

**OPTIMASI KONSENTRASI SUBSTRAT KULIT SINGKONG  
(*Manihot esculenta* CRANTZ.) DAN LAMA FERMENTASI  
TERHADAP AKTIVITAS *FILTER PAPERASE*  
DARI KAPANG *Trichoderma viride* FNCC 6013**

I Gst. Ayu Ananda Dama Sastri<sup>1</sup>, A.A.Md.Dewi Anggreni<sup>2</sup>, G.P. Ganda Putra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Industri Pertanian Unud

E-mail: ayu.nanda2207@yahoo.com<sup>1</sup>

E-mail koresponden: dewianggreni@unud.ac.id<sup>2</sup>

**ABSTRACT**

The aims of this study was to determine the optimum substrate concentration of cassava peel and fermentation time on crude cellulase activity from *Trichoderma viride* FNCC 6013. Optimization on crude cellulase activity from *Trichoderma viride* were calculated using the response surface method. Central Composite Design was used to study the effect of optimum substrate concentration of cassava peel and fermentation time on maximum crude cellulase activity (*filter paperase*). The results showed that 3.14% substrate concentration of cassava peel and 7.26 days fermentation produces maximum crude cellulase activity (*filter paperase*), amounting to 0.099 Units/mL.

**Keywords:** substrate concentration, cassava peel, fermentation time, crude cellulases, *Trichoderma viride*

**PENDAHULUAN**

Singkong digunakan sebagai makanan pokok selain padi dan sagu. Umbi singkong biasanya juga dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Bagian singkong yang tidak dapat dimakan masih memiliki manfaat lain, misalnya sebagai bahan baku pembuatan enzim selulase. Dari 1 kg singkong akan menghasilkan 15 - 20% atau sekitar 150 – 200 gram limbah kulit singkong (Muhiddin, dkk., 2001). Komponen lignoselulosa dalam limbah kulit singkong sebelum dilakukan delignifikasi adalah selulosa 43,63%, amilum 36,58%, hemiselulosa 10,38%, lignin 7,65%, dan komponen lainnya sebesar 1,76%. Setelah dilakukan delignifikasi dengan NaOH 10% selama 5 jam diketahui bahwa kadar lignin menurun menjadi 2,04%. Kadar selulosa 31,76%, amilum 24,08%, hemiselulosa 5,42%, glukosa 4,28%, dan komponen lainnya sebesar 26,78% (Artiyani, 2011).

Enzim selulase adalah enzim yang dapat menghidrolisis selulosa. Enzim selulase dapat dimanfaatkan dalam industri tekstil, deterjen, farmasi, maupun dalam pembuatan zat-zat kimia lain. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Diantara beberapa jenis kapang dan bakteri yang bisa menghasilkan selulase,

yang potensial untuk dikembangkan dalam pembuatan enzim selulase salah satunya adalah kapang *Trichoderma viride* (Arnata, 2009).

*Trichoderma viride* adalah kapang berfilamen yang sangat dikenal sebagai organisme selulolitik dan menghasilkan enzim-enzim selulolitik, termasuk enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase (Deacon, 1997 dalam Gunam, *et al.*, 2011). Kelebihan dari *Trichoderma viride* selain menghasilkan enzim selulolitik yang lengkap, juga menghasilkan enzim xyloglukanolitik (Tribak *et al.*, 2002 dalam Gunam, *et al.*, 2011). Keberadaan enzim ini akan semakin mempermudah enzim selulolitik dalam memecah selulosa.

