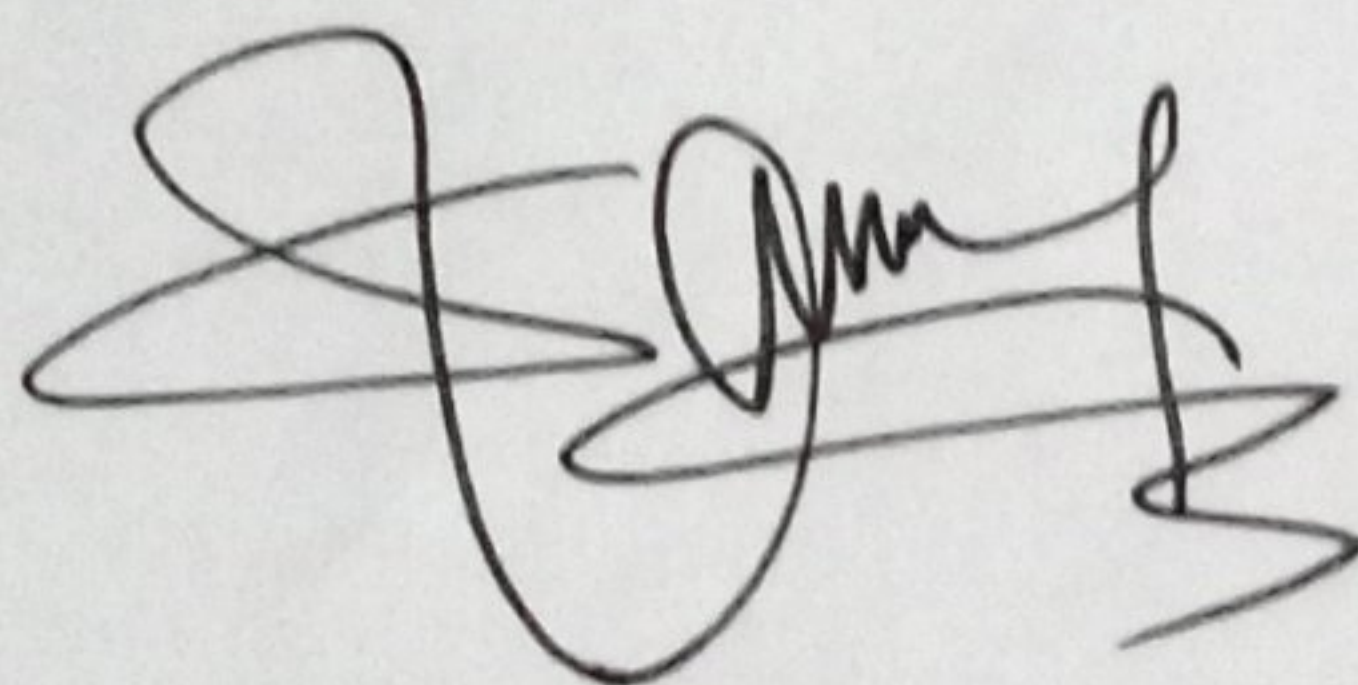
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Bidang Studi Kimia

**Diususlkan oleh:**  
**NIRLIANA QOLBI EKA SAPUTRI**  
**08031282025049**

Indralaya, 12 Februari 2025

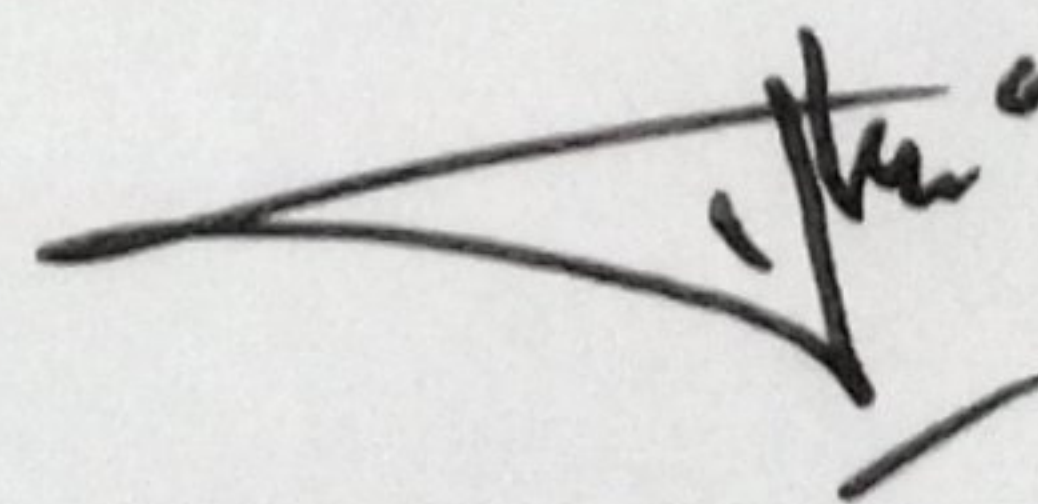
**Menyetujui,**

**PEMBIMBING I**



**Dra. Julinar, M.Si**  
**NIP. 196507251993032002**

**PEMBIMBING II**



**Dr. Zainal Fanani, M.Si**  
**NIP. 196708211995121001**

**Mengetahui,**

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph. D**  
**NIP. 197111191997021001**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul “Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada Tanggal Januari 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 12 Februari 2025

