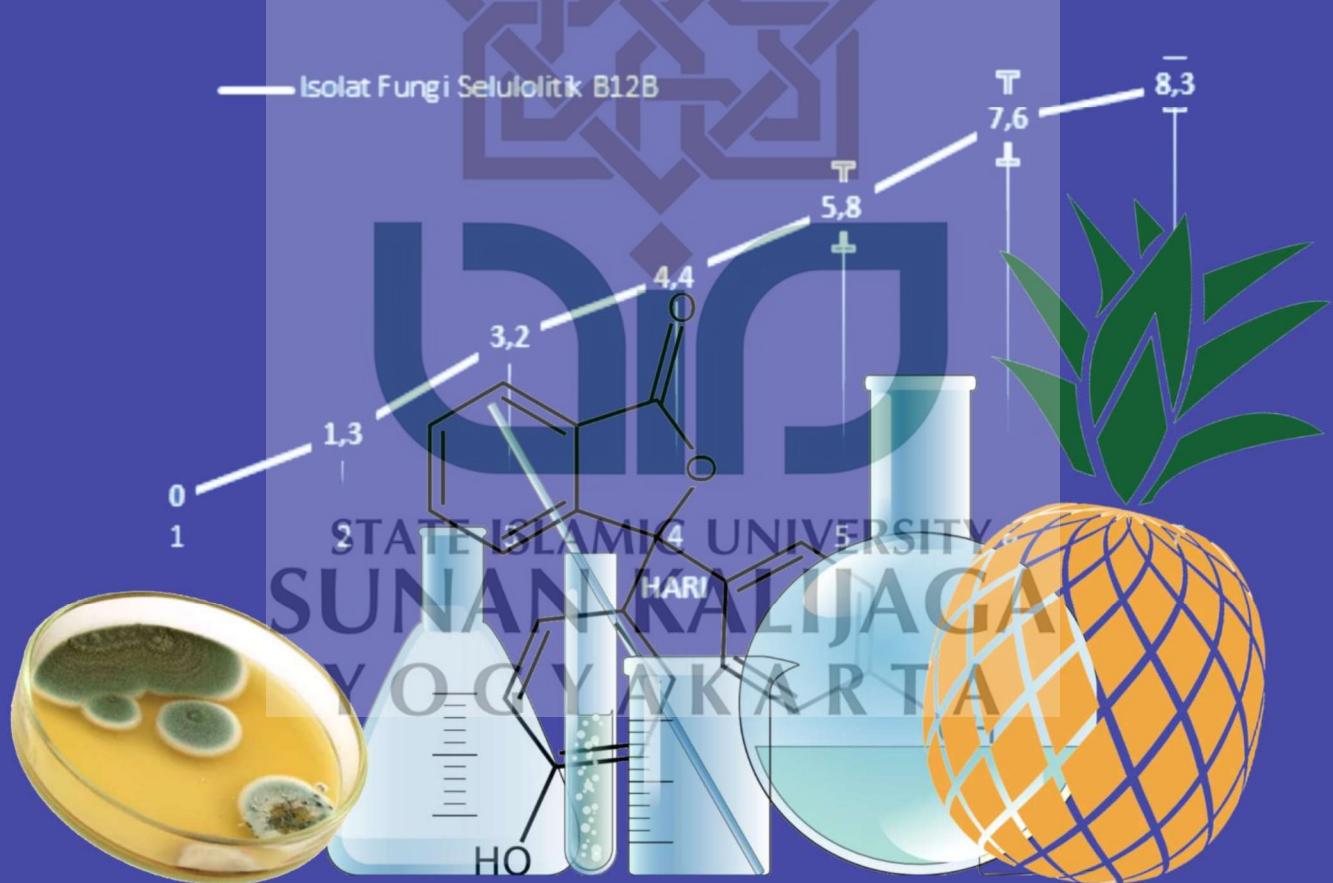


**EFEK VARIASI PRE-TREATMENT DAN KONSENTRASI  
SUBSTRAT KULIT NANAS MADU (*Ananas comosus* L. Merr)  
SERTA FAKTOR AGITASI DALAM PRODUKSI ENZIM  
SELULASE OLEH ISOLAT FUNGI *Penicillium* sp. B12B**



**EFEK VARIASI PRE-TREATMENT DAN  
KONSENTRASI SUBSTRAT KULIT NANAS MADU  
(*Ananas comosus* L. Merr) SERTA FAKTOR AGITASI  
DALAM PRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH  
ISOLAT FUNGI *Penicillium* sp. B12B**

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



STATE ISLAMIC UNIVERSITY  
**SUNAN KALIJAGA**  
YOGYAKARTA

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
YOGYAKARTA  
2020**



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

**PENGESAHAN TUGAS AKHIR**

Nomor : B-2249/Un.02/DST/PP.00.9/09/2020

Tugas Akhir dengan judul : Efek Variasi Pre-Treatment dan Konsentrasi Substrat Kulit Nanas Madu (Ananas comosus L. Merr) Serta Faktor Agitasi dalam Produksi Enzim Selulase oleh Isolat Fungi Penicillium sp. B12B

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : ARETASANI RAHIM  
Nomor Induk Mahasiswa : 16640034  
Telah diujikan pada : Rabu, 19 Agustus 2020  
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

**TIM UJIAN TUGAS AKHIR**

Ketua Sidang

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si

SIGNED

Valid ID: 5f69b68f26bf1

Pengaji I

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.

SIGNED

Valid ID: 5f69a886efc6f

Pengaji II

Ardyan Pramudya Kurniawan, S.Si., M.Si.

SIGNED

Valid ID: 5f4657842067b

Yogyakarta, 19 Agustus 2020

UIN Sunan Kalijaga

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si.

SIGNED

Valid ID: 5f69c2e40f2ea



### **SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta  
di Yogyakarta

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Aretasani Rahim

NIM : 16640034

Judul Skripsi : Efek Variasi *Pre-Treatment* dan Konsentrasi Substrat serta Faktor Agitasi Dalam Produksi Enzim Selulase oleh Isolat Fungi *Penicillium* sp. B12B

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum wr. wb.*

Yogyakarta, 3 Agustus 2020

Pembimbing

Erny Qurotul Ainy, M.Si.  
NIP. 197912172009012004

## **PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Aretasani Rahim

NIM : 16640034

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Efek Variasi Pre-Treatment dan Konsentrasi Substrat serta Faktor Agitasi dalam Produksi Enzim Selulase oleh Isolat Fungi *Penicillium* sp. B12B**" merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak terdapat pada karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjana di suatu perguruan tinggi, dan bukan plagiasi karya orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 3 Agustus 2020



Aretasani Rahim

NIM. 16640034

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Skripsi ini aku persembahkan untuk yang tersayang

Ibu dan Ayah,

yang telah dengan ikhlas memberikan segalanya

dalam sehat maupun sakit,

suka maupun duka,

sejak aku dilahirkan hingga aku siap melewati rintangan dunia.

Terimakasih Ayah dan Ibu.

Semoga kalian selalu dilindungi Allah SWT,

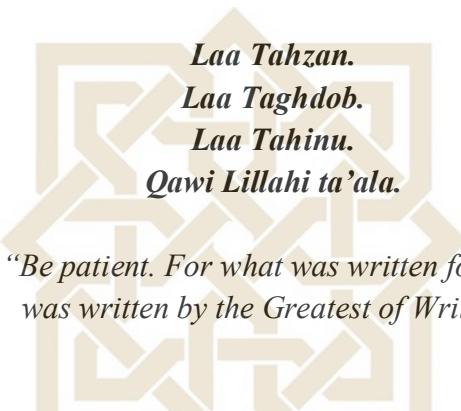
Bahagia di dunia maupun di akhirat.



