

## Produksi Gula Hidrolisat Serbuk Ampas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) oleh Bakteri Selulolitik Air Lindi

### *Production of Sugar Hydrolysate of Sugarcane Bagasse Powder (*Saccharum officinarum* L.) By Leachate Cellulolytic Bacteria*

Ignatius Marcelino Kurnia Putra<sup>1\*</sup>, Peristiwati<sup>1</sup> & Any Fitriani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, Indonesia

#### Abstrak

Gula hidrolisat merupakan gula hasil proses hidrolisis selulosa dari bahan lignoselulosa. Gula hidrolisat memiliki banyak kegunaan dalam berbagai bidang industri, seperti sebagai pemanis makanan dan minuman, pembuatan bioplastik, serta sebagai bahan baku pembuatan biofuel. Proses hidrolisis selulosa menjadi gula hidrolisat dilakukan dengan bantuan enzim selulase. Enzim selulase ini dimiliki salah satunya oleh mikroorganisme selulolitik yang bersumber dari cairan hasil dekomposisi sampah atau disebut juga air lindi (*leachate*). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gula hidrolisat dari substrat ampas tebu (*Saccharum officinarum* L.) oleh bakteri selulolitik air lindi. Metode penelitian ini diawali dengan mengisolasi bakteri selulolitik dari air lindi yang berasal dari TPS Pasar Gegerkalong. Bakteri ditumbuhkan pada media CMC Agar untuk seleksi bakteri selulolitik. Bakteri yang diperoleh kemudian diuji nilai indeks selulolitik yang dimilikinya. Media fermentasi yang mengandung substrat ampas tebu dengan konsentrasi substrat awal 5% dan 10% (b/v) disiapkan sebagai substrat selulosa. Hasil penelitian menunjukkan kadar gula hidrolisat yang dihasilkan oleh konsentrasi substrat awal 5% dan 10% sebesar 39,7% dan 49,19%. Konsentrasi substrat awal 10% merupakan konsentrasi terbaik dalam menghasilkan gula hidrolisat.

**Kata Kunci:** gula hidrolisat, ampas tebu, bakteri selulolitik, air lindi

#### Abstract

*Hydrolyzed sugar is sugar resulting from cellulose hydrolysis from lignocellulosic materials. Hydrolyzed sugar has many uses in various industrial fields, such as sweetening food and beverages, making bioplastics, and as a raw material for producing biofuels. The process of cellulose hydrolysis into sugar hydrolysate is carried out with the help of cellulase enzymes. This cellulase enzyme is owned by one of the cellulolytic microorganisms sourced from the liquid from the decomposition of waste also called leachate. This study aims to obtain sugar hydrolysate from bagasse (*Saccharum officinarum* L.) substrate by leachate cellulolytic bacteria. This research method begins with isolating cellulolytic bacteria from leachate water from TPS Pasar Gegerkalong. Bacteria were identified and grown on CMC Agar media for cellulolytic bacteria selection. The bacteria obtained were then tested for their cellulolytic index value. Culture media containing bagasse substrate with initial substrate concentrations of 5% and 10% (b/v) were prepared as cellulose substrates. The results showed that the hydrolyzed sugar content produced by the initial substrate concentration of 5% and 10% was 39.7% and 49.19%. The initial substrate concentration of 10% was the best in producing sugar hydrolysate.*

**Key Words:** sugar hydrolysate, bagasse, cellulolytic bacteria, leachate

---

#### \* Corresponding author:

Ignatius Marcelino Kurnia Putra

Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia

Jl Dr. Setiabudi No. 229, Bandung, Jawa Barat, Indonesia, 40154

E-mail :marcelinoagus12@gmail.com

## Pendahuluan

Gula hidrolisat merupakan gula yang dihasilkan dari proses hidrolisis. Terdapat dua metode hidrolisis yang dapat digunakan untuk memperoleh gula tersebut, yaitu secara kimiawi menggunakan larutan asam maupun basa dan secara enzimatik dengan menggunakan enzim. Salah satu sumber gula hidrolisat merupakan bahan lignoselulosa. Bahan lignoselulosa merupakan bahan yang paling melimpah di dunia. Bahan ini terdiri dari tiga komponen utama: lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Bahan ini dapat diperoleh dari hutan dan limbah pertanian, seperti jerami, serpihan kayu, rumput, daun, dan sebagainya (Yin & Wang, 2022). Melimpahnya bahan lignoselulosa membuat bahan ini berpotensi besar sebagai bahan baku pembuatan gula hidrolisat. Namun, produksi gula hidrolisat dari bahan lignoselulosa yang mengandung selulosa dan hemiselulosa cukup menantang, meskipun biaya bahan bakunya relatif terjangkau sehingga menarik banyak pihak industri untuk menggunakan bahan lignoselulosa dalam produksinya (Galbe & Zacchi, 2002).