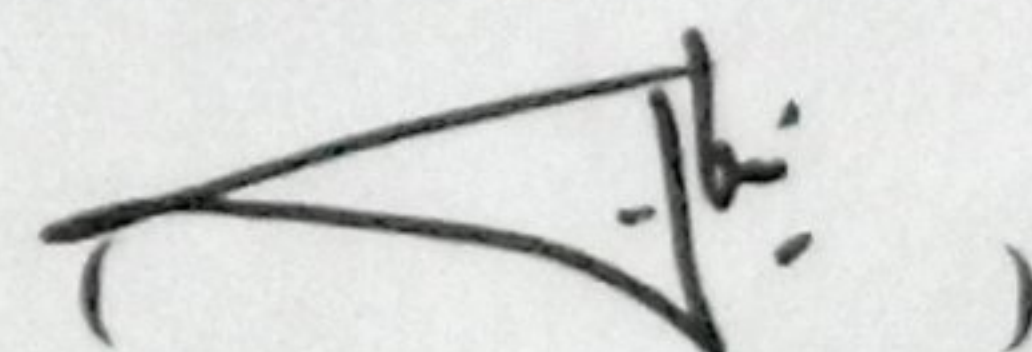
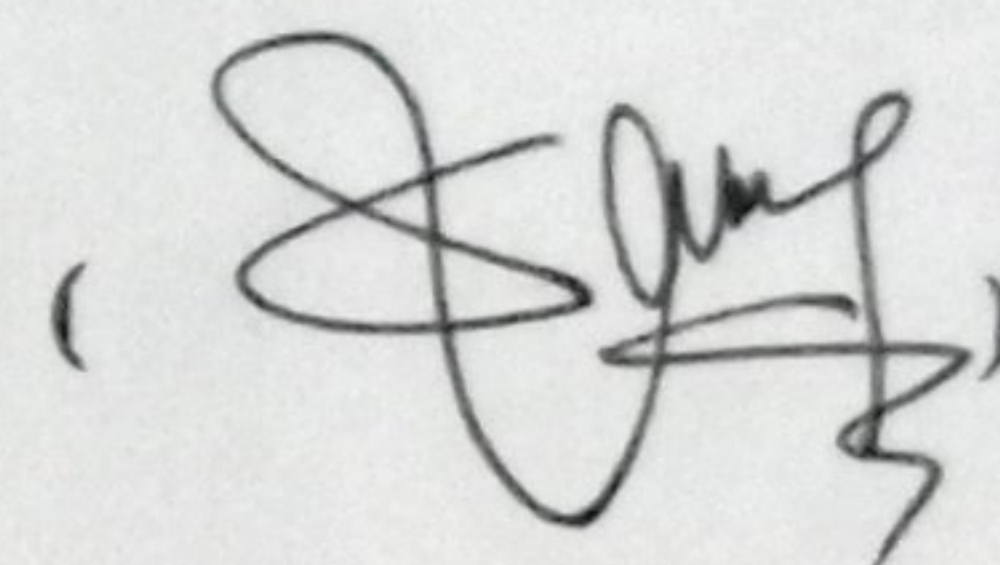
Pembimbing:

1. **Dra. Julinar, M. Si**

NIP. 196507251993032002

2. **Dr. Zainal Fanani, M.Si**

NIP. 196708211995121001



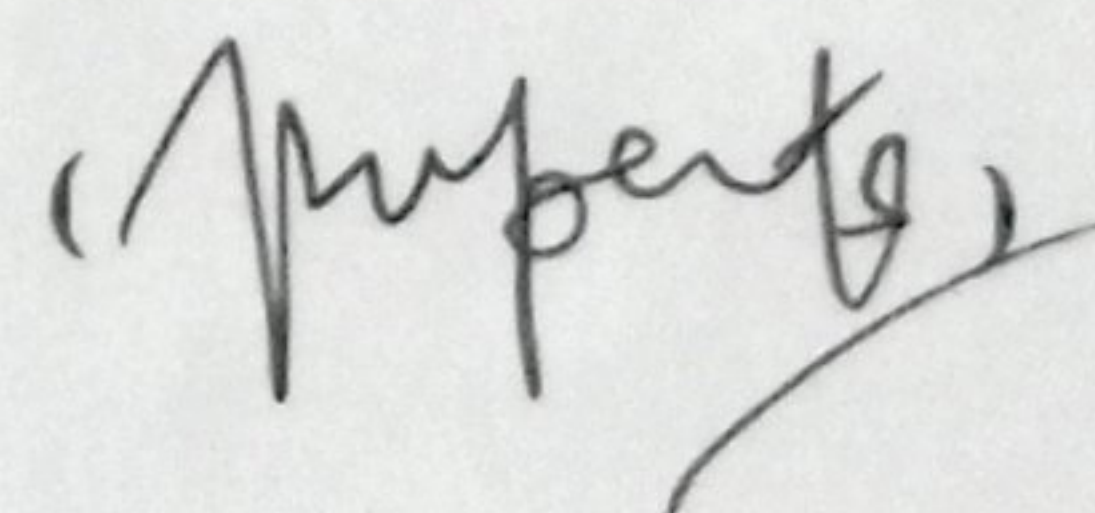
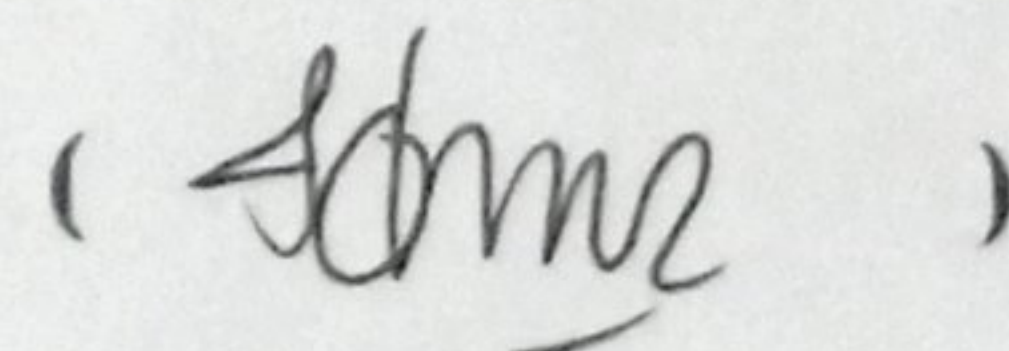
Penguji:

1. **Dr. Heni Yohandini, M. Si**

NIP. 197011152001220004

2. **Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si**

NIP. 197211092000032001



Mengetahui,

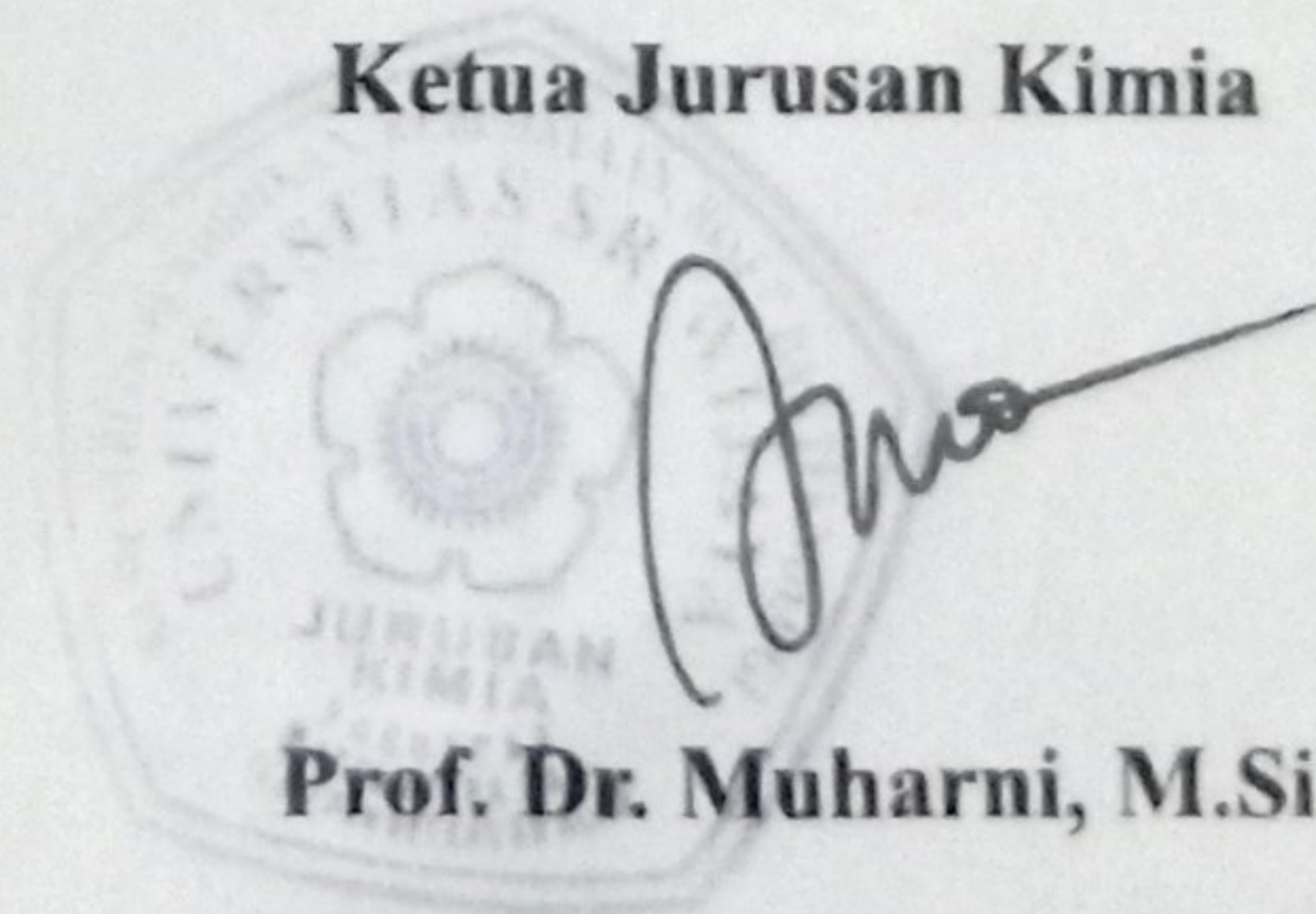
**Dekan FMIPA**



**Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph. D**

NIP. 197111191997021001

**Ketua Jurusan Kimia**



**Prof. Dr. Muharni, M.Si**

NIP. 196903041994122001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nirliana Qolbi Eka Saputri

NIM : 08031282025049

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian Surat ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 12 Februari 2025

Penulis,



Nirliana Qolbi Eka Saputri

NIM. 08031282025049

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nirliana Qolbi Eka Saputri  
NIM : 08031282025049  
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu”. Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 12 Februari 2025  
Penulis,

Nirliana Qolbi Eka Saputri  
NIM. 08031282025049

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”*

*(QS. Al-Baqarah: 286)*

*“Sungguh Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”*

*(QS. Ar-Rad: 11)*

*“Enjoy the little things, because for one day you may look back and realize they were the big things”*

---

**Skripsi ini sebagai tanda syukurku kepada:**

- Allah SWT
- Nabi Muhammad SAW

**Skripsi ini saya persembahkan kepada:**

1. Ayah, Ibu dan Adik-adik tercinta yang senantiasa mendoakan dan memberikan motivasi
2. Dosen pembimbing Ibu Dra. Julinar, M. Si dan Bapak Dr. Zainal Fanani, M.Si
3. Keluarga besar, sahabat, teman dan semua orang yang membantu hingga terselesaikan skripsi ini
4. Kampusku (Universitas Sriwijaya)
5. Diri sendiri

## KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang. Saya peningkatkan puji dan syukur atas kehadiran-Nya yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Ampas Tebu”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai rintangan yang dilalui, mulai dari pencarian judul, literatur, penelitian, pengumpulan data, analisis data dan penulisan. Namun, dengan kesabaran dan ketekunan yang dilandasi dengan rasa tanggung jawab sebagai mahasiswa serta bantuan dari berbagai pihak lain baik berupa moril maupun materil hingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada ibu **Dra. Julinar, M.Si dan Bapak Dr. Zainal Fanani, M. Si** yang telah membimbing, membantu, memberikan nasehat dan motivasi sejak aawal penelitian hingga skripsi ini selesai. Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat dan hidayah-Nya yang sangat luar biasa kepada penulis.
2. Prof. Hermansyah, S, Si., M. Si., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Prof. Dr. Muharni, M. Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
4. Bapak Dr. Addy Rachmat, M. Si selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
5. Ibu Dr. Julinar, M. Si dan Bapak Dr. Zainal Fanani, M. Si selaku pembimbing penulis mulai dari pencarian judul hingga terselesainya skripsi ini. Terimakasih banyak pak/bu atas bimbingan dan dukungan yang sangat luar biasa, terimakasih atas kesabarannya dan terimakasih sudah rela meluangkan waktu untuk mengajarkan dan membimbing penulis. Semoga bapak/ibu selalu dalam lindungan Allah SWT dan dilancarkan segala urusannya. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan-kebaikan bapak/ibu.