Menurut Gunam, *et al* (2010), konsentrasi substrat jerami padi 2% dengan perlakuan delignifikasi NaOH 6% akan menghasilkan aktivitas selulase yang optimal dengan lama fermentasi 9 hari dari kapang *Aspergillus niger*. Menurut Gunam, *et al* (2011), perlakuan konsentrasi substrat ampas tebu yang digunakan adalah 1, 2, dan 3%, dengan lama fermentasi 5, 7, dan 9 hari, diperoleh hasil kombinasi perlakuan terbaik untuk produksi enzim selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* adalah pada konsentrasi substrat 3% dengan lama fermentasi 7 hari. Xiong, *et al* (2013) melaporkan bahwa pada konsentrasi dedak 1% menghasilkan aktivitas enzim terbaik dari *Trichoderma reesei*. Gautam, *et al* (2010) menyatakan bahwa pada perlakuan konsentrasi substrat limbah pertanian 1 – 6% menghasilkan aktivitas enzim selulase terbaik pada konsentrasi substrat 5% dengan lama fermentasi 7 hari.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi substrat kulit singkong dan lama fermentasi yang optimum untuk menghasilkan aktivitas enzim selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* FNCC 6013 yang maksimum.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian, dan Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana pada bulan Maret sampai Juli 2014.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian, yaitu timbangan analitik (Shimadzu), timbangan (Fuji), pisau *stainlesssteel*, kantong plastik, alat pengaduk, blender (Sharp), ayakan 80 mesh, *incubator* (Memmert), *autoclave* (Tomy Model ES-215), oven (Cole Parmer), loyang, *freezer* (Sanyo), lemari pendingin (Sanyo), laminar flow, lampu bunsen, *rotary shaker*, *waterbath*, pH meter, *magnetic stirrer*, *centrifuge* (K3 Series), vortex

(Thermolyne Maxi Mix II), spektrofotometer (Genesys 10S UV-Vis), pipet mikro (Socorex), dan alat-alat gelas.

Bahan baku berupa limbah kulit singkong diambildari industri pengolahan kripik singkong di Kerambitan, Tabanan, Bali. Strain mikroba yang digunakan adalah kapang *Trichoderma viride* FNCC 6013. Strain tersebut diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Media untuk pemeliharaan dan peremajaan kultur digunakan media *Potato Dectrose Agar* (PDA).

Bahan kimia yang digunakan, yaitu NaOH, akuades, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, urea (Merck), glukosa, *Trichloro Acetic Acid* (TCA), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, KI, dietileter (Merck), NaK-Tartrat, *Dinitrosalicylic Acid* (DNS), danbuffer sitrat.

**Rancangan Percobaan**

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan *Central Composite Design* pada metode permukaan respon. Metode permukaan respon digunakan untuk menganalisis dan melihat pengaruh perlakuan konsentrasi substrat kulit singkong dan lama fermentasi terhadap produksi enzim selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* FNCC 6013. Bentuk dan kode perlakuan dengan sistem pengkodean metode permukaan respon dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Perlakuan dan Kode Perlakuan

Perlakuan	Kode perlakuan				
	-1,414	-1	0	1	1,414
Konsentrasi substrat (%)	0,172	1	3	5	5,828
Lama fermentasi (hari)	4,172	5	7	9	9,828

Sumber : (Sudjana, 1989)