Gula hidrolisat memiliki banyak kegunaan dalam bidang industri. Gula ini dapat digunakan sebagai pemanis untuk makanan dan minuman (Edwards *et al.*, 2016), bahan pembuatan bioplastik (Dahman & Ugwu, 2014), dan digunakan dalam dunia medis (Espro *et al.*, 2021). Selain itu, gula hidrolisat juga dapat dimanfaatkan untuk memproduksi bahan bakar terbarukan berupa biofuel.

Ampas tebu merupakan salah satu jenis bahan lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Sekitar 40-50% ampas tebu terdiri dari polimer selulosa, sementara 25-35% terdiri dari hemiselulosa, termasuk xilosa, arabinosa, galaktosa, glukosa, dan manosa. Sisanya adalah lignin dan beberapa mineral, lilin, serta zat lainnya (Jufrinaldi, 2018). Indonesia memiliki pasokan ampas tebu yang melimpah dari banyaknya pabrik gula tebu (Leko *et al.*, 2021). Saat ini, 60% dari ampas tebu sudah dimanfaatkan untuk produksi bahan bakar nabati, kertas, pakan ternak, dan kain rem. Namun, masih terdapat 40% yang belum dimanfaatkan

secara optimal (Pane *et al.*, 2023). Limbah ini biasanya hanya ditumpuk di sekitar pabrik penggilingan (Amie & Nugraha, 2014).

Selulosa ( $C_6H_{10}O_5$ ) polimer glukosa dengan struktur rantai linier yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik (Lisneri *et al.*, 2016). Ikatan pada selulosa dapat dipecah oleh enzim selulase, yang dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Mikroorganisme lebih sering dipilih karena dapat tumbuh dengan cepat, dapat hidup di substrat yang ekonomis, dan hasil produksinya yang dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan serta rekayasa genetik (Sholihati *et al.*, 2015).

Bakteri selulolitik adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memecah selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil, yang kemudian diubah menjadi glukosa (Alkahfi *et al.*, 2021). Mikroorganisme ini biasanya ditemukan di lingkungan dengan kandungan selulosa tinggi, seperti air lindi di tempat pembuangan akhir (TPA). Air lindi atau *Leachate* merupakan campuran dari berbagai air yang berada di TPA baik dari air hujan, air hasil biodegradasi sampah maupun air yang melekat pada sampah itu sendiri (Teng *et al.*, 2021). Pourcher dalam Song *et al.* (2015) menemukan genus bakteri selulolitik yang ditemukan pada TPA adalah *Cellulomonas*, *Microbacterium* and *Lactobacillus*.

## Materi dan Metode

### Isolasi Bakteri Selulolitik

Isolat bakteri selulolitik berasal dari air lindi di Tempat Pembuangan Sementara (TPS) pasar Gegerkalong, Bandung, Jawa Barat. Isolasi dilakukan di media CMC Agar. Media CMC Agar terbuat dari 1,8 gr Agar, 0,05 gr  $K_2HPO_4$ , 0,075 gr  $KNO_3$ , 0,02 gr  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,002 gr  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,004 gr  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0,1 gr Glukosa, 0,2 gr ekstrak yeast, dan 1 gr CMC kemudian ditambahkan 100 ml aquades. Setelah itu diaduk hingga seluruh bahan larut sepenuhnya dan disterilisasi di autoklaf pada suhu  $121^\circ C$  selama 15 menit (Siruwahni & Rasyidah, 2023).

Air lindi sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 9 mL larutan NaCl 0,85% lalu dilakukan

pengenceran bertingkat hingga diperoleh pengenceran  $10^{-10}$ . Pengenceran  $10^{-6}$  hingga  $10^{-10}$  diambil 0,1 mL dan diinokulasikan pada medium CMC Agar dengan menggunakan metode *spread plate*. Medium lalu diinkubasi selama 24 jam di suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Koloni bakteri yang tumbuh pada medium diinokulasi pada medium *Nutrient Agar* miring. *Nutrient Agar* (HiMedia) dibuat dengan mengikuti petunjuk pembuatan.