6. Ibu Dr. Heni Yohandini, M. Si dan Ibu Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si selaku dosen pembahas mulai dari seminar kemajuan hingga sidang skripsi. Terima kasih banyak bu atas masukan, saran, dan dukungannya. Terimakasih atas semua ilmu yang bermanfaat, semoga selalu dan terus menciptakan generasi emas untuk kedepannya.
7. Kedua orangtua penulis, Hartono (ayah) dan Nani yuliana (ibu), untuk beliaulah skripsi ini penulis persembahkan. Terimakasih atas segala Doa, kasih sayang, perhatian, perjuangan dan semuanya yang sudah diberikan kepada penulis. Terimakasih sudah berhasil membesarkan dan bisa mnyekolahkan penulis hingga bisa menyanggah gelar S. Si. Maafkan anakmu ya ayah/ibu belum bisa memberikan yang terbaik sesuai harapan kalian, maaf apabila dalam mengejar gelar ini banyak mengeluh dan banyak hal yang belum bisa diberikan dengan maksimal. Kalian adalah orang paling istimewa dalam hidup penulis.
8. Saudara-saudara tercinta penulis Dwi, Naurah, Naufal, Zaza selaku adik kandung penulis, terimakasih atas doa dan dukungannya, terimakasih sudah percaya dengan mimpi-mimpi penulis, maaf jika ayukmu ini banyak salah dan belum bisa jadi ayuk sesuai harapan kalian *but i'll try to be the best*.
9. Terimakasih kepada keluarga besar yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih untuk dukungan doa dan motivasinya hingga penulis bisa berada ditahap ini.
10. Seluruh dosen FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah mendidik, memberikan ilmu, dan membimbing penulis selama masa studi perkuliahan.
11. Yuk Nur, Yuk Niar, yuk Yanti dan Mbak Dessy selaku analis kimia dan karyawan jurusan FMIPA yang telah membantu penulis selama penelitian semoga kebaikan – kebaikan kalian senantiasa dibalas oleh Allah SWT.
12. Kak Chosiin dan Mbak Novi selaku admin Jurusan Kimia yang super duper sabar, baik dan luar biasa ramah. Terimakasih sudah membantu penulis selama masa perkuliahan hingga lulus semoga selalu diberi kesehatan dan kelancaran dalam segala urusan.
13. Febriansyah, orang yang sangat luar biasa baik, pengertian, pekerja keras semuanya dahh. Terimakasih telah berkontribusi banyak dalam penulisan



skripsi ini. Terimakasih sudah menemani, meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan materi kepada penulis. Terimakasih atas kesabaran, semangat dan supportnya yang tidak pernah berhenti untuk penulis dalam segala hal. Terimakasih sudah menjadi rumah yang selalu ada dan menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis.

14. Laellia Denada selaku teman, sahabat sekaligus keluarga (diborong semua sama anak ini), terimakasih sayangku, cintaku sudah mau mendengarkan keluh kesah penulis dalam konteks apapun itu. Terimakasih atas dukungan dan semangat yang selalu dan selalu kamu berikan. Terimakasih sudah menjadi bagian penting dalam perjalanan penulis, intinya terimakasih banyak ya sengkukhh. Tetap jadi anak baik ya, lancar terus kehidupan pasca sarjana nya, semangat dan selamat menjalankan S2 nya ya cinta, wupyuuu cintaku.
15. Seluruh anggota grup “cewe cantik” terimakasih atas waktunya, terimakasih sudah mejadi bagian dari perjalanan penulis, terimakasih sudah mewarnai hari-hari penulis selama perkuliahan. Sehat-sehat terus ya kalian, semangat dan sukses terus dimana pun kalian sekarang. Kangen seru-seruan lagi hehhe 😊
16. Teman-teman seperjuangan dititik terakhir penulis (Indah, Ira, Umi, Dini, Alhadyu), terimakasih teman-temanku yang sudah mau direpotkan, sudah mau berbagi apapun itu demi S.Si. Sehat-sehat terus orang baik.
17. Via dan Tiara selaku adik asuh penulis, terimakasih atas support dan dukungannya, semangat terus ya untuk step-step selanjutnya.
18. Teman baru penulis yang super baik pake banget Kak Dion, kak Indah, dan Kerin si bungsu, terimakasih yaa walaupun cuma sebentar but penulis happy banget bisa kenal kalian, terimakasih untuk waktu, saran dan perjuangannya. Jangan pernah bosan untuk jadi orang baik ya, Yokkk berjuang sama-sama lagi and next time kita meet lagi deh kita happy-happy lagi yaa 😊
19. Seluruh teman-teman Einsteinium (angkatan 2020), terimakasih banyak atas waktu dan segala hal yang pernah kita lewatin sama-sama. Semangat dan sukses terus buat kalian dimanapun kalian berada ya.
20. Teman terbaik penulis sejak SMA (Wulan, Risa, Sella, Jihan, Indah, Rahma) terimakasih sudah mau berjuang terimakasih supportnya, dan terimakasih untuk segala hal baik duka maupun suka yang sudah kita lewatin sama-sama.

Maaf jika penulis belum bisa jadi yang terbaik. Sehat-sehat terus ya perempuan-perempuan kuat, sukses terus buat kalian, sayang kalian.

21. Terimakasih untuk semua pihak yang terkait dan terlibat dalam penulisan skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satupersatu. Terimakasih atas bantuan dan dukungannya orang-orang baik.
22. *Last but not least*, Terimakasih untuk Nirliana Qolbi Eka Saputri karena telah berjuang dan bertahan sampai sejauh ini, terimakasih sudah mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan diluar keadaan dan terimakasih untuk tidak memilih menyerah. BANGGA BANGETTT 😊

Indralaya, 12 Februari 2025

Penulis

Niriana Qolbi Eka saputri

## SUMMARY

### PRODUCTION OF CELLULACE ENZYMES FROM *Aspergillus niger* USING SUBSTRATES OF BAGASSE

Nirliana Qolbi Eka Saputri : Supervised by Dra. Julinar, M.Si. and Dr. Zainal Fanani, M.Si

Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and natural Sciences, Sriwijaya University

xvii + 60 pages, 14 figure, 11 table, 8 attachments

Cellulase enzyme is a complex enzyme that has the ability to degrade cellulose into simpler sugars, namely glucose. One of the fungi that can produce cellulase enzyme is *Aspergillus niger*, which often grows on agricultural waste. Sugarcane bagasse is an agricultural waste that has a high cellulose content so that it can be utilized to produce cellulase enzymes. However, the high level of lignin in bagasse waste is an obstacle in the production of cellulase enzymes, therefore it is necessary to delignify bagasse waste.

Delignification of bagasse waste was carried out by hydrolysis using NaOH. Determination of lignin content of delignification results was carried out by the Chesson-Datta method. The delignified bagasse was used as a substrate for fermentation of cellulase enzyme production using *Aspergillus niger*. Cellulase enzyme from the fermented crude extract was tested by DNS method and determination of protein content by Lowry method. The optimum working condition of cellulase enzyme produced from *Aspergillus niger* was determined based on the measurement of cellulase enzyme activity at varying pH, varying temperature and varying substrate concentration. After obtaining the optimum condition of the cellulase enzyme, further characterization of the cellulase enzyme with CMC substrate was carried out through the determination of  $K_m$  and  $V_{max}$  values based on the Lineweaver-Burk equation curve.

