

# 01

*by* Prosiding Unesa 2014

---

**Submission date:** 13-Nov-2018 05:55PM (UTC-0800)

**Submission ID:** 1038548644

**File name:** 1.prosiding\_UNESA\_2014.pdf (378.94K)

**Word count:** 2433

**Character count:** 15641

**PENGARUH KONSENTRASI INOKULUM DAN WAKTU INKUBASI  
TERHADAP AKTIVITAS CRUDE ENZIM SELULASE  
DARI KAPANG *Trichoderma* sp.**

**Pujiati R.**

Prodi Pendidikan Biologi IKIP PGRI Madiun  
poesky86@gmail.com

**Bekti Kiswardianta**

Prodi Pendidikan Biologi IKIP PGRI Madiun

**Sri Wahyuni**

Prodi Pendidikan Biologi IKIP PGRI Madiun

**Abstrak**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendeskripsikan pengaruh konsentrasi inokulum, waktu inkubasi serta kombinasi keduanya terhadap aktivitas *crude* enzim selulase dari kapang *Trichoderma* sp. dengan substrat jerami padi. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah lama inkubasi yang terdiri dari tiga level yaitu 5, 7, dan 9 hari. Faktor kedua adalah perbedaan konsentrasi inokulum yang terdiri dari tiga level yaitu 10%, 15%, dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu inkubasi dan konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap parameter yang diamati pada produksi selulase kasar dari kapang *Trichoderma* sp.. Kombinasi terbaik untuk menghasilkan selulase kasar dari kapang *Trichoderma* sp. dengan aktivitas yang optimal adalah pada perlakuan K3H2 (hari ke-7 dan konsentrasi inokulum 20%) dengan hasil pengujian sebesar 0,030%. Sedangkan nilai terkecil terdapat pada perlakuan K2H2 (hari ke-7 dengan konsentrasi inokulum 15%) dengan hasil pengujian sebesar 0,015%. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap aktivitas *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma* sp. dengan substrat jerami padi.

**Kata kunci:** *Trichoderma* sp., inkubasi, konsentrasi inokulum, enzim selulase.

**PENDAHULUAN**

Di dalam tanah terdapat berbagai macam mikroorganisme. Dari setiap organisme tersebut memiliki kemampuan dan manfaat masing-masing dalam kehidupan misal saja diantaranya adalah jamur, ganggang, alga, bakteri dan lainnya. Jamur memiliki berbagai macam jenis salah satunya adalah kapang *Trichoderma* sp. Kapang memiliki kemampuan untuk mendegradasi bermacam-macam bahan misalnya selulosa. Kemampuan kapang ini dikarenakan kapang mampu menghasilkan enzim yang dapat memecah senyawa tersebut.

Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa adalah selulase. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Kapang yang dapat menghidrolisis selulosa adalah *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan lain-lain. Diantara beberapa jenis kapang yang bisa menghasilkan selulase, yang potensial untuk dikembangkan dalam pembuatan enzim selulase salah satunya adalah kapang *Trichoderma* sp (Arnata, 2009). *Trichoderma* adalah kapang berfilamen yang sangat dikenal sebagai organisme selulolitik dan

menghasilkan enzim-enzim selulolitik, termasuk enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase (Deacon, 1997). Kelebihan dari *Trichoderma viride* selain menghasilkan enzim selulolitik yang lengkap, juga menghasilkan enzim xyloglukanolitik (Tribak *et al.*, 2002). Keberadaan enzim ini akan semakin mempermudah enzim selulolitik dalam memecah selulosa. (Gunam, 2011). *Trichoderma* adalah kapang yang mempunyai potensi selulolitik, karena mampu menghasilkan enzim selulase pada substrat yang mengandung selulosa. Selulase yang dihasilkan *trichoderma* memiliki komponen yang lengkap, yaitu selobiohidrolase (C1) yang aktif menghidrolisis selulosa alami, endoglukanase (Cx) yang aktif merombak selulosa terlarut seperti *Carboxyl Methyl Cellulase* (CMC) dan  $\beta$ -glukosidase (Salma dan Gunarto, 1996) yang menghidrolisa selobiosa menjadi produk akhir yaitu dalam biodegradasi bahan-bahan berselulosa (Hardjo, dkk. 1989). *Trichoderma* sp. juga memiliki peranan yang sangat penting dalam meningkatkan kualitas suatu bahan pakan. Menurut Ginting dan Krisnan (2006), *T. harzianum* mempunyai aktifitas selulolitik lebih tinggi dibandingkan dengan *T. koningii* atau *T.*