### Seleksi Bakteri Selulolitik

Isolat bakteri yang telah tumbuh pada medium NA miring dipindahkan ke medium CMC Agar. Dengan menggunakan metode titik, satu ose isolat bakteri diletakkan pada media CMC Agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Setelah inkubasi, media diuji dengan melapisi larutan Congo red 0,1% dan didiamkan selama 30 menit, kemudian dibilas dengan larutan NaCl 1 M. Bakteri selulolitik diidentifikasi berdasarkan pembentukan zona bening pada media CMC (Arifin *et al.*, 2019). Zona bening yang terbentuk dapat digunakan untuk menentukan nilai Indeks Selulolitik (IS). Menurut Demissie *et al.* (2024) kategori indeks selulolitik, yaitu rendah jika  $IS < 1$ , sedang jika nilai  $IS = 1$  sampai 2, dan tinggi jika  $IS > 2$ . Berikut merupakan rumus penghitungan nilai IS menurut Nababan *et al.* (2019) :

$$IS = \frac{\text{Diameter Zona Bening} - \text{Diameter Koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

### Identifikasi Bakteri Selulolitik

Identifikasi bakteri selulolitik akan berdasarkan karakter morfologi dan biokimia yang mengacu pada buku identifikasi bakteri yaitu *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

### Delignifikasi Ampas Tebu

Tanaman Tebu diperoleh dari Desa Cinta Asih, Kecamatan Cipongkor, Kabupaten Bandung Barat. Tanaman tebu dikeringkan di dalam oven pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Tahir *et al.*, 2016). Setelah itu, tebu tersebut dihancurkan dengan blender lalu disaring menggunakan saringan 100 mesh.

Selanjutnya dilakukan delignifikasi dengan merendam serbuk ampas tebu menggunakan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,05 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit (Sutikno *et al.*, 2015). Setelah itu dilakukan pembilasan menggunakan air hingga pH netral.

### Kurva Standar Glukosa

Dibuat terlebih dahulu larutan stok glukosa 1000 ppm yang terbuat dari 0,10 gr glukosa lalu ditambahkan aquades sebanyak 100 mL dan diaduk hingga homogen. larutan stok lalu diencerkan hingga didapat konsentrasi yang diinginkan (Baharuddin *et al.*, 2014). Konsentrasi yang akan digunakan adalah 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, dan 500 ppm.

Pembuatan kurva glukosa dengan mengambil 1 mL dari tiap konsentrasi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian 1 ml reagen DNS ditambahkan dan diaduk hingga larutan tercampur seluruhnya. Mulut tabung ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5-15 menit hingga larutan berubah warna menjadi merah-coklat. Aquades lalu ditambahkan hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan. Setelah itu, larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Ginting *et al.*, 2020).

### Kurva Standar Bakteri

Kurva standar bakteri dibuat untuk dapat menentukan jumlah bakteri yang terdapat dalam sampel. Pembuatan kurva standar bakteri dengan cara menginokulasikan 2 ose isolat bakteri pada 25 ml media NB, lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Rosmania & Yanti, 2020). Setelah itu, inokulum bakteri diukur menggunakan spektrofotometer untuk menyamakan OD (Maryanty *et al.*, 2020). Inokulum bakteri diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm (Anggraeni & Triajie, 2021). Rentang tingkat OD yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,2 hingga 1,2 dengan interval 0,2. Setelah tingkat absorbansi tersebut didapat, dilakukan pengenceran bertingkat hingga  $10^{-10}$ .

<sup>10</sup>. Tiga urutan terakhir dalam pengenceran yaitu  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-10}$  ditanam pada media Nutrient Agar lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Kurniawan *et al.*, 2023). Hasil TPC kemudian dihitung menggunakan colony counter.

### **Produksi Gula Hidrolisat Secara Submerged Fermentation (SmF)**

Sebelum memproduksi gula hidrolisat, sebanyak 1 ose isolat bakteri unggul dengan nilai IS tertinggi diinokulasikan pada 25 mL NB dalam 250 mL labu Erlenmeyer steril, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , 120 rpm selama 24 jam (Shahid *et al.*, 2016). Langkah produksi dengan membuat 25 mL medium fermentasi (yeast extract 1 gr, sukrosa 2 gr,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 gr dan  $\text{FeSO}_4$  0,01 gr/l) mengandung 0,5 mL basal salt solution ( $\text{NaNO}_3$  10 gr, KCl 2,5 gr,  $\text{MgSO}_4$  2,5 gr dan air distilasi 50 mL) (Kumar, 2009). Setelah itu Ditambahkan 5% dan 10% (b/v) ampas tebu yang telah di delignifikasi, semua bahan dimasukkan ke dalam tabung 100 mL dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Setelah itu, medium fermentasi didinginkan pada suhu ruang dan sebanyak 1% inokulum bakteri unggul diinokulasikan pada medium fermentasi. Setelah inokulasi, medium fermentasi diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (Shahid *et al.*, 2016).