The results showed a 77.66% decrease in lignin content from 22% to 6.41%. The highest cellulase enzyme activity on bagasse substrate was obtained on the 8th day of fermentation with an activity of 0.0020 U/mL with protein content of 3.1610 mg/mL. The optimum condition of cellulase enzyme was at pH 5, temperature 35C and 2% CMC substrate concentration with cellulase enzyme activity of 0.01434 U/mL. The  $K_m$  and  $V_{max}$  values obtained were 0.022 U/mL and 1.724 mg/mL, respectively. Translated with DeepL.com (free version)

**Key words:** Bagasse, *Aspergillus niger*, Delignification, Cellulase,  $K_m$  and  $V_{maks}$

## RINGKASAN

### PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger* MENGGUNAKAN SUBSRAT AMPAS TEBU

Nirliana Qolbi Eka Saputri : Dibimbing oleh Dra. Julinar, M.Si. dan Dr. Zainal Fanani, M.Si

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xvii + 60 halaman, 14 gambar, 11 tabel, 8 lampiran

Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa menjadi gula yang lebih sederhana yaitu glukosa. Salah satu jamur yang dapat menghasilkan enzim selulase adalah jamur *Aspergillus niger* yang sering tumbuh pada limbah pertanian. Ampas tebu merupakan limbah pertanian yang memiliki kandungan selulosa yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim selulase. Namun kadar lignin yang cukup tinggi pada limbah ampas tebu menjadi penghambat dalam produksi enzim selulase oleh karena itu perlu dilakukan delignifikasi terhadap limbah ampas tebu.

Delignifikasi limbah ampas tebu dilakukan dengan cara hidrolisis menggunakan NaOH. Penentuan kadar lignin hasil delignifikasi dilakukan dengan metode Chesson-Datta. Ampas tebu hasil delignifikasi digunakan sebagai substrat untuk fermentasi produksi enzim selulase menggunakan *Aspergillus niger*. Enzim selulase dari ekstrak kasar hasil fermentasi diuji dengan metode DNS dan penentuan kadar protein dengan metode Lowry. Kondisi optimum kerja enzim selulase yang dihasilkan dari *Aspergillus niger* ditentukan berdasarkan pengukuran aktivitas enzim selulase pada variasi pH, variasi suhu dan variasi konsentrasi substrat. Setelah di dapat kondisi optimum dari enzim selulase selanjutnya dilakukan karakterisasi terhadap enzim selulase dengan substrat CMC melalui penentuan nilai  $K_m$  dan  $V_{maks}$  berdasarkan kurva persamaan Lineweaver-Burk.

Hasil penelitian didapatkan penurunan kadar lignin sebesar 77,66% dari 22% menjadi 6,41%. Aktvitas enzim selulase tertinggi pada substrat ampas tebu diperoleh pada hari ke-8 fermentasi dengan aktivitas sebesar 0,0020 U/mL dengan kadar protein sebesar 3,1610 mg/mL. Kondisi optimum enzim selulase adalah pada pH 5, suhu 35°C dan konsentrasi subsrat CMC 2% dengan aktivitas enzim selulase sebesar 0,01434 U/mL. Nilai  $K_m$  dan  $V_{maks}$  yang didapatkan secara berturut-turut yaitu sebesar 0,022 U/mL dan 1,724 mg/mL.

**Kata kunci:** Ampas tebu, *Aspergillus niger*, delignifikasi, aktivitas enzim selulase, nilai  $K_m$  dan  $V_{maks}$

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	<b>v</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1. Ampas Tebu .....	4
2.2. Delignifikasi.....	5
2.3. Metode Chesson Datta .....	6
2.4. Selulosa.....	7
2.5. Enzim Selulase.....	8
2.6. Jamur <i>Aspergillus niger</i> .....	10
2.7. Produksi Enzim Selulase .....	11
2.8. Uji Aktivitas Enzim Selulase .....	12
2.9. Uji Aktivitas Enzim Selulase .....	13
Aktivitas enzim merujuk pada kemampuan enzim untuk mempercepat reaksi kimia dengan efektif. Aktivitas enzim merupakan sejumlah enzim yang dapat mengubah 1 mikromol substrat per menit dalam kondisi optimal dan konsisten untuk perbandingan. Secara umum,	

aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan unit (U) (Wuryanti, 2004). Aktivitas enzim dihitung berdasarkan kadar glukosa reduksi yang dihasilkan oleh mikroba, dengan menambahkan reagen tertentu, salah satunya adalah reagen asam dinitrosalisilat (DNS) (Rismawati, dkk., 2016). .....	13
2.10. Karakterisasi Enzim Selulase.....	15
2.8.1. pH Optimum Enzim Selulase .....	15
2.8.2. Suhu Optimum Enzim Selulase .....	16
2.8.3. Pengaruh Konsentrasi Substrat .....	17
2.8.4. Nilai $K_m$ dan $V_{maks}$ Enzim Selulase .....	18
<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2. Alat dan Bahan.....	20
3.2.1. Alat .....	20
3.2.2. Bahan .....	20
3.3. Prosedur Percobaan.....	20
3.3.1. Persiapan Sampel.....	20
3.3.2. Persiapan Media.....	21
3.3.3. Persiapan Mikroba .....	22
3.3.4. Proses Fermentasi untuk Produksi Enzim Selulase .....	22
3.3.5. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry .....	23
3.3.6. Uji Aktivitas Enzim Selulase .....	23
3.3.7. Karakterisasi Enzim Selulase .....	24
3.3.8. Analisis Data.....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
4.1. Kandungan Lignoselulosa Ampas Tebu Hasil Delignifikasi .....	28
4.2. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Ampas Tebu.....	30
4.3. Karakteristik Enzim Selulase.....	31
4.3.1. pH Optimum .....	31
4.3.2. Suhu Optimum.....	32
4.3.3. Konsentrasi Substrat Maksimum.....	33
4.3.4. Nilai $K_m$ dan $V_{maks}$ .....	35
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>38</b>

5.1. Kesimpulan .....	38
5.2. Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>43</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b>	Struktur Selulosa.....	8
<b>Gambar 2.</b>	Reaksi enzimatik hidrolisis selulosa menjadi glukosa.....	9
<b>Gambar 3.</b>	<i>Aspergillus niger</i> .....	11
<b>Gambar 4.</b>	Reaksi antara DNS dengan Glukosa.....	12
<b>Gambar 5.</b>	Grafik Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim.....	15
<b>Gambar 6.</b>	Kurva Pengaruh suhu terhadap Aktivitas Enzim.....	16
<b>Gambar 7.</b>	Grafik Pengaruh Konstrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim.....	17
<b>Gambar 8.</b>	Kurva Persamaan Michaelis-Menten.....	18
<b>Gambar 9.</b>	Kurva Persamaan Lineweaver-Burk.....	19
<b>Gambar 10.</b>	Mekanisme pemutusan ikatan antara lignin dan selulosa menggunakan NaOH.....	29
<b>Gambar 11.</b>	Pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase dan kadar protein.....	30
<b>Gambar 12.</b>	Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase.....	31
<b>Gambar 13.</b>	Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase.....	33
<b>Gambar 14.</b>	Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim selulase.....	34
<b>Gambar 15.</b>	Kurva Michaelis-Menten hubungan antara V dan S.....	35
<b>Gambar 16.</b>	Kurva Lineweaver-Burk hubungan antara nilai $1/[S]$ dan $1/V$ .....	36



