

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ketersediaan gula pada industri pangan sangat dibutuhkan untuk menambah atau memberikan rasa manis pada produk pangan. Gula merupakan komoditas terpenting di Indonesia yang dapat digunakan sebagai sumber kalori, pengawet dan juga pemanis. (Kurniasari *et al.*, 2015). Salah satu jenis gula yang banyak digunakan oleh industri di Indonesia yakni fruktosa. Terdapat beberapa kelebihan dari fruktosa, seperti kadar kemanisannya mencapai 1,2 – 1,8 kali lebih tinggi dari sukrosa, viskositas rendah, tekanan osmotik, dan kelarutan yang lebih tinggi (Singh *et al.*, 2017). Selain itu, penggunaan fruktosa dinilai lebih aman daripada gula sintetis karena terbuat dari bahan alami.

Seiring dengan adanya peningkatan dan pertumbuhan terhadap jumlah penduduk di Indonesia, berpengaruh terhadap ketersediaan gula yang kian meningkat. Kebutuhan fruktosa yang tinggi menyebabkan terjadinya lonjakan impor selama periode 2015 – 2018 yang tumbuh dengan rata – rata sebesar 18,99%. Adapun produksi fruktosa nasional selama periode tersebut hanya berkisar 32.000 ton. Produksi tersebut tergolong rendah karena rata – rata konsumsi fruktosa nasional pada tahun 2015 – 2018 yakni lebih dari 130.000 ton per tahunnya (KPPU, 2020). Fruktosa yang diproduksi di Indonesia menggunakan jagung sebagai bahan baku

utamanya. Produksi fruktosa dapat dilakukan dengan melibatkan peranan enzim inulinase sebagai katalisatornya dalam mengubah kandungan inulin pada pati menjadi fruktosa. Inulin sendiri dapat menghasilkan 95% fruktosa dengan bantuan enzim inulinase (Utomo *et al.*, 2021).

Enzim inulinase merupakan suatu enzim yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis inulin menjadi fruktosa dan fruktooligosakarida (FOS) (Abadianti *et al.*, 2018). Pada tahap prosesnya, penambahan enzim inulinase dilakukan ketika proses sakarifikasi berlangsung (Natori *et al.*, 2022). Enzim ini dapat bersumber dari tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Enzim inulinase yang diisolasi dari tanaman dan hewan lebih sulit dilakukan karena selain hasilnya yang sedikit, waktu regenerasinya pun juga lama. Sedangkan, enzim inulinase yang dihasilkan oleh mikroorganisme dapat memproduksi fruktosa dalam jumlah yang lebih banyak dengan proses produksi yang singkat dan hasil yang melimpah (Guerrero *et al.*, 2021). Mikroorganisme dapat dijadikan pilihan yang tepat sebagai produsen enzim karena pertumbuhannya yang cepat, substrat yang mudah ditemukan dan murah, dan hasil yang mudah ditingkatkan melalui pengaturan kondisi pertumbuhan mikroorganisme tersebut atau lewat rekayasa genetika sehingga dapat dijadikan suatu solusi terhadap tingginya permintaan enzim untuk keperluan produksi (Adrio & Demain, 2014).

Produksi enzim inulinase yang maksimal membutuhkan mikroorganisme yang unggul dengan substrat yang mendukung pertumbuhannya. Khamir menjadi salah satu jenis mikroorganisme yang