### **Pengukuran Gula Hidrolisat**

Pengukuran gula dengan mengambil 0,5 mL sampel lalu ditambahkan 0,5 mL aquades, dan 0,5 mL larutan DNS. lalu panaskan larutan menggunakan waterbath selama 5 menit, kemudian tambahkan 0,5 ml Garam Rochelle dan vortex. Setelah itu, ukur larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Santi & Widyaningrum, 2022).

### **Pengukuran Sel Bakteri**

Penghitungan jumlah sel bakteri selulolitik mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Lizayana *et al.*, (2016). Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam kuvet dengan aquades dijadikan sebagai blanko. Suspensi tersebut kemudian diukur nilai

absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm.

### **Analisis Statistik**

Analisis statistik menggunakan program SPSS 27 for windows dengan uji normalitas, uji homogenitas. Apabila data termasuk normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *Two Way ANOVA*.

### **Hasil**

#### **Isolat Bakteri Selulolitik**

Isolat bakteri selulolitik yang telah diisolasi dari air lindi (*leachate*) setelah diinkubasi selama 24 jam pada media CMC Agar menghasilkan 11 koloni bakteri dengan karakteristik yang berbeda. Seluruh koloni tersebut kemudian ditanam pada media NA miring untuk jadikan stok dan diseleksi kembali untuk menentukan aktivitas selulolitik dengan melihat nilai Indeks Selulolitik (IS) yang dimilikinya.

#### **Seleksi Bakteri Selulolitik**

Berdasarkan hasil uji indeks selulolitik pada medium CMC Agar didapatkan nilai Indeks selulolitik yang beragam dari tinggi hingga rendah dengan isolat BG11 yang memiliki nilai IS tertinggi. Hasil nilai Indeks Selulolitik bakteri disajikan pada Tabel 1.

#### **Identifikasi Bakteri Selulolitik**

Isolat bakteri terpilih dengan nilai Indeks Selulolitik (IS) tertinggi yaitu BG11 diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia. Hasil identifikasi bakteri secara morfologi dan biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dan biokimia dengan mengacu pada buku identifikasi bakteri *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994), isolat bakteri BG11 memiliki kedekatan karakteristik dengan genus *Klebsiella*.

#### **Pengukuran Gula Hidrolisat**

Kadar gula hidrolisat yang terkandung dalam medium fermentasi dengan substrat ampas tebu pada dua konsentrasi awal yaitu 5% dan 10% diukur selama 3 jam sekali dengan rentang waktu 24 jam. Hasil

Tabel 1. Nilai Indeks Selulolitik Bakteri

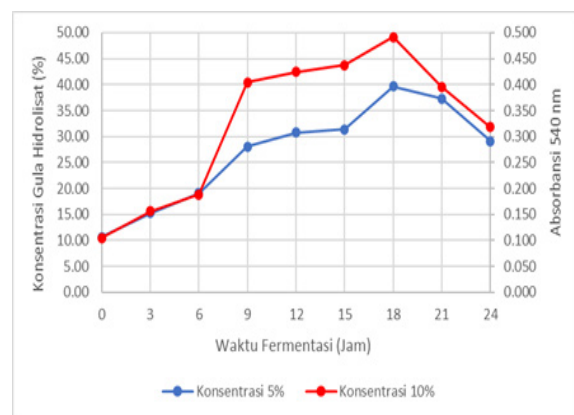
Isolat	Diameter Koloni (cm)	Diameter Zona Bening (cm)	Indeks Selulolitik	Kategori IS
BG1	1,8	2,4	0,3	Rendah
BG2	1,2	2	0,6	Rendah
BG3	1,1	1,95	0,7	Rendah
BG4	1,35	2,2	0,5	Rendah
BG5	1,2	2,3	0,92	Rendah
BG6	1,05	2,05	1,1	Sedang
BG7	0,2	0,6	2	Sedang
BG8	1,3	2,6	3	Tinggi
BG9	0,45	1,8	3	Tinggi
BG10	0,65	3	3,6	Tinggi
BG11	0,4	2,75	5,8	Tinggi

