

Efektivitas Komposisi Substrat dan Lama Fermentasi oleh *Trichoderma Harzianum* untuk Aktivitas Enzim Selulase dari Campuran Tongkol Jagung dan Blondo

Effectiveness of Substrate Composition and Fermentation Time by *Trichoderma Harzianum* for Cellulase Enzyme Activity from A Mixture of Corn Cobs and Blondo

Desi Susanti, S.Pt, MP^{1*}, Suci Rahmi, S.TP.,MSi¹

¹Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Teuku Umar,
Alue Peunyareng, Meureubo, Aceh Barat 23681, Indonesia

*Email : 2desisusanti@utu.ac.id

ABSTRAK

Tongkol jagung merupakan bahan yang cukup potensial dimanfaatkan sebagai substrat sumber energi dalam memproduksi enzim selulase melalui proses fermentasi. Hal ini dapat dilihat dari kandungan nilai gizi tongkol jagung sebagai berikut: 391 gr selulosa, 421 gr hemiselulosa, 91 gr lignin, dan 17 gr protein. Namun demikian selulosa dan hemiselulosa pada tongkol jagung belum optimal kerjanya dalam menginduksi produksi enzim selulase, karena rendahnya kandungan nitrogen sebagai pendukung pertumbuhan kapang. Blondo merupakan salah satu bahan yang dapat dijadikan sebagai substrat sumber nitrogen dalam medium fermentasi, karena kaya akan kandungan protein kasar sebanyak 24.22%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan interaksi komposisi substrat (tepung tongkol jagung (TTJ) dan blondo (B) dan lama fermentasi oleh *Trichoderma harzianum* dalam memproduksi enzim selulase. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung tongkol jagung, Blondo, PDA, isolat *Trichoderma harzianum*, Reagen Nelson I dan Nelson II dan Fosfomolibdat. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor, masing-masing 3 taraf (3x3) 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu komposisi substrat campuran tepung tongkol jagung (TTJ) dan blondo (B) dengan perlakuan B1 (80% TTJ+ 20% B), B2 (70% TTJ+ 30% B) dan B3 (60% TTJ+40% B) dan lama fermentasi (C) dengan perlakuan C1 (5 Hari), C2 (7 hari) dan C3 (9 hari). Data aktivitas enzim selulase dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5%. Variable yang diamati adalah aktivitas enzim selulase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan komposisi substrat 70% tongkol jagung dan 30% blondo dengan lama fermentasi 7 hari berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap aktivitas enzim selulase dengan aktivasi enzim selulase terbaik sebesar 7.99 unit/ml.

Kata Kunci :Blondo; Aktivitas enzim selulase; Tongkol jagung, *Trichoderma harzianum*.

ABSTRACT

Corn cobs are a material that has the potential to be used as an energy source substrate in producing cellulase enzymes through the fermentation process. It can be seen from the nutritional content of corncobs as follows: 391 grams of cellulase, 421 grams of hemicellulase, 91 grams of lignin, and 17 grams of protein. However, cellulose and hemicellulase in corn cobs has not been optimal in inducing cellulase enzyme production, due to the low nitrogen content as a support for mold growth. Blondo is one of the ingredients that can be used as a nitrogen source substrate in the fermentation medium, because it is rich in crude protein content of 38.99%. The purpose of study was determined the effect of substrate composition (corn cobs and blondo) and fermentation time by *Trichoderma Harzianum* in producing cellulase enzymes. The main ingredients used in this study were corn cobs, Blondo, PDA, *Trichoderma Harzianum* isolates, Nelson I and Nelson II reagents and Phosphomolybdate. Factorial completely randomize design with two factors, each factor consisting of 3 level and each combination were replicated 3 times (CRD) 3 x 3 factorial pattern with 3 replications. The treatments were combination of corn cobs and blondo (B) with B1 (80% + 20%), B2 (70% + 30%) and B3 (60% + 40%) and fermentation time (C) with the treatment C1 (5 Days), C2 (7 days) and C3 (9 days). Cellulase

enzyme activity data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with a significance level of 5%. The observed variable was cellulase enzyme activity. The results showed the treatment of 70% corn cobs substrate composition and 30% blondo with 7 days fermentation time that had a significant effect ($P < 0.05$) on activity of cellulase enzymes, with the highest cellulase enzyme activity of 7.99 unit/ml.