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b>	Perbandingan komponen ampas tebu sebelum dan sesudah delignifikasi .....	28
<b>Tabel 2.</b>	Berat Ampas Tebu Sebelum dan Sesudah Delignifikasi.....	45
<b>Tabel 3.</b>	Nilai Absorbansi Standar BSA .....	47
<b>Tabel 4.</b>	Data Kadar Protein .....	48
<b>Tabel 5.</b>	Nilai Absorbansi Standar Glukosa.....	49
<b>Tabel 6.</b>	Data analisis pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase .....	50
<b>Tabel 7.</b>	Data analisis pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase .....	51
<b>Tabel 8.</b>	Data analisis pengaruh Suhu terhadap aktivitas enzim selulase .....	52
<b>Tabel 9.</b>	Data analisis pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim selulase .....	53
<b>Tabel 10.</b>	Data nilai S dan V .....	55
<b>Tabel 11.</b>	Data nilai 1/S dan 1/V .....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Skema Kerja.....	44
<b>Lampiran 2.</b> Data dan Perhitungan Kadar Selulosa, Hemiselulosa dan Lignin Sebelum dan Sesudah Delignifikasi.....	45
<b>Lampiran 3.</b> Data dan Perhitungan Kadar Protein .....	47
<b>Lampiran 4.</b> Data dan Contoh Perhitungan Aktivita Enzim terhadap Variasi Waktu Fermentasi 7-11 Hari.....	49
<b>Lampiran 5.</b> Data dan Perhitungan Aktivitas Enzim pada Kondisi Optimum .....	51
<b>Lampiran 6.</b> Data dan Perhitungan Penentuan Nilai $K_m$ dan $V_{maks}$ .....	55
<b>Lampiran 7.</b> Pembuatan Larutan Buffer Fosfat.....	58
<b>Lampiran 8.</b> Dokumentasi Penelitian .....	59

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis dalam proses biokimia. Enzim pada umumnya dapat diperoleh dari mikroorganisme juga dapat diproduksi dari tanaman dan hewan. Sebagai biokatalisator, enzim dapat mempercepat suatu reaksi biokimia tanpa mengalami perubahan yang permanen. Enzim mengkatalisis semua reaksi yang berlangsung dalam sel makhluk hidup secara cepat, efisien dan spesifik (Poedjiadi dan Supriyanti, 2009). Suatu enzim dapat mempercepat reaksi  $10^8$  sampai  $10^{11}$  kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Seperti katalis lainnya, enzim juga menurunkan atau memperkecil energi aktivasi suatu reaksi kimia. Suatu enzim dapat diperoleh dari sel hidup yang menyebabkan reaksi intraseluler dan ekstraseluler. Dalam bidang industri enzim sering kali digunakan salah satu diantaranya adalah enzim selulase (Kusumaningrum *et al.* 2019).

Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yakni glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Enzim ini sangat aktif memutus ikatan selulosa yang dapat larut (amorf) seperti karboksil metil selulosa (CMC). Selulase merupakan sistem enzim yang terdiri dari endo-1,4- $\beta$ -glukanase, ekso-1,4- $\beta$ -glukanase, dan  $\beta$ -D-glukosidase. Ketiga enzim ini saling berkerja sama dalam memecah selulosa dan menghasilkan produk akhir yang berupa gula pereduksi. Sistem enzim endo-1,4- $\beta$ -glukanase memecah ikatan rantai selulosa, sementara ekso-1,4- $\beta$ -glukanase memotong ujung rantai selulosa untuk menghasilkan molekul selobiosa. Enzim  $\beta$ -D-glukosidase menghidrolisis ikatan dalam selobiosa dan kemudian mengubahnya menjadi dua molekul glukosa (Nababan *et al.*, 2019). Bahan limbah pertanian yang mengandung selulosa sering kali dijadikan substrat dalam produksi enzim selulase. Limbah pertanian yang umum digunakan untuk produksi enzim selulase diantaranya ampas tebu.

Ampas tebu (*bagasse*) merupakan produk limbah padat yang dihasilkan pabrik gula selama proses pemerasan sari tebu. Sekitar 60% ampas tebu digunakan sebagai bahan bakar pabrik gula, bahan baku kertas, dan lain sebagainya, dan sekitar 40% masih belum dimanfaatkan (Rulianah *et al.*, 2017). Ampas tebu adalah

limbah pertanian yang sangat melimpah di Indonesia dan mengandung berbagai komponen penting. Beberapa komponen utama yang terdapat dalam ampas tebu meliputi hemiselulosa sebesar 20-32,2%, selulosa antara 40,3-55,35%, dan lignin sekitar 11,2-15,27% (Purkan *et al.* 2015).

Limbah lignoselulosa perlu diberi perlakuan delignifikasi untuk mengurangi kadar lignin, karena lignin merupakan hambatan utama dalam mengakses selulosa. Adanya kandungan lignin pada ampas tebu akan menghambat kerja enzim untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa, oleh karena itu perlu dilakukan perlakuan (pre-treatment) untuk mengurangi kadar lignin pada ampas tebu sehingga selulosa lebih mudah bereaksi dengan enzim (Gunam *et al.*, 2011). Delignifikasi sampel dapat dilakukan melalui tiga metode, yaitu delignifikasi kimia menggunakan larutan alkali misal NaOH, delignifikasi secara fisika dilakukan dengan pemanasan dan tekanan tinggi, sedangkan delignifikasi secara biologis dengan menggunakan enzim yang dihasilkan oleh bakteri atau jamur (Fitriani *et al.*, 2013). Senyawa NaOH dapat mendegradasi dan merusak struktur lignin, serta dapat melarutkan lignin dan hemiselulosa (Ayuni dan Hastini, 2020). Penggunaan NaOH lebih efektif untuk meningkatkan hasil hidrolisis dan harganya relatif lebih murah dibandingkan dengan bahan kimia lainnya (Andari *et al.*, 2022).