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Bakteri BG11

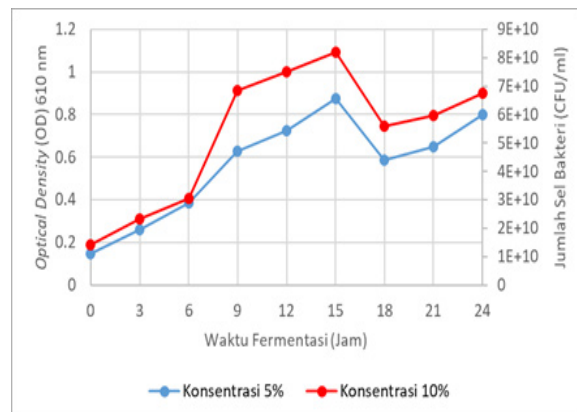
Karakteristik	Bakteri BG11	Bergey's
Bentuk	Circular	Circular
Warna	Putih krem	
Tepian	Undulate	
Elevasi	Flat	
Permukaan	Mengkilap	
Kebutuhan oksigen	Anaerob	Anaerob
Pewarnaan gram	Gram negatif	Gram negatif
Pewarnaan kapsul	-	
Pewarnaan endospora	+	
Reaksi susu litmus	Reaksi asam	
Produksi H <sub>2</sub> S	-	-
Reaksi katalase	+	+
Motilitas	Non motil	motil
Uji Hidrolisis		
Pati	+	
Lipid	-	
Kasein	+	
Gelatin	-	+
Uji Fermentasi Karbohidrat		
Laktosa	+	+
Sukrosa	+	+
Dekstrosa	+	+
Uji IMViC		
Indole	-	-
Methyl Red	-	-
Voges-Proskauer	-	-
Sitrat	+	+

pengukuran gula hidrolisat disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1. pada jam ke-9 fermentasi, kadar gula hidrolisat meningkat signifikan, dan mencapai puncaknya pada jam ke-18. Konsentrasi 5% menghasilkan gula hidrolisat sebesar 39,7%, sedangkan



Gambar 1. Grafik Gula Hidrolisat pada Konsentrasi 5% dan 10%



Gambar 2. Jumlah Sel Bakteri Pada Media Fermentasi

konsentrasi 10% mencapai 49,19%. Setelah itu, kadar gula menurun pada jam ke-21 hingga 24, dipengaruhi oleh aktivitas bakteri BG11 dalam media fermentasi. Jumlah sel bakteri selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

## Pembahasan

### Isolat Bakteri Selulolitik

Isolasi bakteri yang ditanam pada medium CMC Agar dengan tujuan untuk melihat bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik atau mampu menghidrolisis selulosa. Media CMC merupakan media selektif yang bertujuan untuk menumbuhkan bakteri yang mampu menghidrolisis selulosa (Wahyuningsih & Zulaika, 2019). Koloni yang dapat tumbuh pada medium CMC tersebut menandakan bahwa koloni bakteri tersebut termasuk selulolitik dan dapat diseleksi lebih lanjut untuk melihat nilai Indeks Selulolitik yang dimilikinya

### Seleksi Bakteri Selulolitik

Seleksi bakteri kembali menggunakan medium CMC Agar. Bakteri kembali ditanam pada medium CMC dikarenakan pada tahap sebelumnya koloni bakteri masih merupakan koloni campuran sehingga sulit untuk menentukan nilai Indeks Selulolitiknya. Indeks Selulolitik dapat dihitung dengan melihat zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri. Larutan *congo red* 0,1% diteteskan pada koloni agar zona bening dapat terlihat. Zona bening yang muncul pada medium CMC Agar mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa yang terkandung dalam media CMC (Fahrudin *et al.*, 2020). Zona bening terbentuk akibat adanya reaksi natrium benzendiazot-bis-1-naftilamin-4-sulfonat (*Congo red*) yang berinteraksi kuat dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dalam CMC (Arifin *et al.*, 2019). Selulosa yang belum terhidrolisis pada medium akan terlihat berwarna merah karena adanya reaksi antara *congo red* dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik yang terkandung dalam polimer selulosa (Siruwahni & Rasyidah, 2023). Menurut Barman dalam Firdausi & Zulaika (2015) menyatakan bahwa zona bening terbentuk akibat tidak adanya ikatan antara *congo red* dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik karena selulosa tersebut telah terhidrolisis.