Keyword : Blond; Cellulase enzyme activity; Corn corbs; *Trichoderma harzianum*.

PENDAHULUAN

Enzim selulase adalah komponen dari beberapa enzim yang bekerjasama untuk menghidrolisis selulosa dengan memutus ikatan β -1-4 glikosida menghasilkan oligosakarida turunan selulase yang akhirnya diubah menjadi monomer glukosa (American chemical society, 2012). Enzim selulase komersil biasa digunakan dalam industri minuman, buah-buahan dalam kaleng, permen, gula cair, biofuel, deterjen, kertas dan pulp (Kuhad at al., 2011). Namun harga enzim selulase komersil sangat mahal, untuk itu perlu diproduksi enzim selulase dengan menggunakan substrat yang murah dan mudah didapat, salah satunya adalah tongkol jagung.

Tongkol jagung merupakan bahan yang cukup potensial dimanfaatkan sebagai substrat sumber energi dalam memproduksi enzim selulase. Hal ini dapat dilihat pada kandungan nilai gizi dari tepung tongkol jagung untuk setiap kg-nya tersusun atas 391 g selulosa, 421 g hemiselulosa, 91 g lignin, dan 17 g (Oliveira at al., 2006). Namun demikian selulosa dan hemiselulosa pada tongkol jagung belum optimal kerjanya dalam menginduksi produksi enzim selulase, karena zat makanan pendukung pertumbuhan kapang seperti nitrogen, masih rendah. Subandi (2014) menyatakan bahwa senyawa-senyawa sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen utama dalam medium fermentasi, karena sel sel mikroba sebagian besar terdiri dari unsur karbon dan nitrogen. Selain itu nitrogen sangat diperlukan untuk pertumbuhan sel, sedangkan unsur karbon digunakan untuk biosintesis (Aunstrup, 1979).

Salah satu bahan yang dapat dijadikan sebagai sumber nitrogen dalam medium fermentasi karena kaya akan kandungan protein adalah blondo (hasil samping pembuatan VCO). Blondo dari VCO yang diperoleh dengan metode fisik mengandung protein 24.22%, lemak, 21.27%, serat 0.96% (Naik at al., 2012). Tingginya kandungan protein pada blondo, mengindikasikan bahwa blondo dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen dalam medium fermentasi. Berbagai mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim selulase antara lain : *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulan*, *Bacillus* sp., *Bacillus substilis*, *Clostridium* sp., *Streptomyces* sp. (Sukumaran at al., 2005).

Trichoderma harzianum merupakan kapang yang sangat penting sebagai perombak selulosa. Enzim selulase yang dihasilkannya mengandung semua komponen yang diperlukan untuk hidrolisis seluruh kristal selulosa dan menghasilkan protein selulase dalam kualitas sangat tinggi (Sari, 2012).

Agar proses fermentasi untuk produksi enzim oleh *Trichoderma harzianum* dapat berlangsung secara optimal, dibutuhkan komposisi substrat dan lama fermentasi yang tepat dalam medium fermentasi, sehingga produksi enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum* menggunakan tongkol jagung dan blondo sebagai substrat dapat ditingkatkan.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai efektivitas dan kombinasi terbaik antara komposisi substrat dan lama fermentasi oleh *Trichoderma harzianum* terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran tongkol jagung dan blondo.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor, masing-masing 3 taraf (3x3) dengan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu komposisi substrat campuran tepung tongkol jagung (TTJ) dan blondo (B) dengan perlakuan B1 (80% TTJ+ 20% B), B2 (70% TTJ+ 30% B) dan B3 (60% TTJ+40% B) sebagai faktor ke satu dan lama fermentasi (C) dengan perlakuan C1 (5 Hari), C2 (7 hari) dan C3 (9 hari) sebagai faktor ke dua.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah: gelas ukur, gelas piala, batang pengaduk, petridish, autoclave tipe 75X, oven UN 55 53L, spektrofotometer merk Amtast.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah tongkol jagung dari varietas jagung Bima-1 yang dipanen pada musim kemarau, diperoleh dari pabrik pemipilan jagung di Payakumbuh. Blondo, PDA, Aquades, dan isolat *Trichoderma harzianum*.

