

Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Waktu Inkubasi terhadap Kadar Protein Enzim Selulase Kapang *Aspergillus Sp*

by Pujiati, Joko Widiyanto

Submission date: 01-Jan-2019 07:09AM (UTC-0800)

Submission ID: 1061051167

File name: 27._PROSIDING_SNSE.pdf (102.97K)

Word count: 2026

Character count: 12342

Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Waktu Inkubasi terhadap Kadar Protein Enzim Selulase Kapang *Aspergillus Sp*

¹Pujiati, ¹Joko Widiyanto

^{1,2}Universitas PGRI Madiun

pujiati@unipma.ac.id

Abstrak-Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai macam limbah selulosa terhadap kualitas enzim selulase yang dihasilkan kapang *Aspergillus sp* koleksi laboratorium biologi Universitas PGRI Madiun. Kualitas enzim diukur berdasarkan data kadar protein yang diperoleh. Metode penelitian yang dipakai adalah eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktorial dengan 3 kali pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah S (jenis substrat) yaitu limbah daduk (Sd), limbah seresah Jerami kacang tanah (Sr), limbah Bonggol jagung (Sj) dan W(waktu inkubasi) dengan variasi W₁ (3 hari), W₂ (5 hari), W₃ (7 hari) dan W₄ (10 hari) Data kandungan protein dari kapang *Aspergillus niger* diperoleh dengan menggunakan metode BIURET kemudian data dianalisis dengan menggunakan anava dua jalur kemudian di uji lanjut dengan uji BNJ. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa enzim yang diproduksi dengan substrat jerami kacang tanah (Sr) pada waktu inkubasi 10 hari (W₄) (SrW₄) menghasilkan kadar protein tertinggi dengan rata-rata sebesar 1.44±0.15 µg/mL, sedangkan enzim dengan kadar protein terendah diproduksi pada substrat tongkol jagung (Sj) pada waktu inkubasi 3 hari (W₁) (SjW₃) dengan kadar protein sebesar 0.29±0.02 µg/mL.

Kata Kunci: limbah seuosa, kadar protein, enzim selulase, *Aspergillus sp*

PENDAHULUAN

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh selulase. Bahan lignoselulosa merupakan komponen organik berlimpah di alam, yang terdiri dari tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%)

dan lignin (10-25%) (Saha, 2004). Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon dan energi. Konversi bahan lignoselulosa banyak dipelajari dari mikroba selulolitik maupun xilanolitik (Pason dkk, 2003). Kesulitan yang dihadapi dalam proses

degradasi lignoselulosa adalah susunan yang heterogen dari polisakarida yang terdapat pada dinding sel. Limbah selulosa khususnya limbah pertanian yang berlimpah merupakan suatu bahan yang mempunyai nilai tambah bila diproses lebih lanjut.

Limbah lignoselulosa seperti limbah daduk, limbah seresah daun, bonggol jagung terdiri dari bahan selulosa, hemiselulosa dan lignin. Produk pertanian ini dapat dijadikan substrat potensial untuk menghasilkan enzim selulase.

Tingginya biaya yang dikeluarkan untuk enzim selulase merupakan hambatan utama bagi beberapa industri. Sehingga diperlukan usaha yang secara signifikan dapat mereduksi biaya selulase dengan berfokus pada efisiensi selulase melalui identifikasi sumber selulase baru dan minimalisasi biaya dalam produksi selulase (Merino, 2007; Kumar, 2008).

Enzim selulase ini dapat diproduksi melalui pemanfaatan mikroorganisme atau yang biasa kita sebut sebagai mikroorganisme selulolitik. Mikroorganisme selulolitik adalah mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim selulase pada substrat yang mengandung selulosa. Jenis mikroorganisme selulolitik yang sudah diketahui memiliki potensi besar dalam menghasilkan enzim selulase adalah kapang. Untuk memperoleh hasil yang maksimal pada proses degradasi, diperlukan perlakuan awal yang bisa dilakukan secara mekanik, fisika-kimia, kimia dan biologi dapat mendegradasi bahan lignoselulosa untuk menghasilkan pupuk organik, termasuk bakteri anaerob yang dapat menghasilkan multi enzim kompleks/selulosom.

Aspergillus merupakan salah satu jenis kapang selulolitik yang mampu menghasilkan enzim selulase (Pujiati, 2014), kapang selulolitik ini diantaranya digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat, dan dalam pembuatan enzim amylase, pektinase, amiloglukosidase, dan selulase. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari jenis-jenis substrat yang mengandung selulosa dan waktu inkubasinya dalam menghasilkan enzim selulase yang dapat diukur kualitasnya berdasarkan kadar protein yang dibentuk..