Nilai Indeks Selulolitik yang berbeda pada Tabel 1. menandakan kemampuan menghidrolisis selulosa yang berbeda.

Semakin tinggi nilai IS maka kemampuan mendegradasi selulosa tersebut semakin besar sehingga kadar gula yang dihasilkan akan semakin tinggi. Dengan demikian, isolat bakteri BG1, BG2, BG3, BG4, dan BG5 termasuk ke dalam indeks selulolitik rendah, isolat bakteri BG6 dan BG7 termasuk ke dalam indeks selulolitik sedang, dan isolat bakteri BG8, BG9, BG10, dan BG11 termasuk ke dalam indeks selulolitik tinggi.

### Identifikasi Bakteri Selulolitik

Berdasarkan hasil percobaan pada morfologi dan biokimia bakteri BG10 dan BG11, informasi yang diperoleh merujuk pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* untuk mengidentifikasi genus bakteri yang digunakan. Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* isolat bakteri BG11 memiliki kedekatan karakteristik dengan genus *Klebsiella*. Genus *Klebsiella* memiliki karakteristik berbentuk batang lurus, dengan diameter 0,3-1,0  $\mu\text{m}$  dan memiliki panjang 0,6-6,0  $\mu\text{m}$ , tersusun secara tunggal, berpasangan atau dalam bentuk rantai pendek. Selain itu, bakteri dalam genus ini tergolong dalam bakteri gram negatif yang bersifat non-motile dan termasuk bakteri anaerob fakultatif. Sel bakteri tersebut memiliki kapsul, yang berfungsi sebagai struktur pelindung penting untuk membantu melindungi dirinya dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan serta meningkatkan kemampuannya menghindari deteksi oleh sistem imun inang. Tipe metabolisme yang dimiliki meliputi pernapasan dan fermentasi, memungkinkan bakteri ini menggunakan berbagai substrat untuk menghasilkan energi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya. Suhu optimal untuk bakteri ini adalah 37°C. D- Glukosa dan karbohidrat lainnya dikatabolisme dengan produksi asam dan gas, tetapi strain anorganik. Oksidase bereaksi negatif dan katalase bereaksi positif. Hasil reaksi indol, metil merah, *Voges-Proskauer*, dan Simmons sitrat bervariasi antar spesiesnya (Holt *et al.*, 1994).

### Pengukuran Gula Hidrolisat

Jumlah gula hidrolisat pada jam ke-0 hingga ke-6 waktu fermentasi berlangsung

masih rendah, hal ini dikarenakan pada jam tersebut jumlah bakteri BG11 masih sedikit dan sedang berada di fase log. pada jam ke-9 terjadi kenaikan gula hidrolisat yang diproduksi, kenaikan ini bersamaan dengan meningkatnya jumlah sel bakteri BG11 sehingga dapat terlihat bahwa bakteri BG11 sedang berada pada fase eksponensial. produksi gula hidrolisat terus meningkat hingga jam ke-18 yang mana merupakan titik tertinggi produksi gula hidrolisat di kedua konsentrasi. Pada konsentrasi substrat awal 5% gula hidrolisat tertinggi yang dihasilkan sebesar 39,7% sementara konsentrasi substrat awal 10% sebesar 49,19%. Setelah menghasilkan gula hidrolisat tertinggi pada jam ke-18, kadar gula yang diperoleh mengalami penurunan memasuki jam ke-21 dan seterusnya. Hal ini disebabkan gula yang telah diproduksi digunakan kembali oleh bakteri BG11 untuk pertumbuhannya. Menurut Zhang *et al* (2023) glukosa merupakan sumber karbon sering digunakan oleh mikroorganisme yang berguna sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sel bakteri.