## MOTTO

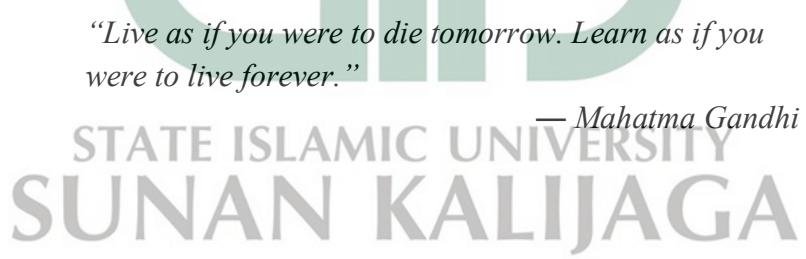
*Pray. Believe. Never Say Never.*

—Justin Bieber—



“Bukankah tidak ada balasan bagi amal yang baik melainkan balasan yang baik juga?”

— Ar-Rahman 55:60



“There is no creature on earth but that upon Allah is its provision, and He knows its place of dwelling and place of storage”

— Hud 11:06

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim.*

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

*Alhamdulillahirabbil'alamin,* segala puji syukur sepatutnyalah hanya ditujukan kepada Allah SWT, Sang Khalik pemilik segala ilmu dan pengetahuan. Atas segala kehendak dan kasih sayang-Nya, laporan penelitian yang berjudul **Efek Variasi Pre-Treatment dan Konsentrasi Substrat Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* L. Merr)** serta **Faktor Agitasi dalam Produksi Enzim Selulase Oleh Isolat Fungi *Penicillium* sp. B12B** dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana program studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Sunan Kalijaga Yogyakarta. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Penyusunan laporan ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran senantiasa diharapkan untuk penyempurnaannya di masa yang akan datang. Ucapan terima kasih tidak lupa disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung proses penyusunan skripsi ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., MA, selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

2. Ibu Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sekaligus dosen pembimbing skripsi yang dengan sabar dapat meluangkan waktunya untuk memberikan motivasi, koreksi dan kritik saran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Ibu Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
5. Ibu Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.; Ibu Prof. Dr. Hj. Maizer Said Nahdi, M.Si.; Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si.; Ibu Siti Aisah, S.Si., M.Si.; Bapak Ardyan Pramudya Kurniawan, S.Si., M.Si.; Ibu Dr. Isma Kurniatanty, S.Si., M.Si.; Ibu Agessty Ika Nurlita, M.Si.; Ibu Anisa Nazera Fauzia, M.Biotech; Ibu Dian Aruni Kumalawati, M.Sc.; Ibu Satiti Ratnasari, M.Sc.; dan Ibu Shilfiana Rahayu, M.Sc. selaku dosen pengampu mata kuliah program studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah memberikan banyak ilmu bermanfaat.
6. Bapak Dony Eko Saputro, S.Pd.I.; Bapak Sutriyono, S.Si. dan Ibu Anif Yuni Muallifah, S.Pd.I. selaku staf Laboratorium Biologi, serta Ibu Ethik Susiawati, S.Si. selaku PLP yang dengan sabar memberi arahan pada saat penelitian.
7. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
8. Keluargaku tercinta, Ayah Andry Meilady, Ibu Hesti Yustitia Istiqomah serta kedua adikku Adinda Meilady Nurhaliza dan Muhammad Alaina Raihan yang selalu memberikan doa, perhatian, kasih sayang, semangat canda tawa dan segala dukungan yang tak terhingga.
9. Seluruh Keluarga Besar Opa Abdul Kadir dan Aki H. M. Tosin Somaatmaja yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan.
10. Sahabat-sahabatku di Jogja, Sekar, Lina, Nabilah, Dimas, JTeam, Saintek Musik, anak Lab. Mikro, Bima, Aldi SD dan semua yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah senantiasa menemani penulis selama kuliah serta memberikan semangat, dorongan, dan inspirasi dalam proses pengerjaan skripsi ini.

11. Sahabat-sahabatku di Bekasi, Rain, Loyals Crew, DOE dkk., Bers, Hamba Allah dan yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang senantiasa mendoakan, menguatkan dan menghibur dalam kejemuhan serta kesedihan dari jauh.
12. Seluruh teman-teman *close friend* ku yang senantiasa sabar mendengarkan, membaca dan melihat seluruh keluh kesah serta hal aneh yang aku *share*.
13. Seluruh teman-teman Biologi 2016 yang mewarnai keseharian kuliahku.
14. Teman-teman KKN Kelompok 239 Angkatan 99 dan warga Dukuh Pondok.
15. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu dan telah memberikan banyak doa dan dukungan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang terbaik untuk semuanya.  
*Aamiin ya rabbal aalamin.*

Yogyakarta, 30 Juli 2020



# **Efek Variasi *Pre-Treatment* dan Konsentrasi Substrat Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* L. Merr) serta Faktor Agitasi dalam Produksi Enzim Selulase oleh Isolat Fungi *Penicillium* sp. B12B**

Aretasani Rahim  
16640034

## **ABSTRAK**

Fungi *Penicillium* sp. B12B berpotensi sebagai agen *biofactory* dalam memproduksi enzim selulase yang dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor *pre-treatment* substrat, kondisi lingkungan dan nutrisi. Kulit buah nanas diharapkan dapat menjadi alternatif substrat sebagai sumber karbon dalam produksi enzim selulase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek variasi *pre-treatment* terhadap substrat kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan faktor agitasi, serta mengetahui konsentrasi optimum substrat kulit buah nanas dalam produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B. Tahapan penelitian ini meliputi *pre-treatment* substrat secara fisik dan kimiawi, uji substrat hasil *pre-treatment* dan faktor agitasi yang dianalisis menggunakan *ANOVA Two Way*, serta optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu produksi enzim selulase yang dianalisis menggunakan *Paired Simple T-Test*. Hasil penelitian menunjukkan *pre-treatment* kulit nanas secara fisik dan kimiawi serta faktor agitasi menghasilkan perbedaan produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B, dengan rentang aktivitas enzim tertinggi yaitu sebesar 0,009 U/mL pada waktu 48 ke 72 jam. Berdasarkan hasil analisis *Paired Sample T-Test*, aktivitas enzim pada optimasi konsentrasi substrat memiliki nilai *sig.* (2-tailed) sebesar  $0,006 < 0,05$ . Dengan demikian terdapat pengaruh variasi konsentrasi substrat terhadap hasil aktivitas enzim selulase oleh fungi *Penicillium* sp. B12B. Konsentrasi substrat kulit nanas madu yang optimum dalam produksi enzim selulase oleh fungi *Penicillium* sp. B12B yaitu 2,5% sebesar 0,161 U/mL.