*viridae*. Fati (1997) melaporkan bahwa fermentasi dedak padi dengan kapang *Trichoderma harzianum* mampu meningkatkan protein dari 8,74% menjadi 14,66% dan menurunkan serat kasar dari 18,90% menjadi 12,81%. Fermentasi dengan menggunakan kapang memungkinkan terjadinya perombakan bahan yang sulit dicerna oleh ternak menjadi bahan yang mudah dicerna sehingga nilai manfaatnya meningkat (Winarno, 1980). Fan dkk., (2006) menyatakan bahwa saat ini, enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa (Sa'daah, 2012). Sel mikroba merupakan sumber enzim yang umum untuk digunakan dalam bidang industri. Enzim dari mikroba lebih banyak digunakan dibandingkan enzim dari tanaman atau hewan karena mikroorganisme dapat berkembang biak dengan cepat, pertumbuhan relatif mudah diatur, enzim yang dihasilkan tinggi sehingga ekonomis bila digunakan untuk industri, enzim yang dihasilkan lebih stabil. Salah satu cara untuk menekan biaya produksi enzim selulase adalah dengan memanfaatkan limbah hasil pertanian seperti jerami, onggok, dedak yang biasa digunakan sebagai medium pertumbuhan bagi mikroba penghasil selulase. Hemiselulosa adalah gabungan dari polimer-polimer dengan rantai relatif lebih pendek dan bercabang, yang terdiri dari monomer xylosa, arabinosa, glukosa, manosa dan galaktosa, dengan struktur amorf (Bailey dan Ollis, 1986). Meskipun dilindungi oleh lignin, jerami padi masih dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh mikroorganisme selulolitik seperti *Trichoderma reesei* (Muthuvelayudham dan Viruthagiri, 2006) maupun *Aspergillus niger* (Aderemi dkk., 2008).

Enzim selulolitik yang bekerja secara sinergis menghasilkan glukosa melalui proses hidrolisis. Enzim selulolitik ini terdiri dari endo- $\beta$ -1,4-glukanase dan ekso-1,4-glukanase dan  $\beta$ -glukosidase memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul-molekul selulosa yang lebih pendek. Ekso-1,4-glukanase memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan  $\beta$ -glukosidase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa. (Selviza dkk, 2013).

#### METODE PENELITIAN

Tempat penelitian pada saat pengambilan sampel tanah dilakukan di hutan jari Grape, waktu pengembangan kapang dilakukan di ruang laboratorium terapan biologi IKIP PGRI MADIUN. Pada saat produksi aktivitas *crude* enzim dan pengujian dilakukan di laboratorium pertanian UNS.

Penelitian ini rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan penelitian 2 faktorial faktor 1: konsentrasi, faktor 2: waktu inkubasi. K1=Konsentrasi 10%, K2= Konsentrasi inokulum 15%, K3= Konsentrasi inokulum 20%, H1= Waktu inkubasi 5 hari, H2= Waktu inkubasi 7 hari, H3= Waktu inkubasi 9 hari. Pengambilan data dilakukan dengan menggunakan metode Nelson Semogy. (Apriyanto, dkk.1989)

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi LAF, spektrofotometer, wadah toples, penggaris, kertas label, cawan petri, scroll, gelas ukur, erlenmeyer, spatula pengaduk, tabung reaksi, gelas ukur 500 ml, timbangan listrik, kompor listrik, bunsen, korek api, tip, autoklaf, syaker, sentrifius, cling wrap, aluminium foil, kapas kasa 100%, botol 300 ml, vortex.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi : PDA, CMC, Aquades, Tanah, Spirtus, Glukosa Standart, Reagen Arsenomolibdat, Reagen Nelson

**Isolasi kapang selulolitik.** Tanah dari hutan jari Kresak Madiun diambil untuk isolasi kapang selulolitik. Sampel tanah diambil pada kedalaman 10 cm dari atas permukaan. Dari beberapa jenis kapang selulolitik yang terisolasi hanya dipilih satu jenis kapang saja yaitu *Trichoderma sp.*

**Delignifikasi dan persiapan nutrisi.** Jerami padi dikeringkan terlebih dahulu. kemudian diblender agar teksturnya halus dan siap digunakan sebagai substrat. Nutrisi yang digunakan sebagai campuran nutrisi kapang adalah  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NaH}_2\text{PO}_4)$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ , Urea 0,3%, Aquades. Kemudian diatur hingga pH 5.