Gula hidrolisat yang dihasilkan merupakan hasil hidrolisis oleh bakteri BG11. Berdasarkan grafik pada Gambar 1. kadar gula hidrolisat yang dihasilkan memiliki hubungan dengan bakteri yang terdapat pada medium fermentasi. Kadar gula hidrolisat yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri pada jam ke-0 hingga jam ke-15. Jumlah sel bakteri terus meningkat sejalan dengan meningkatnya kadar gula hidrolisat yang dihasilkan. Namun, pada jam ke-21 hingga jam ke-24 proses fermentasi berlangsung kadar gula hidrolisat yang dihasilkan mulai berbanding terbalik dengan jumlah sel bakteri. Jumlah sel bakteri terus meningkat sementara kadar gula hidrolisat yang dihasilkan terus menurun. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pandebesie & Kartini (2016), dimana mereka juga menemukan bahwa kadar gula yang dihasilkan berbanding lurus dengan pertumbuhan mikroorganisme tapi terdapat kondisi yang pada akhirnya kadar gula akan berbanding terbalik dengan pertumbuhan mikroorganisme. Penggunaan bakteri *Klebsiella*

dalam fermentasi untuk menghasilkan gula juga dilakukan pada penelitian milik Sarkar *et al* (2022) menggunakan *Klebsiella sp.* SWET4 sebagai bakteri yang digunakan dalam fermentasi dengan substrat kulit pisang untuk menghasilkan gula.

### Kesimpulan

Konsentrasi substrat awal 10% dengan media ampas tebu merupakan konsentrasi terbaik dalam menghasilkan gula hidrolisat dengan kadar gula yang dihasilkan sebesar 49,19%.

### Daftar Pustaka

- Alkahfi, F., Wayan, A., & I Gede Putu, W. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Sampah Organik di TPA Suwung Denpasar. *Agroekoteknologi Tropika*, 10(2),153–160
- Amie, N. L.L., & Nugraha, A. (2014). Pemanfaatan Limbah Ampas Tebu melalui Desain Produk Perlengkapan Rumah. *Product Design*, 3(1).
- Anggraeni, A., & Triajie, H. (2021). Uji Kemampuan Bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*) dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bengkalan. *Juvenil:Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 2(3), 176–185. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v2i3.11754>
- Arifin, Z., Gunam, I. B. W., Antara, N. S., & Setiyo, Y. (2019). Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa Dari Kompos. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(1), 30. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i01.p04>
- Baharuddin, M., Rauf Patong, A., Ahmad, A., & La Nafie, N. (2014). Pengaruh Suhu dan pH terhadap Hidrolisis CMC oleh Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Larva Kupu-Kupu *Cossus cossus*. *Jurnal Teknosains*, 8(3), 343–356
- Dahman, Y., & Ugwu, C. U. (2014). Production of green biodegradable plastics of poly(3-hydroxybutyrate) from renewable resources of agricultural residues. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(8), 1561–1568. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1128-2>

- Demissie, M. S., Legesse, N. H., & Tesema, A. A. (2024). Isolation and characterization of cellulase producing bacteria from forest, cow dung, Dashen brewery and agro-industrial waste. *PLOS ONE*, 19(4), e0301607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301607>
- Edwards, C. H., Rossi, M., Corpe, C. P., Butterworth, P. J., & Ellis, P. R. (2016). The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: Alternatives for the future. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.008>
- Espro, C., Paone, E., Mauriello, F., Gotti, R., Uliassi, E., Bolognesi, M. L., Rodríguez-Padrón, D., & Luque, R. (2021). Sustainable production of pharmaceutical, nutraceutical and bioactive compounds from biomass and waste. *Chemical Society Reviews*, 50(20), 11191–11207. <https://doi.org/10.1039/D1CS00524C>
- Fahrudin, Haedar, N., & Tuwo, M. (2020). Potensi Bakteri dari Limbah Kotoran Ternak Dalam Mendegradasi Selulosa. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 11(1), 21–28
- Firdausi, W., & Zulaika, E. (2015). Potensi *Azotobacter* spp. sebagai Pendegradasi Karbohidrat. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(1), 407–421
- Galbe, M., & Zacchi, G. (2002). A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), 618–628. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1058-9>
- Ginting, L., Wijanarka, & Kusdiyantini, E. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Uji Aktivitas Enzim Amilase. *Berkala Bioteknologi*, 3(2), 1–7.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Williams & Wilkins.
- Jufrinaldi, J. (2018). Isolasi Selulosa Dari Bagas Tebu Melalui Pemanasan Iradiasi Gelombang Mikro. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*, 2(2), 83. <https://doi.org/10.32493/jitk.v2i2.1683>
- Kumar, S. (2009). Cellulolytic Enzymes Production from Submerged Fermentation of Different Substrates by Newly Isolated *Bacillus* spp. FME. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(1), 17–21. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2009.003>
- Kurniawan, E., Badruzzaman, D. Z., & Marlina, E. T. (2023). Dinamika Populasi dan Identifikasi Bakteri pada Proses Dekomposisi Awal Campuran Lumpur Susu dan Jerami Padi dengan Perbedaan Nisbah C/N. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 4(2), 141–156. <https://doi.org/10.24198/jthp.v4i2.47920>
- Leko, B. B., Noor, N. A., & Usman. (2021). Analisis Potensi Ampas Tebu Sebagai Pembangkit Listrik Biomassa di Pabrik Gula Takalar. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Elektro Dan Informatika, Makassar*, 12–16
- Lismeri, L., Zari, P. M., Novarani, T., & Darni, Y. (2016). Sintesis Selulosa Asetat dari Limbah Batang Ubi Kayu. *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 11(2), 82–91. <https://doi.org/10.23955/rkl.v11i2.5407>
- Lizayana, Mudatsir, & Iswadi. (2016). Densitas Bakteri Pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), 95–106.
- Maryanty, Y., Saputra, F.L.W., & Prasetyo, R. (2020). Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 4(2), 153–161.
- Nababan, M., Gunam, I. B. W., & Mahaputra Wijaya, I. M. (2019). Produksi Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), 190. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i02.p03>
- Pandebesie, E. S., & Kartini, A. M. (2016). Produksi Bioetanol dari Batang *Sorghum bicolor* (L.) Moench dengan *Saccharomyces cerevisiae* dan Konsorsium *S. cerevisiae-Pichia stipitis*. *Jurnal Purifikasi*, 16(2). <https://doi.org/10.12962/j25983806.v16.i2.43>