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : erlenmeyer, sentrifuge, pipet tetes, kertas saring, aluminium foil, tip, spatula kaca, ose, bunsen, pipet volume, autoclave, tabung reaksi, shaker, kertas label, gelas ukur, pipet micro, kapas, cawan petri, wrapping plastic, botol kaca, timbangan digital, kompor listrik, beaker pyrex, tissue, spektrofotometer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi spora kapang *Aspergillus niger*, PDA (3,9gr/100ml), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CMC, 1% KH_2PO_4 , 6% NaOH, 1% $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Urea, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, larutan 0,1% tween 80, aquades, alkohol 70%, serbuk daduk, serbuk seresah daun, serbuk jerami kacang tanah masing masing sebanyak 5gr.

Tahap Peremajaan dan pembuatan kultur murni kapang *Aspergillus* sp.

Koleksi kapang *Aspergillus* sp. ditumbuhkan pada medium PDA baru pada agar miring. Kapang usia 4 hari. Spora kapang kemudian digelontorkan dengan air fisiologis sebanyak 100 ml kemudian di

inkubasi selama 4 hari di atas shaker. Selanjutnya mengukur kepadatan spora dengan menggunakan haemocytometer.

Proses Delignifikasi substrat

Proses delignifikasi substrat dimulai dengan menghancurkan jerami padi sampai halus (diblender), selanjutnya melakukan delignifikasi dengan cara merendam serbuk substrat dalam larutan NaOH 6% pada gelas beker seberat 30 g selama 12 jam pada suhu kamar (30°C). Kemudian membersihkan atau mencuci substrat sampai netral kemudian disaring. Terakhir mengeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 10 jam.

Pembuatan larutan nutrisi

Melarutkan urea (3g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (10g/L), KH_2PO_4 (3g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,5g/L) dengan akuades dalam erlenmeyer.

Tahap produksi enzim

Serbuk substrat dimasukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 250ml sebanyak 5g dan menambahkan 25ml nutrisi kemudian disterilisasi di autoclave pada temperatur 121°C kemudian didinginkan hingga mencapai suhu kamar. Tahapan akhir memasukkan spora kapang *Aspergillus* ke dalam media yang sudah disterilisasi kemudian mengaduk secara aseptis atas shaker lalu difermentasi selama 3 hari, 5 hari, dan 7 hari, 10 hari setelah itu disentrifuge dan diambil supernatannya (crude selulase).

Uji Produktivitas Enzim Selulase dan Protein dalam Enzim Selulase

Enzim selulase yang diperoleh atau yang dihasilkan kemudian di analisis kadar proteinnya. Pengujian kadar dan analisa kandungan protein menggunakan metode biuret. Analisa protein dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel kemudian ditambah dengan 0,3 ml NaOH, 0,5 ml aquadest ke dalam cuvet. Selanjutnya ditambah dengan 3 reagen pembentuk kompleks, kemudian larutan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu 0,3 ml reagen folin phenol ditambahkan dan dihomogenisasi lalu didiamkan selama 45 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 578 nm. Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi protein pada sampel.

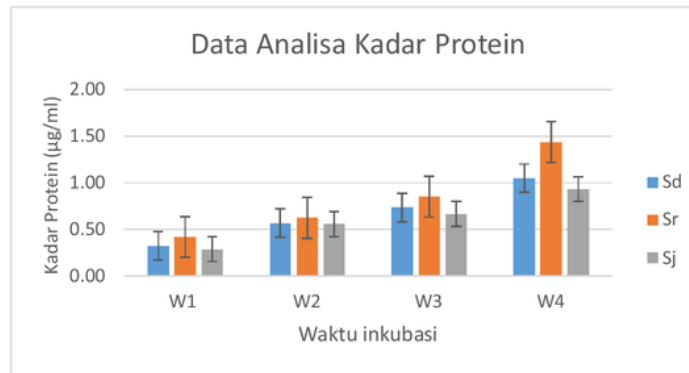
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1.1 Data analisa kadar protein µg/mL

Jenis subs	Waktu Inkubasi			
	W ₁	W ₂	W ₃	W ₄
Sd	0.32±0.04	0.57±0.03	0.74±0.06	1.05±0.07
Sr	0.42±0.03	0.63±0.04	0.85±0.05	1.44±0.15
Sj	0.29±0.02	0.56±0.03	0.67±0.04	0.93±0.05

Keterangan: limbah daduk (Sd), limbah seresah Jerami kacang tanah (Sr), limbah Bonggol jagung (Sj) dan W₁ (3 hari), W₂ (5 hari), W₃ (7 hari) dan W₄ (10 hari)