**Proses produksi enzim.** Produksi enzim dimulai dengan mencampurkan jerami padi 5 gram dengan larutan nutrisi 25 ml kedalam Erlenmeyer 250 ml kemudian ditutup dengan kapas steril dan di lapiisi aluminium foil, kertas dan diikat dengan benang. Campuran substrat dan media kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan temperature  $121^\circ\text{C}$ . Media didinginkan hingga suhu ruang sebelum proses inokulasi mikroba secara aseptik dilakukan. Masing-masing bibit *Trichoderma sp.* di inkubasi selama 5,7,9 hari pada suhu ruang dengan inokulasi 10%, 20% ,30% inkubasi dilakukan dengan alat shaker. Dituangkan 100 ml larutan 0,1 tween 80 ke dalam jerami padi yang sudah difermentasi dan diaduk pada 150 rpm selama 120 menit pada suhu ruang. Larutan kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit.



Supernatant yang diperoleh digunakan sebagai ekstraksi enzim kasar.

**Pengujian aktivitas enzim.** Aktivitas enzim diuji menggunakan metode nelson somogyi, dengan reagen nelson somogyi. Menurut Apriyanto, dkk (1989) dalam suasana alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5 – dinitrosalisilat membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540-550 nm. Dalam pengujian aktivitas enzim mendefinisikan satu International Unit (IU) sebagai 1µmol glukosa yang dihasilkan dari degradasi substrat CMC tiap menit dalam waktu inkubasi 10menit dengan suhu 35<sup>0</sup>C.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa data dalam penelitian ini adalah variasi yang menggunakan dua faktor perlakuan dengan dua kali ulangan. Teknik analisis data penelitian adalah cara yang digunakan untuk mengolah data yang sudah terkumpul dengan menggunakan uji Anava Dua Jalur untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap aktivitas *crude* enzim selulase.

Berdasarkan 9 perlakuan terhadap *crude* enzim selulase kapang *Trichoderma sp.* kemudian dilakukan pengujian glukosa dan diperoleh hasil pada Tabel 1 data hasil pengujian glukosa dari kapang *Trichoderma sp.*

Tabel 1 Data Hasil Pengujian Glukosa

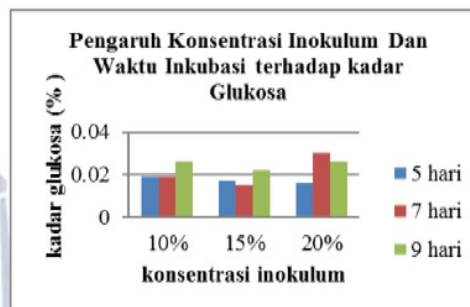
Kombinasi perlakuan	Rata-rata (%)
K1H1	0,019
K1H2	0,019
K1H3	0,026
K2H1	0,017
K2H2	0,015
K2H3	0,022
K3H1	0,016
K3H2	0,030
K3H3	0,026

**Keterangan:** K1=Konsentrasi 10%, K2= Konsentrasi inokulum 15%, K3= Konsentrasi inokulum 20%, H1= Waktu inkubasi 5 hari, H2= Waktu inkubasi 7 hari, H3= Waktu inkubasi 9 hari

Berdasarkan data pada Tabel 1 data hasil pengujian glukosa dapat menunjukkan bahwa pada perlakuan K3H2 (konsentrasi 20% dengan waktu inkubasi 7 hari) merupakan perlakuan dengan kandungan glukosa paling tinggi diperoleh rata-rata sebesar 0,030%. Sedangkan data pengamatan menunjukkan bahwa pada perlakuan K2H2 (konsentrasi 15% dan waktu inkubasi 7 hari)

merupakan perlakuan dengan kandungan glukosa paling rendah diperoleh rata-rata sebesar 0,015%.