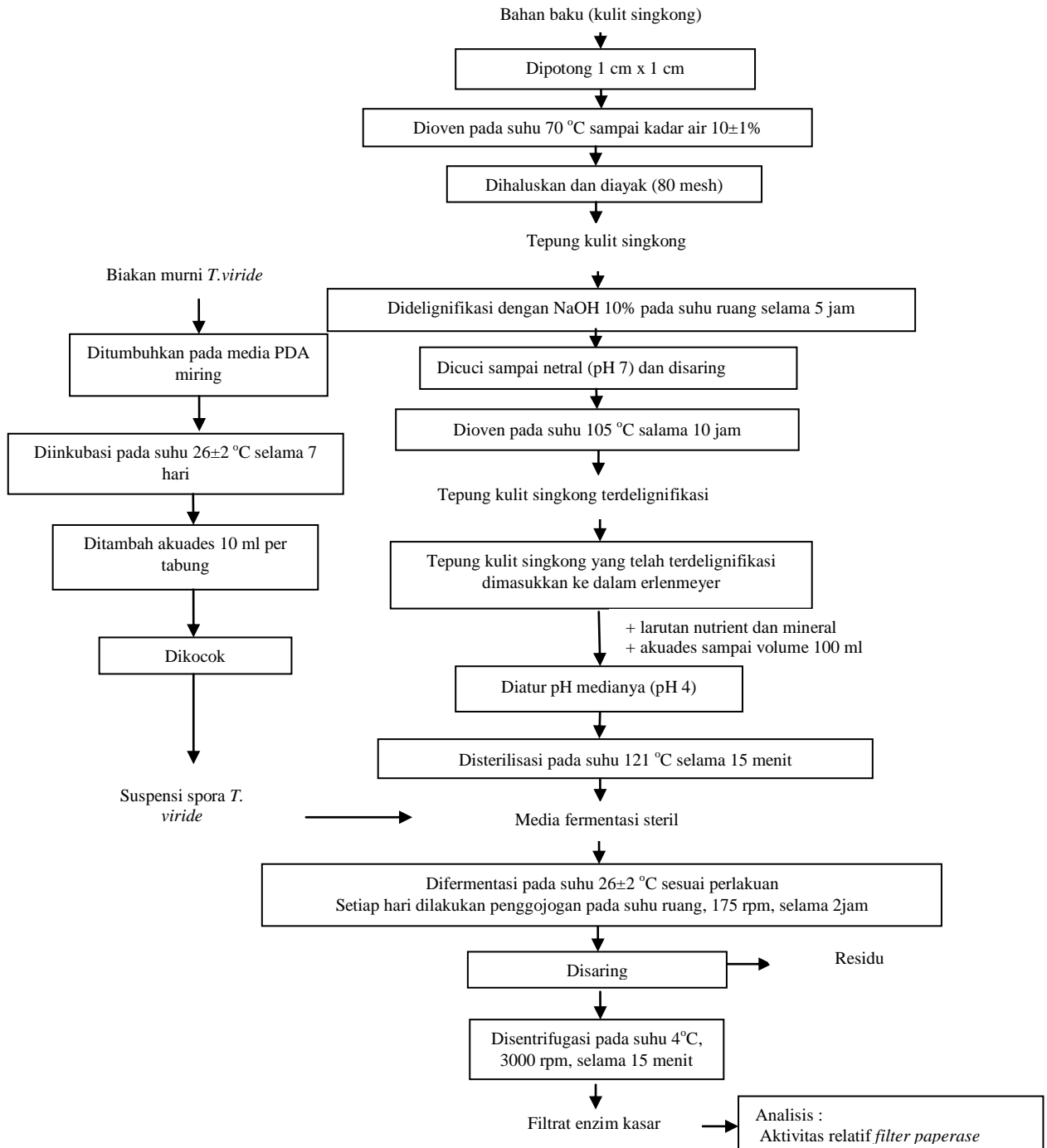
Tabel 2. Rancangan Percobaan dengan Sistem Pengkodean

No	Kode Konsentrasi substrat	Kode Lama fermentasi	Konsentrasi substrat (%)	Lama fermentasi (hari)
1	-1	-1	1	5
2	1	-1	5	5
3	-1	1	1	9
4	1	1	5	9
5	-1,414	0	0,172	7
6	1,414	0	5,828	7
7	0	-1,414	3	4,172
8	0	1,414	3	9,828
9	0	0	3	7
10	0	0	3	7
11	0	0	3	7
12	0	0	3	7

Sumber : (Sudjana, 1989)

Model yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan kondisi optimum konsentrasi substrat kulit singkong dan lama fermentasi terhadap respon aktivitas enzim selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* FNCC 6013. Setelah diperoleh model optimasi, maka akan dilakukan validasi model. Data yang diperoleh dianalisis dan untuk memperoleh bentuk permukaan respon menggunakan *software* Statistica 10.