*Kata kunci* : *Biofactory*, kulit nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr), optimasi konsentrasi substrat

# **Variation Effects of Substrate *Pre-treatment* and Concentration of Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) Peel with Agitation Factors on Cellulase Enzyme Production by *Penicillium* sp. B12B**

Aretasani Rahim  
16640034

## **ABSTRACT**

*Penicillium* sp. B12B is a promising agent in cellulase enzyme production that was affected by several factors, including substrate *pre-treatment*, environmental conditions and nutrition. Pineapple peel is expected to be an alternative substrate in the production of cellulase enzymes. This study aims to determine the effect of *pre-treatment* variations on the pineapple peel substrate (*Ananas comosus* L. Merr) and agitation factors, and the optimum concentration of pineapple peel substrate in the production of cellulase by fungi isolate *Penicillium* sp. B12B. The stages of this research include physical and chemical substrate *pre-treatment*, *pre-treatment* substrate test and agitation factors that were analyzed by Two Way ANOVA, and optimization of the substrate concentration of pineapple peel in cellulase production that analyzed by Paired Simple T-Test. The results showed that physical and chemical pineapple peel *pre-treatment* and agitation factors have affected the production of cellulase by fungi *Penicillium* sp. B12B in different level, with the highest range of enzyme activity was 0,009 U/mL at 48 to 72 hours. Enzyme activity in the optimization of substrate concentration has a sig. value (2-tailed) of  $0.006 < 0.05$ . Thus it was known that variations in susbrat concentration has affected cellulase enzyme activity by fungi *Penicillium* sp. B12B. The optimum substrate concentration in cellulase enzymes production by fungi *Penicillium* sp. B12B was 2.5% with 0.161 U/mL.

**Keywords :** Biofactory, honey pineapple peel (*Ananas comosus* L. Merr), optimization of substrate concentration

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMPAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>12</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>14</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>15</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>16</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>17</b>
A. Latar Belakang .....	17
B. Rumusan Masalah .....	23
C. Tujuan Penelitian .....	24
D. Manfaat Penelitian .....	24
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>25</b>
A. Selulosa .....	25
B. Enzim Selulase.....	27
C. Mikroorganisme Selulolitik .....	29
D. Aktivitas Enzim Selulase .....	31
1. Jenis substrat .....	31
2. Metode <i>pre-treatment</i> .....	32
3. Agitasi .....	34
4. Konsentrasi substrat .....	35
5. Suhu .....	35
6. pH .....	36
7. Konsentrasi enzim .....	37

E. Optimasi Produksi Enzim .....	38
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>41</b>
A. Waktu dan Tempat .....	41
B. Alat dan Bahan.....	41
C. Prosedur Kerja.....	42
1. Persiapan dan <i>pre-treatment</i> bahan baku substrat serbuk kulit buah nanas.....	42
2. Persiapan inokulum fungi <i>Penicillium</i> sp. B12B .....	43
3. Uji substrat hasil <i>pre-treatment</i> dan faktor agitasi .....	44
4. Optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu produksi enzim selulase .....	46
5. Uji aktivitas enzim selulase.....	47
6. Uji kadar selulosa .....	48
7. Pembuatan kurva standar glukosa .....	49
8. Pengamatan pertumbuhan fungi selulolitik <i>Penicillium</i> sp. B12B ....	49
D. Analisis Hasil .....	50
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>51</b>
A. <i>Pre-treatment</i> Bahan Baku Substrat Serbuk Kulit Nanas .....	51
B. Pengaruh Hasil <i>Pre-treatment</i> Substrat dan Faktor Agitasi.....	52
C. Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas Madu pada Produksi Enzim Selulase.....	56
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>61</b>
A. Kesimpulan .....	61
B. Saran.....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>67</b>
<b>CURRICULUM VITAE.....</b>	<b>84</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Skema variasi substrat hasil <i>pre-treatment</i> dan kondisi inkubasi pada produksi selulase oleh isolat fungi <i>Penicillium</i> sp. B12B.....	45
Tabel 2. Hasil uji aktivitas enzim selulase pada pengaruh <i>pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi.....	55
Tabel 3. Hasil uji aktivitas enzim selulase pada optimasi konsentrasi substrat pada suhu 35°C selama 4 hari masa inkubasi .....	56
Tabel 4. Hasil pengukuran kadar selulosa kulit nanas madu ( <i>Ananas comosus</i> L. Merr) .....	59
Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi kurva standar glukosa .....	67
Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi uji hasil <i>pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi .....	68
Tabel 7. Hasil pengukuran absorbansi optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu pada suhu 35°C yang diinkubasi selama 4 hari .....	78



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur rantai selulosa tunggal, terdiri dari ribuan unit disakarida ( <i>cellobiose</i> ) berulang; satu unit disakarida ditampilkan di dalam kurung dan juga terdapat ikatan $\beta$ 1-4 (Deacon, 2006) .....	26
Gambar 2. Mekanisme kerja enzim selulase terhadap ikatan spesifik pada selulosa (Golan, 2011) .....	27
Gambar 3. <i>Pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi fungi <i>Penicillium</i> sp. B12B. Keterangan: (a) AI; (b) BI; (c) AS; dan (d) BS .....	53
Gambar 4. Kurva laju pertumbuhan isolat fungi <i>Penicillium</i> sp. B12B .....	58
Gambar 5. Kurva standar glukosa .....	67
Gambar 6. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim pada serbuk A dan B .....	77
Gambar 7. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim pada <i>incubator</i> dan <i>incubator shaker</i> .....	77
Gambar 8. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas sebelum dan sesudah inkubasi .....	83
Gambar 9. Hasil analisis <i>Paired Sample T-Test</i> data aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas sebelum dan sesudah inkubasi .....	83

**STATE ISLAMIC UNIVERSITY  
SUNAN KALIJAGA  
YOGYAKARTA**

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Kurva standar glukosa .....	67
Lampiran 2. Perhitungan konsentrasi glukosa uji hasil <i>pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi .....	68
Lampiran 3. Perhitungan aktivitas enzim uji hasil <i>pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi .....	72
Lampiran 4. Output hasil analisis pada pengujian variasi <i>pre-treatment</i> substrat dan faktor agitasi .....	77
Lampiran 5. Perhitungan konsentrasi glukosa optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu .....	78
Lampiran 6. Perhitungan aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu.....	80
Lampiran 7. Output hasil analisis pada pengujian optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu .....	83



## BAB I

# PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk mempercepat reaksi kimia di dalam sistem biologi. Salah satu jenis enzim yang berperan besar dalam kehidupan yaitu enzim selulase. Enzim ini merupakan suatu sistem enzim yang terdiri atas tiga kelas utama yaitu endoglukanase, selobiohidrolase/ eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Aktivitas bersama yang dilaksanakan oleh ketiga kelas selulase diperlukan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa secara efisien. Sistem selulase ini bekerja secara sinergis dan berurutan untuk mengurai selulosa menjadi glukosa (Kricka *et al.*, 2014). Molekul selulosa merupakan salah satu komponen pembangun tumbuhan yang tersusun dalam bentuk fibril yang terdiri atas beberapa molekul yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik sehingga sulit diuraikan (Fitriani, 2003). Komponen tersebut dapat diuraikan oleh aktivitas mikroorganisme untuk digunakan sebagai sumber energi (Sukumaran *et al.*, 2005).

Selulase merupakan enzim yang banyak diaplikasikan dalam dunia industri. Menurut Sholihat *et al.* (2015), pada industri tekstil selulase digunakan sebagai *biopolishing* kain untuk meningkatkan kelembutan dan kecerahannya. Pada produksi bahan pakan ternak, aplikasi selulase berperan dalam mempermudah adsorpsi pakan dalam pencernaan ternak. Selulase juga digunakan dalam proses *deinking* berbagai jenis limbah kertas untuk

mengurangi penggunaan alkali, meningkatkan kecerahan fiber dan mempertahankan kekuatan kertas (Agustini *et al.*, 2017). Selain itu selulase dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi biomassa yang mengandung selulosa menjadi biofuel, seperti bioethanol (Mtui, 2009). Tingginya kebutuhan produksi selulase mendorong dilakukannya penelitian tentang formula terbaik untuk memproduksi enzim selulase.