- Pane, N. A., Dewi, R., Zulnazri, Z., Sulhatun, S., & Nurlaila, R. (2023). Pembuatan Glukosa Dari Ampas Tebu Dengan Proses Hidrolisis. *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 2(5), 54–67. <https://doi.org/10.29103/cejs.v2i5.7955>
- Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76–86. <http://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index>
- Santi, S. N., & Widyaningrum, T. (2022). Produksi Bioetanol Dari Limbah Batang Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) Menggunakan *Zymomonas mobilis* Dengan Perlakuan Crude Enzim *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Jurnal Biolokus*, 5(1), 18. <https://doi.org/10.30821/biolokus.v5i1.1260>
- Sarkar, D., Prajapati, S., Poddar, K., & Sarkar, A. (2022). Ethanol production by *Klebsiella* sp. SWET4 using banana peel as feasible substrate. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(5), 1479–1491. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00880-1>
- Shahid, M., Mohammad, F., Chen, G., Tang, R.-C., & Xing, T. (2016). Enzymatic processing of natural fibres: White biotechnology for sustainable development. *Green Chemistry*, 18(8), 2256–2281. <https://doi.org/10.1039/C6GC00201C>
- Sholihati, A. M., Baharuddin, M., & Santi, S. (2015). Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Al-Kimia*, 3(2), 78–90
- Siruwahni, D., & Rasyidah, R. (2023). Isolasi dan Aktivitas Bakteri Selulolitik pada Limbah Diapers. *Bioedusains : Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 6(2), 407–421. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v6i2.6641>
- Song, L., Wang, Y., Zhao, H., & Long, D. T. (2015). Composition of bacterial and archaeal communities during landfill refuse decomposition processes. *Microbiological Research*, 181, 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.04.009>
- Sutikno, Marniza, & Sari, N. (2015). Pengaruh Perlakuan Awal Basa dan Hidrolisis Asam Terhadap Kadar Gula Reduksi Ampas Tebu. *Jurnal Teknologi Dan Industri Hasil Pertanian*, 20(2), 65–72
- Tahir, H., Sultan, M., Akhtar, N., Hameed, U., & Abid, T. (2016). Application of natural and modified sugar cane bagasse for the removal of dye from aqueous solution. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20, S115–S121. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.09.007>
- Teng, C., Zhou, K., Peng, C., & Chen, W. (2021). Characterization and treatment of landfill leachate: A review. *Water Research*, 203, 117525. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117525>
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media *Nutrient Broth* dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 7–9
- Yin, Y., & Wang, J. (2022). Production of biohydrogen. In *Biofuels and Biorefining* (pp. 283–337). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824116-5.00002-7>
- Zhang, Y., Xiao, F., Zhang, L., Ding, Z., Shi, G., & Li, Y. (2023). A New Mechanism of Carbon Metabolism and Acetic Acid Balance Regulated by CcpA. *Microorganisms*, 11(9), 2303. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092303>