Prosedur penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu: tahapan persiapan dan tahapan pelaksanaan. Tahapan persiapan terdiri dari

persiapan substrat, peremajaan kapang *Trichoderma harzianum* dan persiapan inokulum, tahapan yang kedua yaitu tahapan pelaksanaan penelitian dan pengukuran aktivitas enzim selulase.

Tahap persiapan

Persiapan substrat

Tongkol jagung yang diperoleh dari pabrik pemipilan jagung dibersihkan, dihancurkan dan diayak dengan menggunakan ayakan ukuran 25 mesh menghasilkan hancuran tongkol jagung. Kemudian hancuran tongkol jagung dijemur di bawah sinar matahari sampai mencapai kadar air 17%, selanjutnya diproses menjadi tepung dengan menggunakan ayakan ukuran 45 mesh. Blondo diperoleh dari tempat pembuatan VCO yang diolah melalui proses fermentasi.

Peremajaan Kapang *Trichoderma harzianum*

Pembuatan media PDA

PDA sebanyak 39 gram dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan aquades 1000 ml. Dipanaskan perlahan-lahan hingga mendidih sambil diaduk sampai warna bening, kemudian didinginkan, terbentuklah media PDA. Tujuh ml media PDA dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Selanjutnya disterilisasi dalam *autoclave* pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit. Tabung reaksi diletakkan miring dengan sudut kemiringan 10°, didiamkan selama 12 jam. Setelah itu diinokulasikan kapang *Trichoderma harzianum* kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 6 hari.

Persiapan inokulum Kapang *Trichoderma harzianum*

Beras ditimbang sebanyak 100 gr, kemudian ditambahkan air sebanyak 250 ml lalu diaduk, kemudian disterilisasi dalam *autoclave* pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 30 menit. Kapang disuspensikan ke dalam larutan mineral formula Brook (Brook et al., 1969 dalam Subandi, 2014). Sebanyak 6 ml suspensi kapang pada larutan mineral Brook per tabung dan ditambahkan 9 ml aquades, kemudian dicampur ke dalam medium persiapan inokulum lalu diaduk. Setelah itu kantong plastik ukuran plastik 1/2 kg tempat inokulum dilubangi sebanyak 15 lubang, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C selama 6 hari.

Pelaksanaan utama

Penelitian diawali dengan penimbangan komposisi substrat (faktor B) yang terdiri dari tepung tongkol jagung (TTJ) yang diayak menggunakan ayakan ukuran 45 mesh sebagai sumber karbon dan blondo (B) sebagai sumber nitrogen dengan perlakuan yaitu B1 (80% TTJ + 20% B), B2= (70% TTJ + 30% B), B3 = (60% TTJ + 40% B). Substrat dimasukkan ke dalam plastik yang telah dilubangi kemudian diinokulasi dengan inokulum kapang *Trichoderma harzianum* sebanyak 5% selanjutnya diinkubasi sesuai dengan variasi lama fermentasi (faktor C) yaitu C1 = 5 hari, C2 = 7 hari, C3 = 9 hari pada suhu 27°C. Setelah itu aktivitas enzim selulase diukur menggunakan metode Nelson (1944). Satu ml enzim dicampur dengan 1 ml reagen Nelson I dan Reagen Nelson II, kemudian dipanaskan selama 20 menit sampai terbentuk warna biru, setelah itu didinginkan. Dimasukkan 1 ml Asam fosfomolibdat, dikocok sampai homogen kemudian ditambahkan aquades sebanyak 17 ml. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Untuk menentukan konsentrasi gula pereduksi yang dibebaskan, maka nilai absorbansi hasil ukur spektrofotometer dikonversikan dengan kurva standar glukosa pada konsentrasi (mg/ml) : 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh komposisi substrat (tepung tongkol jagung dan blondo) terhadap aktivitas enzim selulase