Enzim selulase dapat dihasilkan oleh jamur, bakteri, dan hewan ruminansia. Untuk produksi secara komersial, umumnya digunakan jamur atau bakteri. Beberapa jenis jamur yang mampu memproduksi enzim selulase antara lain dari genus *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium* (Larasati, 2015). Penggunaan jamur *A. niger* pada produksi enzim selulase telah digunakan di seluruh dunia. Fungi *A. niger* memanfaatkan selulosa dan menghasilkan enzim selulase yang mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa yang merupakan bahan baku penting dalam industri kimia (Mulyana *et al.*, 2015).

Menurut hasil penelitian Pratiwi dan Ardiansyah (2022) yang melakukan penelitian menggunakan berbagai substrat dari limbah pertanian dalam memproduksi enzim selulase dengan bantuan *A. niger* diperoleh aktivitas enzim dari tandan buah segar (TBS) sebesar 0,12 U/ml, dedak 26,83 U/ml, jerami 23,29 U/ml dan ampas tebu 0,26 U/ml. Oleh karena itu, penelitian ini telah dilakukan produksi enzim selulase dari *A. niger* menggunakan substrat ampas tebu untuk mengetahui

aktivitas enzim yang diperoleh dari substrat ampas tebu dan menentukan kondisi optimumnya.

## 1.2. Rumusan Masalah

Enzim selulase memiliki peranan penting dalam berbagai segi industri dan kehidupan sehari-hari. Enzim ini dapat diproduksi dari limbah pertanian. Salah satunya ampas tebu (*bagasse*). Kandungan selulosa yang tinggi dalam ampas tebu menjadikannya bahan baku yang ideal untuk produksi enzim selulase. Namun kandungan linginya cukup tinggi. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk memproduksi dan mengkarakterisasi enzim selulase dari jamur *A. niger* menggunakan substrat ampas tebu yang sudah didelignifikasi.

1. Apakah pada proses delignifikasi dapat menurunkan kadar lignin?
2. Bagaimana aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur *A. niger* pada substrat ampas tebu?
3. Bagaimana karakteristik enzim selulase dari jamur *A. niger* pada substrat ampas tebu?

## 1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Menentukan kadar lignin sebelum dan sesudah delignifikasi.
2. Menentukan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus niger* pada substrat ampas tebu.
3. Menentukan karakteristik enzim selulase yang diproduksi oleh jamur *Aspergillus niger* pada substrat ampas tebu.

## 1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan *Aspergillus niger* sebagai produser enzim selulase pada substrat ampas tebu serta mengetahui karakteristik enzim selulase yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M. S., Sarjono, P. R., dan Aminin, A. L. N. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*. 21(2): 48-53.
- Ariyani, S. B., Asmawit, dan Utomo, P. P. 2014. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat. *Biopropal Industri*. 5(2): 61–67.
- Avivi *et al.* 2024. *Bioteknologi Tanaman Perkebunan*. Deepublish Digital: Yogyakarta.
- Azizah, Y., dan Marziah, A. 2018. Hidrolisis Ampas Tebu (*Baggase*) menggunakan HCl menjadi Cellulosa Powder. *Jurnal Ramah Lingkungan*. 1(2): 21–25.
- Baharuddin, M. 2024. *Produksi Enzim dari Serangga*. Rizmedia Pustaka Indonesia: Yogyakarta.
- Bandjar, A., Tanasale, M. F. J. D. P., dan Luhukay, M. S. 2015. Penentuan Parameter Kinetika Glukoamilase pada Reaksi Hidrolisis Pati Sagu (*Metroxylon Sp.*). *Indonesian Journal Chemistry Research*. 2: 176–181.
- Dini, I. R dan Munifah I. 2014. Produksi dan Karakterisasi Enzim Selulase Ekstrak Kasar dari Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Rumput Laut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(3): 69-75.
- Erni, R., Sari, W., dan Moeksin, R. 2015. Pembuatan Bioetanol dari Air Limbah Cucian Beras Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 21(1): 14–22.
- Fajriutami, T., Fatriasari, W., dan Hermiati, E. 2016. Effects of Alkaline Delignifikasi of Sugarcane Bagasse on Pulp Characterization and Reducing Sugar Production. *Jurnal Riset Industri*. 10(3): 147–161.
- Febriani, C. Y. 2021. Hidrolisis Lignoselulosa dan Karakterisasi Lignin Dari Material Limbah Kelapa dengan Metode Hidrolisis Asam Sulfat. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 10(2): 45.
- Fitriani. Bahri, S., dan Nurhaeni. 2013. Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (*Zea Mays*) dari Hasil Proses Delignifikasi. *Online Journal of Science*. 2(3): 66-74.
- Fuadi, A. M., dan Harismah, K. 2017. Perbandingan Efektifitas Pembuatan Glukosa dari Kertas Bekas Secara Hidrolisis Asam dan Enzim. *Jurnal Teknologi Bahan Alam*. 1(1): 6–11.
- Gunam, I. B. W., Wartini, N. M., Anggreni, A. A. M. D., dan Suparyana, P. M. 2011. Delignifikasi Ampas Tebu dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakaraifikasi Secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar dari *Aspergillus niger* Fnu 6018. *Teknologi Indonesia LIPI*. 34: 24-32
- Harianja, J. W., Idiawati, N., dan Rudiyanasyah. 2015. Optimasi Jenis dan