Produksi selulase secara komersial biasanya didapat dari makroorganisme serta mikroorganisme selulotik. Menurut Gupta *et al.* (2012), enzim selulase dapat diisolasi dari tumbuhan, hewan, dan mikroba seperti khamir, bakteri dan fungi selulolitik. Menurut Anbu *et al.* (2013), keunggulan mikroba dalam produksi selulase diantaranya lebih mudah dikultur, produksi enzim yang lebih mudah untuk ditingkatkan, biaya produksi lebih ekonomis, waktu produksi yang relatif cepat dibandingkan dengan makroorganisme, dan proses produksi tidak ditentukan oleh perubahan musim.

Mikroba selulolitik yang digunakan dalam memproduksi enzim selulase bisa berupa bakteri atau fungi. Jenis bakteri mesofil selulolitik yang umumnya digunakan tersebut yaitu berasal dari genus *Clostridium*, *Bacillus* dan *Zymomonas*, sedangkan dari jenis bakteri hipertermofil diantaranya dari genus *Pyrococcus* dan *Thermotoga* (Golan, 2011). Beberapa kelompok fungi selulolitik yang umumnya digunakan sebagai agen *biofactory* ialah dari jenis *Pencillium*, *Aspergillus* dan *Trichoderma* (Lynd *et al.*, 2002).

Bila dibandingkan dengan bakteri selulolitik, fungi selulolitik lebih unggul digunakan sebagai agen *biofactory* karena beberapa kelebihan yang dimilikinya. Keunggulan tersebut diantaranya adalah fungi merupakan spesies yang mampu tumbuh di lingkungan yang sedikit nutrisi, kelembaban rendah dengan penyebaran yang luas, spora yang dihasilkan melimpah sehingga dapat menghasilkan enzim yang tinggi (Made *et al.*, 2011). Salah satu mikroba selulolitik yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen *biofactory* selulase adalah fungi saprofit selulolitik *Penicillium* sp. B12B yang telah diisolasi oleh Pintari (2019) dari serasah daun *Rhizophora mucronata*.

Produksi selulase oleh fungi selulolitik dipengaruhi oleh faktor nutrisi, salah satunya sumber karbon (C). Menurut Sandika *et al.* (2017), sumber karbon dibutuhkan untuk aktivitas mikroorganisme dalam mempertahankan hidupnya dengan melakukan mekanisme biosintesis, yang berfungsi sebagai penyimpanan (*storage*) dan kerangka pembangun sel (*structural*). Sumber karbon ini bisa didapatkan dari bahan alternatif berupa sampah organik. Penggunaan sampah organik dilakukan untuk mengurangi permasalahan lingkungan. Sampah yang tidak terpakai, tentu membutuhkan waktu untuk terurai menjadi bagian-bagian kecil. Volume sampah setiap harinya bertambah, sehingga apabila usaha dalam pemanfaatan sampah kurang maka sampah akan menumpuk dan tidak dapat tertampung lagi. Perlu dilakukan upaya dalam memanfaatkan sampah menjadi sesuatu yang

bernilai, khususnya pemanfaatan sampah organik yang masih memiliki kandungan gizi untuk digunakan.

Alfiah dan Kuswytasari (2012) menyatakan bahwa produksi enzim selulase oleh *Penicillium* sp. menggunakan beberapa media alternatif tongkol jagung, bagase tebu, jerami padi dan eceng gondok dengan yang diinkubasi pada suhu 30°C, 35°C dan 40°C dengan pH 6,0 dan 8,0 menunjukan bahwa media dari limbah tongkol jagung dengan perlakuan pH 6 pada suhu 35°C mempunyai aktivitas enzim paling tinggi yaitu sebesar 0,595 U/mL. Selain itu Purkan *et al.* (2015) melakukan produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* menggunakan substrat organik sekam padi dan ampas tebu sebagai induser dengan variasi kadar sebesar 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0% (b/v). Kultur diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu ruang dengan agitasi 150 rpm. Hasil penelitian menunjukan bahwa konsentrasi optimal induser sebesar 2,5%. Karakteristik enzim selulase dari *Aspergillus niger* yang diinduksi oleh sekam padi berlangsung optimal pada pH 4 suhu 50°C dengan aktivitas enzim sebesar 0,709 U/mL.

Kulit nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan salah satu opsi sampah organik yang perlu dimanfaatkan. Selama ini bagian nanas yang seringkali dimanfaatkan adalah buahnya, sedangkan bagian lainnya hanya menjadi produk sisa sampah organik yang kurang dimanfaatkan dan hanya dibuang begitu saja. Menurut Sandika *et al.* (2017), kulit nanas merupakan hasil limbah yang menempati porsi paling tinggi yaitu sebesar 30-42%, sedangkan bagian batang 2-5% dan bagian mahkota 2-4%. Padahal

kulit nanas memiliki kandungan sumber karbon yang cukup tinggi untuk nutrisi pertumbuhan fungi. Andaka (2010) menyatakan bahwa kulit buah nanas madu mengandung 17,53% karbohidrat; 4,41% protein; 13,65% gula reduksi; 18,72% kadar air dan 20,87% serat kasar.

Pasaribu *et al.* (2013) telah melakukan penelitian mengenai produksi enzim selulase dari fungi selulolitik *Aspergillus niger* menggunakan sumber karbon berupa kulit nanas. Variabel konsentrasi substrat yang digunakan yaitu 0,5; 1; 1,5 dan 2 g/ml dan waktu inkubasi 2, 3, 4, 5 dan 6 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase tertinggi diperoleh pada variabel konsentrasi substrat 1 g/ml dan waktu fermentasi 4 hari sebanyak 3,57 g/L.

Karbohidrat dan serat kasar merupakan sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme dalam mensintesis selulase (Sumarlin *et al.*, 2013). Komposisi glukosa dalam media digunakan sebagai pemanis pertumbuhan sel di fase awal. Setelah glukosa habis maka mikroba akan memanfaatkan sumber karbon selulosa dengan mensintesis enzim selulase (Meryandini *et al.*, 2010). Milala *et al.* (2005) dan Lynd *et al.* (2002) menyebutkan bahwa fungi akan menghasilkan selulase jika ditumbuhkan pada medium yang mengandung selulosa. Pada konsentrasi substrat yang makin tinggi maka sisi aktif enzim akan semakin banyak mengikat substrat sehingga produk glukosa yang dihasilkan juga semakin banyak, begitu pula sebaliknya. Namun penambahan konsentrasi lebih lanjut melebihi batas optimum hanya akan meningkatkan sedikit aktivitas ekstrak kasar enzim.

Hal tersebut dikarenakan hampir semua enzim telah membentuk kompleks enzim-substrat, sehingga tidak terdapat lagi sisi aktif enzim yang bebas (Sastri *et al.*, 2015).

Hambatan yang mungkin muncul ketika melakukan optimasi dengan menggunakan substrat alami ialah komponen lignoselulosa di dalam limbah karbon. Kandungan lignin yang tinggi pada bahan baku substrat berperan sebagai pelindung selulosa. Kandungan ini sangat sulit untuk dibiotransformasi, baik dengan mikroba maupun enzim sehingga memerlukan proses *pre-treatment* untuk mempercepat laju hidrolisis substrat lignoselulosa. Penurunan kadar lignoselulosa ini dapat dilakukan melalui proses *pre-treatment* dengan berbagai metode fisik, kimiawi, fisikokimia atau biologi.

Menurut Mtui (2009) dalam meningkatkan laju hidrolisis dengan enzim perlu dilakukan perlakuan awal/ *pre-treatment* secara fisik untuk memperkecil ukuran partikel substrat lignoselulosa. Ukuran partikel menentukan besarnya ruang antar bahan (porositas). Permukaan area yang lebih luas akan meningkatkan kontak antara mikroba dengan bahan sehingga proses hidrolisis akan berjalan lebih cepat. Selain itu perlu diberi perlakuan delignifikasi secara kimiawi untuk mengurangi atau menghilangkan hambatan tersebut, salahsatunya perlakuan dengan alkali.