Berdasarkan data dari Tabel 1 data hasil pengujian glukosa dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh antara konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase (Gambar 1)



Gambar 1. Histogram interaksi antara konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi

Uji hipotesis pada konsentrasi inokulum menunjukkan bahwa ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ )  $22,42 > 4,26$  berarti bahwa terdapat pengaruh konsentrasi inokulum terhadap *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma sp.* berdasarkan hasil rata-rata kadar glukosa pada kapang *Trichoderma sp.* yang di diberi inokulum *Trichoderma sp.* dengan konsentrasi 10%, 15%, 20% didapatkan hasil bahwa konsentrasi inokulum dari K3 mengalami penurunan di konsentrasi inokulum K2 akan tetapi kembali naik pada konsentrasi K1. Dalam proses fermentasi dengan inokulum K2 tidak sesuai untuk produksi enzim. Pada perlakuan K2 kompetisi kapang dalam menghidrolisis substrat sangat tinggi sehingga terjadi persaingan atau kompetisi antar kapang sehingga ada beberapa kapang yang akan mati karena tidak memperoleh nutrisi untuk tumbuh. Pada inokulum K3 kadar glukosa kembali naik ini disebabkan pada saat konsentrasi tersebut, kapang yang mendapatkan makanan atau yang mendapatkan nutrisi tadi menghasilkan metabolisme. Menurut Kirana (2012) banyaknya jumlah mikroba menyebabkan terjadinya kompetisi antara mikroba dengan mikroba lainnya untuk mendapatkan nutrisi sehingga menyebabkan pertumbuhan mikroba lain terhambat.

Uji hipotesis pada waktu inkubasi menunjukkan bahwa ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ )  $31,25 > 4,26$  ini berarti bahwa terdapat pengaruh waktu inkubasi terhadap *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma sp.* berdasarkan hasil rata-rata kadar glukosa pada kapang *Trichoderma sp.* dengan lama inkubasi 5 hari, 7 hari, 9 hari menunjukkan bahwa semakin besar

waktu inkubasi yang diberikan maka akan semakin besar pula kadar glukosa yang diproduksi. Sulistyani dan Setyowati (2000), melaporkan bahwa produksi glukosa cair dari fermentasi alang-alang oleh kapang *Trichoderma viride* bisa ditingkatkan sebesar 13,4 mg/ml dengan lama fermentasi 14 hari.

Pengaruh antara konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi (KH) menunjukkan bahwa ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ) 17,72 > 3,63 sehingga  $H_{KH}$  diterima yang menunjukkan terdapat interaksi antara konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap aktivitas *crude* enzim selulase dengan pengujian kadar glukosa pada kapang *Trichoderma sp.* berdasarkan hasil rata-rata kandungan glukosa pada kapang *Trichoderma sp.* yang di beri inokulum sebesar 10%, 15%, 20% dengan lama waktu inkubasi 5 hari, 7 hari, 9 hari. Dari keseluruhan data yang diperoleh tersebut terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi naik-turunya kadar glukosa dalam jumlah inokulum dan inkubasi yang berbeda-beda. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Aktivitas enzim yang tinggi diperoleh pada saat pasca eksponensial (stasioner) yaitu setelah hari ke-4 fermentasi (Abdul Aziz Darwis 1995 dalam Zulvatus Sada'ah dkk 2008). Dosis inokulum sampai pada batas tertentu akan meningkatkan pertumbuhan miselium hingga menutupi substrat, sehingga enzim yang dihasilkan untuk memasuki jaringan serat mencukupi semakin banyak ( Musnandar, 2003 dalam Ratu Safitri, Septyana dan Nia Rossiana 2012).

#### SIMPULAN

Ada pengaruh konsentrasi inokulum terhadap kadar glukosa hasil ekstraksi *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma sp.* dengan substrat jerami padi. Ada pengaruh waktu inkubasi terhadap kadar glukosa hasil ekstraksi *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma sp.* dengan substrat jerami padi. Ada pengaruh antara interaksi konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap kadar glukosa hasil ekstraksi *crude* enzim selulase pada kapang *Trichoderma sp.* dengan substrat jerami padi. Prosedur dan hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan dalam penyusunan petunjuk praktikum mikrobiologi pada bab isolasi