Pengaruh komposisi substrat terhadap aktivitas enzim selulase berdasarkan hasil statistik sidik ragam didapat bahwa perlakuan komposisi substrat 70% tongkol jagung dan 30% blondo menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan B1 dan B3. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi substrat perbandingan 70% tepung tongkol jagung sebagai sumber karbon dan 30% blondo sebagai sumber nitrogen merupakan komposisi terbaik untuk memproduksi enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum*. Tryana (2008) menyatakan bahwa dalam medium fermentasi keberadaan unsur karbon dan nitrogen sangat diperlukan untuk pertumbuhan

dan metabolisme sel, kandungan unsur karbon dan nitrogen yang tepat akan mendukung pertumbuhan mikroba dalam memproduksi enzim, namun kekurangan dari salah satu unsur tersebut dapat mengganggu pertumbuhan mikroba yang akhirnya berpengaruh terhadap aktivitas.

2. Pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase

Pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase berdasarkan hasil statistik sidik ragam didapat bahwa lama fermentasi 7 hari menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada lama fermentasi 7 hari merupakan waktu optimum untuk memproduksi enzim selulase. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian oleh Pujiati et al. (2014) bahwa aktivitas *crude* enzim selulase yang diproduksi oleh Kapang *Trichoderma* sp. menggunakan jerami padi sebagai substrat, optimum pada masa inkubasi 7 hari dengan dosis inokulum 20%. Bertambahnya waktu fermentasi mengakibatkan meningkatnya konsentrasi protein menjadi tinggi, hal ini disebabkan pada waktu tersebut pertumbuhan mikroba telah mencapai maksimal, meningkatnya kadar protein menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase juga meningkat (Sa'adah dan Ika, 2013).

3. Pengaruh interaksi komposisi substrat (tongkol jagung dan blondo) dengan lama fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase

Interaksi antara komposisi substrat dan lama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 1. Aktivitas enzim selulase meningkat pada perlakuan komposisi substrat 70% tongkol jagung dan 30% blondo dengan lama fermentasi 7 hari. Perlakuan tersebut berbeda nyata ($P < 0.05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke tujuh kapang memasuki fase eksponensial. Pada fase ini kapang tumbuh dengan cepat dan memproduksi enzim dalam jumlah yang sangat besar. Subandi (2014) menyatakan bahwa pada fase pertumbuhan eksponensial mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik dan memproduksi enzim dalam jumlah yang banyak. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh kondisi medium tempat tumbuh dan ketersediaan nutrisi. Selain itu perbandingan 70% tongkol jagung sebagai sumber karbon dan 30% blondo sebagai sumber nitrogen merupakan perbandingan yang terbaik untuk menginduksi enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum*, sehingga kapang dapat mensintesis enzim dalam jumlah banyak dan aktivitas enzim yang dihasilkan tinggi. Menurut Aunstrup (1997) dalam Naiola dan Widhyastuti (2002), perbandingan unsur karbon dan nitrogen yang sesuai dalam media produksi enzim akan menghasilkan sel serta produk yang maksimal. Sumber nitrogen dibutuhkan untuk pertumbuhan sel sedangkan unsur karbon digunakan untuk meningkatkan energi biosintesis mikroorganisme.