Selain jenis, konsentrasi, dan perlakuan terhadap substrat, produksi enzim selulase oleh fungi selulolitik dipengaruhi oleh faktor lain seperti agitasi. Agitasi berperan penting dalam pertumbuhan fungi yaitu dalam

meningkatkan transfer massa nutrisi serta oksigen antara sel dan substrat yang digunakan (Tomasini & Hugo 2019). Dengan demikian, pengadukan (agitasi) akan mempengaruhi aktivitas mikroba dalam memproduksi enzim.

Produksi enzim selulase oleh fungi selulolitik dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu faktor *pre-treatment*, kondisi lingkungan dan nutrisi. Selain meningkatnya permintaan produksi enzim selulase, tingginya limbah organik menjadi permasalahan. Dengan demikian, faktor-faktor tersebut harus diperhatikan agar pertumbuhan fungi selulolitik mendapatkan hasil yang optimum. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang efek variasi *pre-treatment* substrat dan faktor agitasi serta penentuan konsentrasi optimum substrat kulit nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr) dalam memproduksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B.

## B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana efek variasi *pre-treatment* terhadap substrat kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr) dan faktor agitasi dalam produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B?
2. Berapa konsentrasi optimum substrat kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr) dalam produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B?

### C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk

1. Mengetahui efek variasi *pre-treatment* terhadap substrat kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan faktor agitasi dalam produksi enzim selulase oleh fungi *Penicillium* sp. B12B
2. Mengetahui konsentrasi optimum substrat kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dalam produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B

### D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif strategis dalam pemanfaatan kulit buah nanas sebagai bahan baku produksi enzim sehingga dapat menurunkan biaya produksi dalam proses produksi industri selulase serta berperan dalam penurunan volume limbah pertanian.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. *Pre-treatment* kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) secara fisik dan kimiawi serta faktor agitasi memberikan hasil produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B yang berbeda, dengan rentang aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu pada waktu 48 ke 72 jam sebesar 0,009 U/mL.
2. Konsentrasi optimum substrat kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dalam produksi enzim selulase oleh isolat fungi *Penicillium* sp. B12B adalah 2,5% dengan rentang aktivitas enzim sebesar 0,161 U/mL.

#### **B. Saran**

Perlu dilakukannya pengambilan sampel secara berkala apabila belum mengetahui fase pertumbuhan fungi secara pasti dalam memproduksi enzim selulase dengan media yang akan diuji. Apabila tidak ingin melakukan pengambilan sampel secara berkala, maka perlu dilakukan *pre-treatment* secara fisik dengan memperkecil ukuran partikel substrat serta mengurangi kadar lignin di dalam substrat berlignoselulosa dengan metode kimiawi ataupun biologi. Namun penggunaan cara kimiawi tidak disarankan karena akan menambah volume limbah kimia yang sangat banyak, sehingga lebih baik menggunakan metode biologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, L., & Efiyanti, L. (2015). Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Terhadap Hidrolisis Selulosa dan Produksi Etanol dari Limbah Berlignoselulosa. *Penelitian Hasil Hutan*, 33(1), 69–80.
- Agustini, L., Irianto, R. S., Turjaman, M., Faulina, S. A., Arianteri, R., Stephandra, S., ... Yani, A. (2017). Pengaruh Kondisi Kultur pada Aktivitas Selulase Isolat *Pycnoporus* sp. dan *Phlebiopsis* sp. *Jurnal Selulosa*, 7(02), 79. <https://doi.org/10.25269/jsel.v7i02.215>
- Alfiah, I., & Kuswytasari, N. D. (2012). Produksi Enzim Selulase Oleh *Penicillium* sp. pada Suhu, pH dan Limbah Pertanian Yang Berbeda. *Jurnal Institut Sepuluh November (ITS)*, 1–7.
- Amore, A., Giacobbe, S., & Faraco, V. (2013). *Regulation of Cellulase and Hemicellulase Gene Expression in Fungi*. 230–249.
- Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Cihan, A. C., & Chaulagain, B. P. (2013). Microbial Enzymes and Their Applications in Industries and Medicine. *BioMed Research International*, 2013(February 2014). <https://doi.org/10.1155/2013/204014>
- Andaka, G. (2010). Pemanfaatan Limbah Kulit Nanas Untuk Pembuatan Bioetanol Dengan Proses Fermentasi. *Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Sains & Teknologi (SNAST) Periode II*, 207–212.
- Anwar, N., Widjaja, A., & Winardi, S. (2008). Optimasi Produksi Enzim Selulase untuk Hidrolisis Jerami Padi. *Seminar Nasional Kimia*, (2006), 1–5.
- Ariyani, S. B., Asmawit, & Utomo, P. P. (2014). Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat. *Biopropal Industri*, 5(2), 61–67.
- Baharudin, M., Patong, A. R., Ahmad, A., & Nafie, N. L. (2008). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Simbion Lerva Kupu-kupu Cossus cossus Penghasil Enzim Selulase*. 58–68.
- Beitel, S. M., & Knob, A. (2013). *Penicillium miczynskii*  $\beta$ -glucosidase: A Glucose-tolerant Enzyme Produced using Pineapple Peel as Substrate. *Industrial Biotechnology*, Vol. 9, pp. 293–300. <https://doi.org/10.1089/ind.2013.0016>
- Budi, K. Z., Wijanarka., & Kusdiyantini, E. (2018). Aktivitas Enzym Selulase yang Dihasilkan oleh Bakteri *Serratia marcescens* pada Substrat Jerami. *Jurnal Biologi*, 7(1), 35–42. Retrieved from <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/download/19624/18614>
- Chandel, A. K., Kapoor, R. K., Singh, A., & Kuhad, R. C. (2007). Detoxification

- of Sugarcane Bagasse Hydrolysate Improves Ethanol Production by *Candida shehatae* NCIM 3501. *Bioresource Technology*, 98(10), 1947–1950. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.047>
- Costa, B. de O., & Nahas, E. (2012). Growth and Enzymatic Responses of Phytopathogenic Fungi To Glucose In Culture Media and Soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 332–340. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000100039>
- Deacon, J. W. (2006). Fungal Biology. In *Blackwell Publishing*. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.11.010166.002231>
- Devabaktuni, L., P.K.Kulkarni, Dixit, M., Raavi, P. K., & L. Naga Vamsi, K. (2015). Sources of cellulose and their applications. *INTERNATIONAL JOURNAL OF DRUG FORMULATION AND RESEARCH*, 2(January 2011), 19–38.
- Devi, M., & Kumar, M. (2012). Production, Optimization and Partial purification of Cellulase by *Aspergillus niger* Fermented With Paper and Timber Sawmill Industrial Wastes. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(1), 120–128.
- Febriningrum, P. N. (2013). Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas dan Kecepatan Pengadukan terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* untuk Produksi Asam Laktat. *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 9(3), 144. <https://doi.org/10.23955/rkl.v9i3.784>
- Fitriani, E. (2003). *Aktivitas Enzim Kerboksimetil Selulase Bacillus pumilus Galur 55 pada Berbagai Suhu Inkubasi*. Bogor: Kimia FMIPA IPB.
- Gautam, S. P., Bundela, P. S., Pandey, A. K., Khan, J., Awasthi, M. K., & Sarsaiya, S. (2011). Optimization for the Production of Cellulase Enzyme from Municipal Solid Waste Residue by Two Novel Cellulolytic Fungi. *Biotechnology Research International*, 1–8. <https://doi.org/10.4061/2011/810425>
- Golan, A. E. (2011). Cellulases Types and Action, Mechanism, and Uses. In *Nova Science Publishers, Inc. New York*.
- Groves, J. D., Falson, P., Le Maire, M., & Tanner, M. J. A. (1996). Functional Cell Surface Expression of The Anion Transport Domain of Human Red Cell Band 3 (AE1) in The Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(22), 12245–12250. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12245>
- Gunam, I., & Wartini, N. (2011). Delignifikasi Ampas Tebu Dengan Larutan Natrium Hidroksida Sebelum Proses Sakaraifikasi Secara Enzimatis Menggunakan Enzim Selulase Kasar Dari *Aspergillus*. *Jurnal Teknologi Indonesia*, 34, 24–32. Retrieved from <http://www.jti.lipi.go.id/index.php/JTI/article/view/36>