Gambar 1. Data analisa kadar protein, limbah daduk (Sd), limbah seresah Jerami kacang tanah (Sr), limbah Bonggol jagung (Sj) dan W1 (3 hari), W2 (5 hari), W3 (7 hari) dan W4 (10 hari)

Berdasarkan tabel 1.1 dan gambar 1 dapat diketahui bahwa enzim yang diproduksi dengan substrat jerami kacang tanah (Sr) pada waktu inkubasi 10 hari (W₄) (SrW₄) menghasilkan kadar protein tertinggi dengan rata-rata sebesar 1.44±0.15 µg/mL, sedangkan enzim dengan kadar protein terendah diproduksi pada substrat tongkol jagung (Sj) pada waktu inkubasi 3 hari (W₁) (SjW₃) dengan

kadar protein sebesar 0.29±0.02 µg/mL. Protein yang terbentuk merupakan hasil dari metabolit kapang yang dihasilkan dalam upaya untuk memecah substrat yang mengandung selulosa tersebut. Semakin besar kemampuan kapang *Aspergillus* sp berarti semakin banyak protein yang dihasilkan. Hasil uji statistic ditampilkan pada tabel di bawah ini:

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar Protein Enzim

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.457 ^a	11	.314	98.731	.000
Intercept	17.752	1	17.752	5.577E3	.000
Jenis_substrat	.328	2	.164	51.498	.000
Waktu_inkubasi	2.929	3	.976	306.729	.000
Jenis_substrat* Waktu_inkubasi	.200	6	.033	10.476	.000
Error	.076	24	.003		
Total	21.286	36			
Corrected Total	3.534	35			

^a. R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .968)

Dari analisis *Analysis of variants* (anova) dua faktor diperoleh data Pengaruh Jenis substrat terhadap kadar protein diperoleh $F_{hitung} = 51,498 > F_{tabel (2,24)} = 3,403$ dan atau nilai probabilitas (sig.)

$0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak, yang berarti ada pengaruh jenis substrat terhadap kadar protein. Pengaruh waktu inkubasi terhadap kadar protein diperoleh $F_{hitung} = 306,729 > F_{tabel (3,24)} = 3,009$ dan atau nilai

probabilitas (sig.) $0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak, yang berarti ada pengaruh jenis waktu inkubasi terhadap kadar protein. Pengaruh interaksi jenis substrat dan waktu inkubasi terhadap kadar protein diperoleh $F_{hitung} = 10,476 > F_{tabel(6,24)} = 2,508$ dan atau nilai probabilitas (sig.) $0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak, yang berarti ada pengaruh interaksi jenis substrat dan waktu inkubasi terhadap kadar protein. Karena hasil anava dua faktor diperoleh masing-masing perlakuan mempunyai pengaruh yang signifikan pada kepercayaan

95%, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan mana yang mempunyai perbedaan secara signifikan. KK diperoleh 7,8, maka uji lanjut yang digunakan adalah uji BNT (Beda nyata Terkecil) atau uji LSD (*Least Significant Difference*) pada SPSS. Jika antar perlakuan diperoleh nilai probabilitas (sig) $< 0,05$, berarti ada perbedaan nyata antar perlakuan tersebut. Dari Analisis menggunakan SPSS diperoleh data sebagai berikut:

Multiple Comparisons

Kadar Protein Enzim
LSD

(I) Waktu inkubasi	(J) Waktu inkubasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
3 hari	5 hari	-.24000 [*]	.06478	.001	-.3720	-.1080
	7 hari	-.40778 [*]	.06478	.000	-.5397	-.2758
	10 hari	-.78333 [*]	.06478	.000	-.9153	-.6514
5 hari	3 hari	.24000 [*]	.06478	.001	.1080	.3720
	7 hari	-.18778 [*]	.06478	.014	-.2997	-.0358
	10 hari	-.54333 [*]	.06478	.000	-.6753	-.4114
7 hari	3 hari	.40778 [*]	.06478	.000	.2758	.5397
	5 hari	.18778 [*]	.06478	.014	.0358	.2997
	10 hari	-.37556 [*]	.06478	.000	-.5075	-.2436
10 hari	3 hari	.78333 [*]	.06478	.000	.6514	.9153
	5 hari	.54333 [*]	.06478	.000	.4114	.6753
	7 hari	.37556 [*]	.06478	.000	.2436	.5075