- Konsentrasi Asam Pada hidrolisis Selulosa dalam Tongkol Jagung. *Jurnal Kovalen*. 4(4): 66–71.
- Hidayat, M. R. 2013. Teknologi Pretreatment Bahan Lignoselulosa dalam Proses Produksi Bioetanol. *Biopropal Indusri*.4(1): 33-48.
- Idiawati, N., Harfinda, E. M., dan Arianie, L. 2015. Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu. *Jurnal Natur Indonesia*. 16(1): 1.
- Irvan, Prawati, P., dan Trisakti, B. 2015. Pembuatan Bioetanol Dari Tepung Ampas Tebu Melalui Proses Hidrolisis Termal dan Fermentasi: Pengaruh pH, Jenis Ragi, dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 4(2): 27–31.
- Irwan, I., Sukainah, A., dan Putra, R. P. 2023. Pemanfaatan Kulit Tanduk Biji Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Sebagai Substrat Pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam Memproduksi Enzim Selulase. *Mutiara: Multidisciplinary Scientific Journal*. 1(9) 525–537.
- Istia'nah, D., Utami, U., dan Barizi, A. 2020. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Riset Biologi dan Aplikasinya*. 2(1): 11-17.
- Kapli, H., Athifahullaila, D., Auni., Furqoni, A. T., Yoshe, D., Cahyati, I. E., dan Aisyah, P. N. 2022. Identification of Potential Fungus as Plant Pest Organisms and Causes of Diseases in Cultivated Plants in Pekanbaru. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. 9(2): 70-83.
- Kurniaty, I. 2017. Proses Delignifikasi Menggunakan NaO Dan Amonia (NH<sub>3</sub>) Pada Tempurung Kelapa. *Jurnal Integasi Proses*, 6(4): 197.
- Larasati. 2015. Produksi Enzim Selulase Oleh Fungi Selulolitik Yang Diradiasi Sinar Gamma Dalam Fermentasi Jerami Padi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 16(3): 139–147.
- Legiso dan Kalsum, U. 2018. Pembuatan Pulp dari Ampas Tebu Proses Bleaching Hidrogen Peroksida. *Distilasi*. 3(2): 33–38.
- Lestari, M. D., Sudarmin dan Harjono. 2018. Ekstraksi Selulosa dari Limbah Pengolahan Agar Menggunakan Larutan NaOH sebagai Prekursor Bioetanol. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 7(3):236-241.
- Masfufatun. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma*, Surabaya.
- Mardawati, E., Harahap, B. M., Andoyo, R., Wulandari, N., dan Rahmah, D. M. 2019. Karakterisasi Produk dan Pemodelan Kinetika Enzimatik Alfa-Amilase pada Produksi Sirup Glukosa dari Pati jagung. *Jurnal Industri Pertanian*. 1(1): 11-19.
- Milenium, M. M., Jasman., dan Sarifudin, J. 2023. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Suhu Terhadap Pembentukan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reesei* pada Media Jerami Padi. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains*

*Kimia*. 126-133.

- Mulyana, N., Larasati, T. R. D., Nurhasni., dan Ningrum, M. 2015. Peningkatan Aktivitas Enzim Selulase dan Produksi Glukosa Melalui Fermentasi Substrat Jerami Padi Dengan Fungi *Aspergillus niger* yang Dipapari Sinar Gamma. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 11 (1): 13 - 25.
- Munifah, I. 2021. *Limbah Padat Industri Agar-Agar, Kajian Karakteristik Beserta Bakteri Pendegradasinya*. PT. Nasya Expanding Management: Pekalongan.
- Nababan, M., Gunam, I. B. W., dan Mahaputra Wijaya, I. M. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agoindustri*. 7(2): 190.
- Niken. 2014. *Pemanfaatan Microwave dalam Proses Pretreatment Degradasi Lignin Ampas Tebu (Bagasse) pada Produksi Bioetanol*. Skripsi. Jurusan Teknik Pertanian. Universitas Brawijaya: Malang
- Novianty, R., Dahliaty, A., Nasution, N. I., dan Haryati, H. 2020. Biodegradation of Used Baby Diapers Using Cellulolytic Fungus and Bacteria With Solid Fermentation. *Jurnal Inovasi Pendidikan Dan Sains*. 1(1): 13–19.
- Novita, T., dan Abdi, A. W. 2019. Evaluasi Kesesuaian Lahan Perkebunan Tebu di Kabupaten Aceh Tengah dengan Menggunakan Sistem Informasi Geografi. *Jurnal Pendidikan Geosfer*. 4(2): 15-22.
- Nurkhotimah. 2017. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi*. 6(8): 465-471.
- Oktavia, Y., Andhikawati, A., Nurhayati, T., dan Tarman, K. 2014. Karakterisasi Enzim Kasar Selulase Kapang Endofit dari Lamun. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 6(1): 209-218.
- Oliveira, F. B. de, Bras, J., Pimenta, M. T. B., Curvelo, A. A. da S., dan Belgacem, M. N. 2016. Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith. *Industrial Crops and Products*. 93: 48–57.
- Permatasari, H. R., Gulo, F., dan Lesmini, B. 2015. Pengaruh konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan NaOH terhadap delignifikasi serbuk bambu (*Gigantochloa Apus*). *Jurnal Penelitian Pendidikan Kimia*. 1(2): 131-140.
- Pratiwi, N., dan Ardiansyah, S. 2022. Pemanfaatan Limbah Pertanian Sebagai Substrat Untuk Memproduksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger*. *Jurnal Pengembangan Agoindustri Terapan*. 1(1). 24-31.
- Prasasty, V. D., dan Istyastono, E. P. 2020. *Rancangan Obat Berbantuan Komputer Peptida Rantai Pendek Sebagai Antikolineterase*. Sanata Dharma University Press: Depok.
- Purkan., Purnama, N. D., dan Sumarsih, S. 2015. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu Sebagai



- Induser. 16(2): 95-102.
- Putri, S. 2016. Karakterisasi Enzim Selulase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Ssrat. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Malang: Malang.
- Rulianah, S., Irfin, Z., Mufid, dan Prayitno. 2017. Produksi Crude Selulase dari Bahan Baku Ampas Tebu Menggunakan Kapang *Phanerochaete chrysosporium*. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*. 1(1): 17–27.
- Sari, A. R., Kusdoyantini, E., dan Rukmi, M. I. 2017. Produksi selulase oleh kapang *Aspergillus sp.* hasil isolasi dari limbah pengolahan sagu (*Metroxylon sp.*) dengan variasi konsentrasi inokulum pada fermentasi terendam statis. *Jurnal Biologi*. 6(1): 11–20.
- Samadi., Majizah, S., Zulfahrizal., dan Munawar. A. A. 2022. *Aplikasi Teknologi NIRS Untuk Evaluasi Kualitas Pakan Fermentasi*. Syiah Kuala University Press: Banda Aceh.
- Saropah, D. A., Jannah, A., dan Maunattin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*. 2(1): 35–45.
- 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.
- Shah, K., dan Devanshi, S. S. 2019. Chapter-3 Microbial Cellulase: Production, Purification And Application Microbial Cellulase: Production, Purification And Application. *Microbiology and Biotechnology in Human Life*. 50-75
- Sudiyani, Y., Aiman, S., dan Mansur, D. 2019. *Perkembangan Bioetanol G2: Teknologi dan Perspektif*. Jakarta: LIPI.
- Sutikno., Marniza., dan Sari, N. 2015. Pengaruh Perlakuan Awal Basa dan Hidrolisis Asam Terhadap Kadar Gula Reduksi Ampas Tebu. *Jurnal Teknologi Industri dan Pertanian*. 20(2): 65-72.
- Trihadiningrum, Y. 2021. *Mikrobiologi Lingkungan*. Media Nusa Creative: Malang.