Tabel 1. Rataan aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma harzianum* dengan komposisi substrat dan lama fermentasi yang berbeda (unit/ ml)

Komposisi substrat(%)	Lama Fermentasi (Hari)			Rataan
	C1 (5)	C2 (7)	C3 (9)	
B1 (80%TTJ+20%B)	4.90 ^{Ab}	3.76 ^{Cc}	4.59 ^{Bb}	4.42
B2 (70%TTJ+30%B)	5.99 ^{Ca}	7.99 ^{Aa}	6.93 ^{Ba}	6.97
B3 (60%TTJ+40%B)	5.06 ^{Ab}	4.83 ^{Ab}	4.28 ^{Bb}	4.72
Rataan	5.32	5.53	5.27	

Keterangan : Nilai dengan superskrip yang berbeda pada kolom (a, b, c) dan baris (A,B, C) menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Penurunan aktivitas enzim selulase yang signifikan terjadi pada perlakuan komposisi substrat campuran dari 80% tongkol jagung dan 20% blondo dengan lama fermentasi 7 hari, perlakuan ini berbeda nyata ($P < 0.05$) lebih rendah, dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan blondo sebanyak 20% sebagai sumber nitrogen tidak dapat meningkatkan aktivitas enzim. Hal ini disebabkan kapang kekurangan nitrogen dalam medium fermentasi, dimana unsur ini dibutuhkan untuk pertumbuhan dan produksi enzim. Sesuai dengan yang dipaparkan oleh Subandi (2014) menyatakan bahwa kekurangan atau ketiadaan salah satu komponen utama yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam medium fermentasi, dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi enzim.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Komposisi substrat campuran tepung tongkol jagung dan blondo berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma harzianum*
2. Lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum*
3. Terdapat interaksi antara komposisi substrat (tongkol jagung dan blondo) dan lama fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma harzianum*.
4. Komposisi substrat dan lama fermentasi terbaik untuk memproduksi enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum* adalah komposisi substrat

70% tepung tongkol jagung dan 30% blondo dan lama fermentasi 7 hari dengan aktivitas enzim selulase tertinggi 7.99 unit/ ml.

DAFTAR PUSTAKA

American Chemical Society. (2012). History of the division: Cellulose, paper and textile. *ACS-Cellulose and Renewable Material Division*. Revisi: 12 Maret.

Aunstrup, K. (1979). Production, isolation and economics of extracellular enzyme.

Appl. Biochemistry and Bio Eng. (pp 27-69). Academic Press.

Kuhad, RC., Gupta, R. and Singh, A. (2011). Microbial cellulases from their industrial applications. *Review Article of Enzyme Research*, 2011.

Naik, A., Raghavendra, SN. and Raghavareo, KSMS. (2012). Production of coconut protein powder from coconut wet processing waste and its characterization. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 167(5): 1290-1302.

Naiola, E. dan Widhyastuti, N. (2002). Isolasi, seleksi, dan optimasi protease dari beberapa isolat bakteri. *Berita Biologi*. 3(6): 467-473.

Nelson, NA. (1944). Photometric adaptation of the somogy method for determination of glucose. *J. Biol. Chem*, 153: 375-380.

Oliveira, LA., Porto, ALF. and Tambourgi, EB. (2006). Production of xylanase and protease by *Penicillium janthinellum* CRC 87M-115 from different agriculture waste. *Bioresource Technology*, 97(6): 862-867.

Pujiati, R., Kiswardianta, B. dan Wahyuni, S. (2014). Pengaruh konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap aktivitas crude enzim selulase dari kapang *Trichoderma* Sp. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. ISBN:978-602-0951-03-4.

Sa'adah, Z. dan Ika, S. (2013). Produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* menggunakan substrat jerami dengan sistem fermentasi padat. [Disertasi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Sari, AW. (2012). Jamur penghasil enzim. (Online). (<http://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/viewFile/163/534>).

Subandi, M. (2014). Mikrobiologi, kajian dalam perspektif Islam. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.

Sukumaran, RK., Singhanian, RR. and Pandey, A. (2005). Microbial cellulases

production, application, and challenges.

Jurnal on Scientific & Industrial Research. 65: 832-844.

Tryana, ST. (2008). Dasar-dasar mikrobiologi. Malang: Djambatan.