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Produksi protein pada kapang meliputi, penambahan suplai karbon yang difiksasi oleh siklus Calvin, fiksasi dari nitrogen, diikuti dengan konversi yang membutuhkan energi untuk membuat protein yang spesifik (Sukara dan Doellet 1988). Perbedaan lama waktu inkubasi menyebabkan hidrolisis substrat semakin banyak, sehingga kadar protein semakin meningkat dan menunjukkan selulase yang dihasilkan juga meningkat, demikian sebaliknya bahwa semakin sedikit waktu yang digunakan untuk proses fermentasi maka kadar protein yang dihasilkan juga sedikit, sehingga

produktivitas enzim selulase rendah (Pujiati, 2014)

Keberadaan selulase yang tinggi juga berdampak pada peningkatan kadar protein. Kadar protein yang berbeda menunjukkan kemampuan yang berbeda pula pada penggunaan berbagai macam substrat dan waktu inkubasi dari masing-masing perlakuan. Selulase dalam menghidrolisa selulosa akan berbeda pada setiap sumber selulosa yang berasal dari alam karena kandungan lignin yang berbeda beda.

Ikatan lignin dengan komponen selulosa dan hemiselulosa dinding sel bertindak sebagai penghalang dari kerja enzim-enzim yang dikeluarkan oleh mikroba.

Terhambatnya aktivitas mikroba disebabkan oleh dinding sel yang terlignifikasi tidak cukup berpori untuk memungkinkan difusi enzim terutama selulase, sehingga mikroba hanya dapat menyerang permukaan dari dinding selnya saja (Tomaszewska et al., 1993). Parakkasi (1999) menyatakan bahwa dengan adanya bantuan mikroba rumen akan meningkatkan pencernaan bahan makanan yang mengandung karbohidrat struktural (karbohidrat pembangunan). Substrat yang digunakan adalah substrat daduk, substrat jerami kacang tanah, substrat tongkol jagung. Pemilihan substrat ini didasarkan kandungan selulosa yang berbeda-beda pada setiap bahan karena aktivitas enzim juga bergantung pada kandungan dan struktur setiap substrat yang berbeda-beda.

Sebelum produksi enzim dilakukan, ketiga substrat dilakukan pretreatmen. Pretreatmen dilakukan secara fisik dengan menghaluskan substrat dilanjutkan pretreatmen secara kimiawi dengan merendam pada 6% NaOH. Proses pretreatmen ini sangat membantu kapang untuk mendegradasi substrat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa:

1. Enzim yang diproduksi dengan substrat jerami kacang tanah (Sr)

pada waktu inkubasi 10 hari (W_4) (SrW_4) menghasilkan kadar protein tertinggi dengan rata-rata sebesar $1.44 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$.

2. Enzim dengan kadar protein terendah diproduksi pada substrat tongkol jagung (S_j) pada waktu inkubasi 3 hari (W_1) (S_jW_3) dengan kadar protein sebesar $0.29 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$.
3. Berdasarkan uji statistic pada masing-masing perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Pason, P., K. Ratanakhanokchai and K.L. Kyu. 2003. *Multiple Cellulases and Xylanases of Bacillus circulans B-6. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics Vol. 16. Proceedings of Project Seminars in 2000-2003 for JSPS-NCRT/DOST/LIPI/VCC.* IC Biotech, Japan p. 305-310.
- Parakkasi, A. 1999. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminansia.* Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Pujiati. R. Bakti Kiswardianta. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Dan Lama Inkubasi Terhadap Aktivitasenzim Selulase Dari kapang Aspergillus niger.* Jurnal Penelitian LPPM Universitas PGRI Madiun.

- R. Kumar, S. Singh, O.V. Singh.2008. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35: 377–391.
- Saha, B.C. 2004. *Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology*. US Government Work. American Chemical Society. 2-14.
- S.T. Merino, J. Cherry.2007. Progress and challenges in enzyme development for biomass utilization. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 108: 95–120.
- Sukara E, Doelle HW. 1989. A one-step process for the production of single cell protein and amyloglucosidase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 30: 135-140.
- Tomaszewska, M. W., I. M. Mastika, A. Djajanegara, S. Gardiner, dan T. R. Wiradarna. 1993. *Produksi kambing dan domba di indonesia*. Terjemahan: I. Made Mastika, Komang Gede Suaryana, I Gusti Lanang Oka, dan Ida Bagus Sutrisna. Sebelas Maret University Press. Hal 160-180.

Pengaruh Jenis Substrat dan Lama Waktu Inkubasi terhadap Kadar Protein Enzim Selulase Kapang Aspergillus Sp

ORIGINALITY REPORT

14%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

5%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

2%

★ repository.usu.ac.id

Internet Source

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 10 words