dapat dipilih sebagai penghasil enzim inulinase. Khamir inulinolitik dapat diisolasi dari bahan baku lokal di sekitar kita seperti buah – buahan dan sumber karbohidrat dengan kandungan gula yang tinggi. Adapun saat ini, beberapa mikroorganisme seperti *Kluyveromyces* sp., *Cryptococcus* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Xanthomonas* sp., *Pichia* sp., *Sporotrichum* sp., dan *Candida* sp. diketahui merupakan sumber utama penghasil inulinase (Mohan *et al.*, 2018). Beberapa faktor seperti waktu inkubasi dan konsentrasi substrat berpengaruh pada produksi enzim. Waktu inkubasi berpengaruh pada efektivitas kerja suatu enzim mikrobial. Seiring berjalannya waktu inkubasi, jumlah biomassa sel juga akan bertambah dan akan meningkatkan produksi enzim yang dihasilkannya (Kurniawati *et al.*, 2019). Konsentrasi substrat juga berpengaruh terhadap kinerja enzim. Kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim akan sangat rendah apabila konsentrasi substrat yang diberikan juga rendah. Hal tersebut juga berlaku sebaliknya, dimana kecepatan reaksi akan naik seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat hingga titik batas kecepatan reaksi maksimum (Deng *et al.*, 2018).

Enzim inulinase yang diproduksi oleh mikroorganisme dapat diperoleh dengan melakukan isolasi. Isolasi sendiri merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengambil mikroorganisme dari lingkungan asalnya untuk ditumbuhkan di suatu media buatan hingga menghasilkan biakan murni. Adapun prinsipnya yakni memisahkan jenis mikroorganisme khusus

dari lingkungan yang berisi bermacam – macam jenis mikroorganisme (Iris *et al.*, 2020). Khamir yang digunakan dalam produk industri merupakan khamir kualitas terbaik dengan kemampuan yang baik dalam menghasilkan produk metabolit serta toleransi tinggi pada suatu kondisi yang telah diisolasi dan diuji sedemikian rupa (Akbar *et al.*, 2019). Tahapan isolasi sangat penting untuk dilakukan untuk mendapatkan kultur murni yang berkualitas. Apabila isolasi berhasil dilakukan, tahapan selanjutnya yakni dilakukan karakterisasi untuk mengenali sifat dari mikroorganisme tersebut sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

Salah satu habitat potensial untuk memperoleh khamir inolulitik yakni limbah kulit buah nanas madu. Buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu buah yang digemari masyarakat Indonesia. Salah satu jenis buah nanas yang digemari yakni buah nanas madu yang memiliki kandungan gula yang lebih tinggi daripada jenis nanas lainnya (USDA, 2018). Budidaya nanas madu di Indonesia berpusat di Kecamatan Belik, Pemalang dengan jumlah produksi mencapai 25.930 ton/tahun (BPS, 2018). Jumlah produksi tersebut menghasilkan limbah sebesar 27% dari total produksinya dengan komposisi limbah kulit nanas madu yang berkisar 30 – 42% (Sandika *et al.*, 2017). Seringkali, limbah kulit nanas madu tersebut dibuang secara percuma tanpa pengolahan lanjutan. Pada kulit nanas madu sendiri ditemukan kandungan gula berupa sukrosa (6,47 g), fruktosa (2,15 g), dan dektrosa (1,70 g) (USDA, 2018). Kandungan tersebut

dapat menciptakan suatu peluang penelitian untuk mengeksplorasi khamir inulinolitik pada limbah kulit buah nanas madu tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengetahui aktivitas khamir inulinolitik dari limbah kulit buah nanas madu serta pengaruh konsentrasi substrat & waktu inkubasi pada aktivitas enzim inulinase yang dihasilkannya.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah terdapat khamir inulinolitik pada limbah kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.)?
- 1.2.2 Bagaimana pola pertumbuhan isolat khamir kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dalam memproduksi enzim inulinase?
- 1.2.3 Apakah terdapat pengaruh konsentrasi substrat dan waktu inkubasi pada produksi enzim inulinase?

1.3 Tujuan

- 1.3.1 Mengisolasi khamir inulinolitik pada limbah kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.).
- 1.3.2 Memperoleh pola pertumbuhan isolat khamir kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dalam memproduksi enzim inulinase.
- 1.3.3 Membuktikan adanya pengaruh konsentrasi substrat dan waktu inkubasi pada produksi enzim inulinase.