- Gupta, V. K. (2016). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. <https://doi.org/10.1016/c2014-0-00092-5>
- Kricka, W., Fitzpatrick, J., & Bond, U. (2014). Metabolic Engineering of Yeasts by Heterologous Enzyme Production for Degradation Of Cellulose and Hemicellulose from Biomass: A Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 5(APR), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00174>
- Larasati, K., Roza, R. M., & Martina, A. (2014). Analisis Fisiologi Jamur Ligninolitik dan Selulolitik Asal Tanah Gambut Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar sebagai Agen Biokompos. *JOM FMIPA*, 1(2), 590–598.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H., & Pretorius, I. S. (2002). Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(4), 739–739. <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.4.739.2002>
- Made I, S., Gusti., & N. (2011). 106 Uji Antagonisme Beberapa Jenis Jamur Saprofit Terhadap Jamur. *Jurnal Agroteksos*, 21, 2–3.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., & Satria, H. (2010). Isolasi Bakteri Selulolitik Dan Karakterisasi Enzimnya. *MAKARA of Science Series*, 13(1), 33–38. <https://doi.org/10.7454/mss.v13i1.369>
- Milala, M., Shugaba, A., Gidado, A., Ene, A., & Wafar, J. (2005). Studies on the Use of Agricultural Wastes for Cellulase Enzyme Production by Aspegillus niger. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1(4), 325–328.
- Mtui, G. Y. S. (2009). Recent Advances in Pretreatment of Lignocellulosic Wastes and Production of Value Added Products. *African Journal of Biotechnology*, 8(8), 1398–1415.
- Mukhlis, D. K., & Hendri, M. (2018). Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit pada Mangrove Rhizophora apiculata dari Kawasan Mangrove Tanjung Api-api Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Maspuri Journal*, 10(2), 151–160.
- Mustika, I., Yulneriwarni, & Noverita. (2008). Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-alang dalam Fermentasi Etanol Trichoderma viride dan khamir Saccharomyces cerevisiae. *VIS VITALIS*, 01(2).
- Nuringtyas, T. R. (2010). *Karbohidrat*. Yogyakarta: UGM Press.
- Omojasola; Jilani and Ibiyemi. (2008). Cellulase Production by some Fungi Cultured on Pineapple Waste. *Nature and Science*, 6(2), 64–79.
- Pasaribu, F.L., E.Yenie, S. R. M. (2013). Pengaruh Konsentrasi Substrat Dan Waktu Fermentasi Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas (Ananas Comosus

- L. Merr) Untuk Produksi Enzim Selulase. *Jurnal Chemical Engineering*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Patel, A. K., Singhania, R. R., Sim, S. J., & Pandey, A. (2019). Bioresource Technology Thermostable cellulases: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*, 279(14 January), 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.049>
- Pintari, T. A. (2019). Isolasi dan Karakterisasi Fungi Selulolitik dari Serasah Daun Rhizophora Mucronata Asal Hutan Mangrove Wanatirta Jangkaran Kulon Progo. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Pleissner, D., & Kümmerer, K. (2020). Green Chemistry and Its Contribution to Industrial Biotechnology. In *Advances in biochemical engineering/biotechnology* (Vol. 173). [https://doi.org/10.1007/10\\_2018\\_73](https://doi.org/10.1007/10_2018_73)
- Prasanna, H. N., Ramanjaneyulu, G., & Rajasekhar, B. R. (2016). Optimization of cellulase production by *Penicillium* sp. 3 *Biotech*, 6(2), 162.
- Pratiwi, R., Rahayu, D., & Barliana, M. I. (2016). Pemanfaatan Selulosa Dari Limbah Jerami Padi (*Oryza sativa*) Sebagai Bahan Bioplastik. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3(3), 83. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v3i3.9406>
- Purkan, Purnama, H., & Sumarsih, S. (2015). Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar*, 16(2), 95–102.
- Ruiz, A. A. B. (2015). *Biotechnology Handbooks Vol. 1 Penicillium and Acremonium* (Vol. 3). Retrieved from <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Sandika, A., Muria, S. R., & Yenti, S. R. (2017). Fermentasi Kulit Nanas Menjadi Bioetanol Menggunakan Zymomonas mobilis dengan Variasi Pemekatan Medium dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK*, 4(1).
- Saskiawan, Iwan Hasanah, N. (2015). Aktivitas antimikroba dan antioksidan senyawa polisakarida jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*). *PROSEMNAS MASY BIODIV INDON*, 1(5), 1105–1109. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010523>
- Sastri, I. G. A. A. D., Anggreni, A. A. M. D., & Putra, G. P. G. (2015). Optimasi Konsentrasi Substrat Kulit Singkong (*Manihot esculenta* CRANTZ) Dan Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Filter Paperase Dari Kapang *Trichoderma* Viride FNCC 6013. *REKAYASA DAN MANAJEMEN AGROINDUSTRI*, 3(1), 31–38.
- Sholihat, A. M., Baharuddin, M., & Santi. (2015). Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Al Kimia*, 3(2), 78–90.
- Sukumaran, R. K., Singhania, R. R., & Pandey, A. (2005). Microbial Cellulases -

- Production, Applications and Challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64(11), 832–844.
- Sumarlin, L. O., Mulyadi, D., & Asmara, Y. (2013). Identifikasi Potensi Enzim Lipase Dan Selulase Pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 18(3), 159–166.
- Talantan, V. M., Lambui, O., & Suwastika, I. N. (2018). *Uji Aktivitas Selulase Dari Jamur Selulolitik Asal Tanah Danau Kalimpa 'a Sulawesi Tengah Cellulase Activity Of Cellulolytic Fungi On Soil From Lake Kalimpa 'a Central Sulawesi*. 7(3), 323–333.
- Tomasini, A., & Hugo, H. (2019). *Fungal Bioremediation: Fundamentals and Applications* (A. Tomasini & H. Hugo, Eds.). CRC Press.
- Truc, T. T., Binh, L. N., & Muoi, N. V. (2008). Physico-chemical properties of pineapple at different maturity levels. *The First International Conference on Food Science and Technology - Mekong River Delta, Vietnam*, 130–134.
- Utami, A. P., Setyaningsih, R., Pangastuti, A., & Lusi, S. S. A. (2019). Optimasi Produksi Enzim Selulase Dari Jamur Penicillium sp. SLL06 yang Diisolasi Dari Serasah Daun Salak (Salacca edulis). *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 5(2), 145–149. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050201>
- Vilanova, C., Marco, G., Domínguez-Escribà, L., Genovés, S., Sentandreu, V., Bataller, E., ... Porcar, M. (2012). Bacteria from acidic to strongly alkaline insect midguts: Potential sources of extreme cellulolytic enzymes. *Biomass and Bioenergy*, 45, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.06.017>
- Yang, J. C., & Liu, J. (2007). Cellulase Production by Trichoderma koningii AS3.4262 in Solid-state Fermentation Using Lignocellulosic Waste From The Vinegar Industry. *Food Technology and Biotechnology*, 45(4), 420–425.