#### DAFTAR PUSTAKA

Anwar, N. 2010. Hidrolisis Jerami Padi Menjadi Glukosa untuk Bahan Baku Produksi Hidrogen (online), ([http://digilib.its.ac.id/public/ITS-](http://digilib.its.ac.id/public/ITS-Research-11652-195209161980031002-Paper2.pdf)

[Research-11652-195209161980031002-Paper2.pdf](http://digilib.its.ac.id/public/ITS-Research-11652-195209161980031002-Paper2.pdf)) Diunduh pada 15 Juli 2014

Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga

Brata, B. 2008. Uji Lama Fermentasi dan Persentase Inokulum Melalui Kapang *Trichoderma harzianum* terhadap Peningkatan Kualitas Isi Rumen Sebagai Pakan Ayam. (online), (<http://uri.psantoso.files.wordpress.com/2014/03/03-bieng-fermentasi-trichoderma.pdf>). Diunduh 07 April 2014

Budiman, A. 2010. Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan PH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi. (online), ([http://eprints.undip.ac.id/3650/1/Makalah\\_Penelitian\\_Albar\\_Sigit.pdf](http://eprints.undip.ac.id/3650/1/Makalah_Penelitian_Albar_Sigit.pdf)). Diunduh 15 Juli 2014

Dwijoseputro. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.

Fatan. 2012. *Trichoderma*. (online), (<http://fatandwiputra.blogspot.com/2012/12/trichoderma-sp.html>). Diunduh 30 Mei 2014.

Gunam, I.B. 2011. Produksi Selulase Kasar Dari Kapang *Trichoderma Viride* Dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu Dan Lama Fermentasi. (Online), (<http://ojs.unud.ac.id/index.php/BIO/article/download/603/429>) Diunduh pada 30 Juni 2014.

Michael dan Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia

Pradita Kirana. 2012. Pengaruh Konsentrasi dan Frekuensi Pemberian Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Jamur Tiram (*Pleurotus Ostreatus*). (Online), ([Http://Biologi.Fst.Unair.Ac.Id/Wp-Content/Uploads/2012/04/Jurnal-Pradita-Kirana.Pdf](http://Biologi.Fst.Unair.Ac.Id/Wp-Content/Uploads/2012/04/Jurnal-Pradita-Kirana.Pdf)) Diunduh Pad 13 Juli 2014.

Preti Pujioktari. 2013. Pengaruh Level *Trichoderma harzianum* dalam Fermentasi Terhadap Kandungan Bahan Kering, Abu, dan Serat Kasar Sekam Padi. (online), (<http://www.sharepdf.com/19ec4cf5b5be4b1e9550926dddb83c11/skripsi%20lengkap.pdf>). Diunduh pada 05 Juli 2014

Sa'ddah Z. 2012. Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan System Fermentasi Padat. (Online), ([Http://Eprints.Undip.Ac.Id/13063/1/ARTIKEL\\_ILMIAH.Pdf](http://Eprints.Undip.Ac.Id/13063/1/ARTIKEL_ILMIAH.Pdf)) Diunduh Pada 30 Juni 2014)

Safitri, R, et al. 2012. Biodegradasi Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis jacq*) Oleh Jamur Lingo Selulolitik. (Online),



- ([Http://www.pappiptek.lipi.go.id  
%2Findex.php/%2Fen/%2Fd](http://www.pappiptek.lipi.go.id/%2Findex.php/%2Fen/%2Fd))
- Saprianti, E. 2011. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma*. (Online). (<http://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/viewFile/163/534> Diunduh 07 April 2014).
- Sari A.W .2012. Jamur Penghasil Enzim.(online), (<http://wulan-berbagi-ilmu.blogspot.com/2012/01/jamur-penghasil-enzim.html>) Diunduh 23 Mei 2014
- Saropah, dkk. 2012. Kinetika Reaksi Enzatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul. (Online). Diunduh 07 Mei 2014
- Selviza Safari, 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari Kapang *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. <http://jurnal.untan.ac.id>. Diunduh 03 Februari 2014)
- Subandi. 2010. *Mikrobiologi*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya
- Sugiono. 2006. *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta
- Sylvia, T .P. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM



ORIGINALITY REPORT

---

**18%**

SIMILARITY INDEX

**16%**

INTERNET SOURCES

**3%**

PUBLICATIONS

**3%**STUDENT PAPERS

---

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

---

3%

★ dokumen.tips

Internet Source

---

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches &lt; 10 words