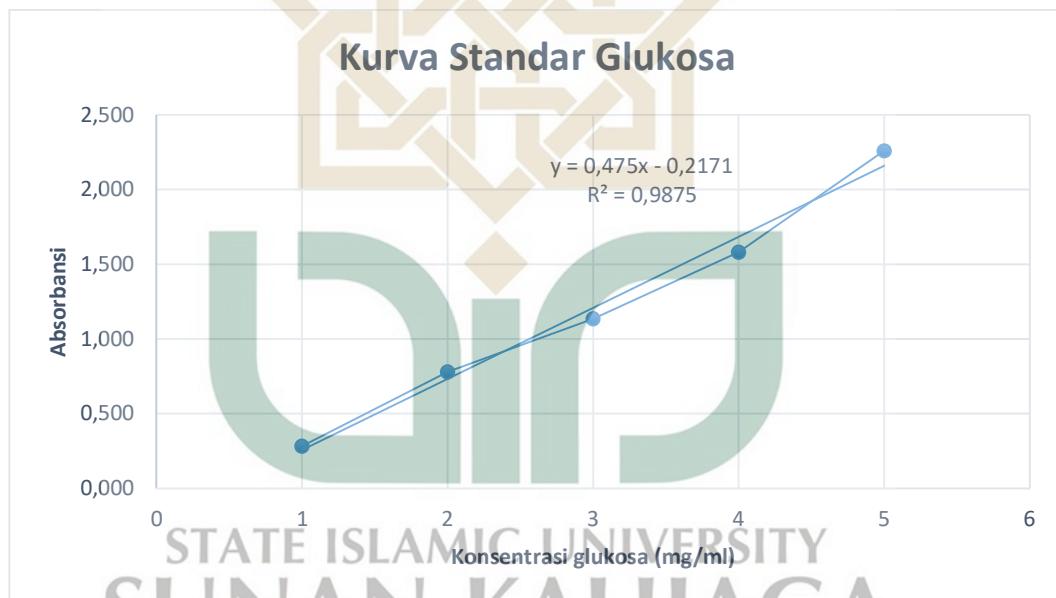
STATE ISLAMIC UNIVERSITY  
**SUNAN KALIJAGA**  
YOGYAKARTA

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Kurva standar glukosa

Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi kurva standar glukosa

Konsentrasi glukosa	Absorbansi
1 mg/ml	0,284
2 mg/ml	0,780
3 mg/ml	1,137
4 mg/ml	1,580
5 mg/ml	2,259



Gambar 5. Kurva standar glukosa

## Lampiran 2. Perhitungan konsentrasi glukosa uji hasil *pre-treatment substrat* dan faktor agitasi

Nilai absorbansi yang didapatkan dari pengukuran sampel menggunakan spektrofotometer, kemudian diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi produk glukosa pada sampel.

Berdasarkan kurva standar didapatkan persamaan regresi linier:

$$y = 0,475x - 0,2171$$

dengan absorbansi (y) dan konsentrasi glukosa (x) yang merupakan variabel yang dicari.

Tabel 6. Hasil pengukuran absorbansi uji hasil *pre-treatment substrat* dan faktor agitasi

No.	Perlakuan	Absorbansi				
		24 jam	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam
1.	AS	4,000	0,810	0,849	0,115	0,014
2.	AI	3,995	4,000	2,193	0,178	0,092
3.	BS	0,203	0,328	0,236	-0,004	-0,012
4.	BI	0,393	0,540	0,561	0,090	-0,008

1. Serbuk A yang diinkubasi dalam *incubator shaker* [AS]
  - a. 24 jam
 
$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 4,000 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{4,000 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 8,878 \end{aligned}$$
  - b. 48 jam
 
$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,810 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,810 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 2,161 \end{aligned}$$
  - c. 72 jam
 
$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,849 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,849 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 2,243 \end{aligned}$$
  - d. 96 jam
 
$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,115 &= 0,475x - 0,2171 \end{aligned}$$

$$x = \frac{0,115 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,699$$

e. 120 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,092 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,092 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,650$$

2. Serbuk A yang diinkubasi dalam *incubator* [AI]

a. 24 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,014 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,014 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,485$$

b. 48 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,031 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,031 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,488$$

c. 72 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,048 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,048 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,503$$

d. 96 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,065 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,065 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,518$$

e. 120 jam

$$y = 0,475x - 0,2171$$

$$0,092 = 0,475x - 0,2171$$

$$x = \frac{0,092 + 0,2171}{0,475}$$

$$x = 0,550$$

3. Serbuk B yang diinkubasi dalam *incubator shaker* [BS]

a. 24 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,203 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,203 + 0,2171}{0,475} \\ &= 0,884 \end{aligned}$$

b. 48 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,328 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,328 + 0,2171}{0,475} \\ &= 1,147 \end{aligned}$$

c. 72 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,236 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,236 + 0,2171}{0,475} \\ &= 0,953 \end{aligned}$$

d. 96 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ -0,004 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{-0,004 + 0,2171}{0,475} \\ &= 0,449 \end{aligned}$$

e. 120 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ -0,012 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{-0,012 + 0,2171}{0,475} \\ &= 0,433 \end{aligned}$$

4. Serbuk B yang diinkubasi dalam *incubator* [BI]

a. 24 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,393 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,393 + 0,2171}{0,475} \\ &= 1,283 \end{aligned}$$

b. 48 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,540 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,540 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 1,594 \end{aligned}$$

c. 72 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,561 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,561 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 1,638 \end{aligned}$$

d. 96 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,090 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{0,090 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 0,645 \end{aligned}$$

e. 120 jam

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ -0,008 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \frac{-0,008 + 0,2171}{0,475} \\ x &= 0,440 \end{aligned}$$

### Lampiran 3. Perhitungan aktivitas enzim uji hasil *pre-treatment* substrat dan faktor agitasi

Konsentrasi glukosa yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan rumus untuk mengetahui aktivitas enzimnya.

$$AE = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan:

AE : Aktivitas enzim (U/ml)

C : Konsentrasi glukosa

t : Waktu inkubasi (menit)

BM : Berat molekul glukosa (180 mg/mmol)

H : Volume total enzim substrat (ml)

E : Volume enzim (ml)

1. Serbuk A diinkubasi dalam *incubator shaker* [AS]

- a. 24 jam

$$AE = \frac{8,878 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{8,878 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,986$$

- b. 48 jam

$$AE = \frac{2,161 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{2,161 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,240$$

- c. 72 jam

$$AE = \frac{2,243 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{2,243 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,249$$

- d. 96 jam

$$AE = \frac{0,699 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,699 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,078$$

- e. 120 jam

$$AE = \frac{0,485 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,485 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,054$$

2. Serbuk A yang diinkubasi dalam *incubator* [AI]

- a. 24 jam

$$AE = \frac{8,868 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{8,868 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,985$$

- b. 48 jam

$$AE = \frac{8,878 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{8,878 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,986$$

- c. 72 jam

$$AE = \frac{5,073 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{5,073 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,564$$

d. 96 jam

$$AE = \frac{0,832 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,832 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,092$$

e. 120 jam

$$AE = \frac{0,650 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,650 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,072$$

3. Serbuk B yang diinkubasi dalam *incubator shaker* [BS]

a. 24 jam

$$AE = \frac{0,884 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,884 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,098$$

b. 48 jam

$$AE = \frac{1,147 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{1,147 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,127$$

c. 72 jam

$$AE = \frac{0,953 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,953 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,106$$

d. 96 jam

$$AE = \frac{0,449 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,449 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,050$$

e. 120 jam

$$AE = \frac{0,433 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,433 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,048$$

4. Serbuk B yang diinkubasi dalam *incubator* [BI]

a. 24 jam

$$AE = \frac{1,283 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{1,283 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,143$$

b. 48 jam

$$AE = \frac{1,594 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{1,594 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,177$$

c. 72 jam

$$AE = \frac{1,638 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{1,638 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,182$$

d. 96 jam

$$AE = \frac{0,645 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,645 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,072$$

e. 120 jam

$$AE = \frac{0,440 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,440 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,049$$

STATE ISLAMIC UNIVERSITY  
**SUNAN KALIJAGA**  
**YOGYAKARTA**

**Lampiran 4. Output hasil analisis pada pengujian variasi *pre-treatment substrat* dan faktor agitasi**

Nilai signifikansi yang didapatkan dari pengujian normalitas sebelum dilanjutkan dengan menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) dua arah (*Two Way*) pada IBM SPSS Statistics 24.

<b>Tests of Normality</b>							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Serbuk	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Serbuk A	,281	7	,102	,776	7	,023
	Serbuk B	,160	10	,200*	,904	10	,240

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Gambar 6. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim pada serbuk A dan B

<b>Tests of Normality</b>							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Inkubasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Inkubator	,344	8	,006	,689	8	,002
	Inkubator shaker	,225	9	,200*	,811	9	,027

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Gambar 7. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim pada *incubator* dan *incubator shaker*

### Lampiran 5. Perhitungan konsentrasi glukosa optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu

Nilai absorbansi yang didapatkan dari pengukuran sampel menggunakan spektrofotometer, kemudian diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi produk glukosa pada sampel.

Berdasarkan kurva standar didapatkan persamaan regresi linier:

$$y = 0,475x - 0,2171$$

dengan absorbansi (y) dan konsentrasi glukosa (x) yang merupakan variabel yang dicari.

Tabel 7. Hasil pengukuran absorbansi optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu pada suhu 35°C yang diinkubasi selama 4 hari

Konsentrasi substrat (b/v)	Absorbansi	
	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi
Kontrol ( <i>Larutan Nutrisi</i> )	0,136	0,136
2,0%	1,372	0,385
2,5%	1,867	1,179
3,0%	2,107	0,748

#### 1. Kontrol

##### a. Sebelum inkubasi

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,136 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \underline{0,136 + 0,2171} \\ &\quad 0,475 \\ x &= 0,743 \end{aligned}$$

##### b. Sesudah fermentasi

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 0,136 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \underline{0,136 + 0,2171} \\ &\quad 0,475 \\ x &= 0,743 \end{aligned}$$

#### 2. Konsentrasi 2,0%

##### a. Sebelum inkubasi

$$\begin{aligned} y &= 0,475x - 0,2171 \\ 1,372 &= 0,475x - 0,2171 \\ x &= \underline{1,372 + 0,2171} \\ &\quad 0,475 \\ x &= 3,345 \end{aligned}$$

b. Setelah inkubasi

$$\begin{aligned}
 y &= 0,475x - 0,2171 \\
 0,385 &= 0,475x - 0,2171 \\
 x &= \frac{0,385 + 0,2171}{0,475} \\
 x &= 1,267
 \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 2,5%

a. Sebelum inkubasi

$$\begin{aligned}
 y &= 0,475x - 0,2171 \\
 1,867 &= 0,475x - 0,2171 \\
 x &= \frac{1,867 + 0,2171}{0,475} \\
 x &= 4,388
 \end{aligned}$$

b. Setelah inkubasi

$$\begin{aligned}
 y &= 0,475x - 0,2171 \\
 1,179 &= 0,475x - 0,2171 \\
 x &= \frac{1,179 + 0,2171}{0,475} \\
 x &= 2,939
 \end{aligned}$$

4. Konsentrasi 3,0%

a. Sebelum inkubasi

$$\begin{aligned}
 y &= 0,475x - 0,2171 \\
 2,107 &= 0,475x - 0,2171 \\
 x &= \frac{2,107 + 0,2171}{0,475} \\
 x &= 4,892
 \end{aligned}$$

b. Setelah inkubasi

$$\begin{aligned}
 y &= 0,475x - 0,2171 \\
 0,748 &= 0,475x - 0,2171 \\
 x &= \frac{0,748 + 0,2171}{0,475} \\
 x &= 2,032
 \end{aligned}$$

### Lampiran 6. Perhitungan aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu

Konsentrasi glukosa yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan rumus untuk mengetahui aktivitas enzimnya.

$$AE = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan:

AE : Aktivitas enzim (U/mL)

C : Konsentrasi glukosa

t : Waktu inkubasi

BM : Berat molekul glukosa (180 mg/mmol)

H : Volume total enzim substrat (ml)

E : Volume enzim (ml)

#### 1. Kontrol

##### a. Sebelum inkubasi

$$AE = \frac{0,743 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,473 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,083$$

##### b. Sesudah inkubasi

$$AE = \frac{0,743 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{0,473 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,083$$

#### 2. Konsentrasi 2,0%

##### a. Sebelum inkubasi

$$AE = \frac{3,345 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{3,345 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,372$$

- b. Sesudah inkubasi

$$AE = \frac{1,267 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{1,267 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,141$$

3. Konsentrasi 2,5%

- a. Sebelum inkubasi

$$AE = \frac{4,388 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{4,388 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,488$$

- b. Sesudah inkubasi

$$AE = \frac{2,939 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{2,939 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$AE = 0,327$$

4. Konsentrasi 3,0%

- a. Sebelum inkubasi

$$AE = \frac{4,892 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$AE = \frac{4,892 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$\text{AE} = 0,544$$

b. Sesudah inkubasi

$$\text{AE} = \frac{2,032 \text{ mg/ml}}{180 \text{ mg/mmol} \times 5} \times \frac{50 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}}$$

$$\text{AE} = \frac{2,032 \text{ ml}}{900 \text{ mmol}} \times 100 \text{ ml}$$

$$\text{AE} = 0,226$$



### Lampiran 7. Output hasil analisis pada pengujian optimasi konsentrasi substrat kulit nanas madu

Nilai signifikansi  $P>0,05$  yang didapatkan dari pengujian normalitas sebelum dilanjutkan dengan menggunakan analisis *Paired Sample T-Test* pada IBM SPSS Statistics 24.

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
sebelum	,237	8	,200*	,854	8	,103
sesudah	,208	8	,200*	,900	8	,290

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Gambar 8. Hasil uji normalitas data aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas sebelum dan sesudah inkubasi

Nilai signifikansi  $P<0,05$  yang didapatkan dari analisis *Paired Sample T-Test* pada IBM SPSS Statistics 24.

Paired Samples Statistics						
	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean		
Pair 1	,87138	8	,101750	,067794		
	,19388	8	,111870	,039552		

Paired Samples Correlations						
	N	Correlation	Sig.			
Pair 1	sebelum & sesudah	8	,768	,028		

Paired Samples Test						
	Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference		
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper	t
Pair 1	sebelum - sesudah	,177500	,128707	,045505	,069898	,285102
						3,901
						7
						,006

Gambar 9. Hasil analisis *Paired Sample T-Test* data aktivitas enzim optimasi konsentrasi substrat kulit nanas sebelum dan sesudah inkubasi