**Pelaksanaan Percobaan**



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian Produksi Enzim Selulase dari Kulit Singkong (Hardjo et al., 1989 yang telah dimodifikasi dalam Guna, 1998)

**Variabel yang Diamati**

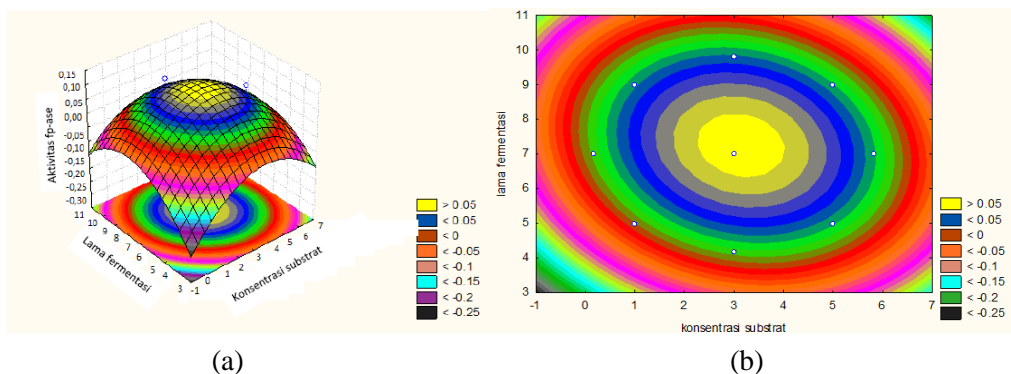
Dalam penelitian ini variabel yang diamati adalah pengujian aktivitas selulase (*filter paperase*) (Darwis dan Sukara, 1990).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Aktivitas Relatif *Filter paperase***

Hasil regresi untuk aktivitas relatif *filter paperase* pada konsentrasi substrat dan lama fermentasi, menunjukkan model persamaan regresi aktivitas relatif *filter paperase* sebagai berikut :  $Z = -0,4988 + 0,0756 X - 0,0092 X^2 + 0,1315 Y - 0,0085 Y^2 - 0,0024 XY$ , dengan koefisien determinasi ( $r^2$ ) = 0,8992, yang diartikan bahwa konsentrasi substrat dan lama fermentasi memiliki pengaruh sebesar 89,92% terhadap aktivitas relatif *filter paperase* dan sisanya dengan nilai 10,08% dipengaruhi oleh faktor lain, seperti suhu dan pH. Berdasarkan persamaan tersebut, maka diperoleh kondisi optimal konsentrasi substrat 3,14% dan lama fermentasi 7,26 hari yang menghasilkan aktivitas relatif *filter paperase* maksimal, yaitu sebesar 0,099 Unit/ml filtrat. Hal ini hampir sama dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa kondisi optimum untuk menghasilkan aktivitas relatif *filter paperase* sebesar 0,771 Unit/ml filtrat pada konsentrasi substrat ampas tebu 3% dan lama fermentasi 7 hari (Gunam *et al.*, 2011).

Grafik permukaan respon dan *counter plot* aktivitas relatif *filter paperase* dapat dilihat pada Gambar 2a dan Gambar 2b. Perubahan warna yang terdapat pada grafik permukaan respon dan *counter plot* menunjukkan adanya perbedaan aktivitas relatif *filter paperase* dengan kombinasi konsentrasi substrat dan lama fermentasi yang berbeda. Warna kuning pada grafik permukaan respon dan *counter plot* menunjukkan aktivitas relatif *filter paperase* lebih dari 0,05 Unit/ml filtrat.



Gambar 2. Grafik permukaan respon (a) dan counter plot (b) aktivitas relatif *filter paperase*

Aktivitas relatif *filter paperase* pada konsentrasi dan lama fermentasi mula-mula terlihat meningkat dan mencapai kondisi optimum pada konsentrasi substrat kulit singkong 3,14% dan lama fermentasi 7,26 hari, kemudian akan terjadi penurunan aktivitas relatif *filter paperase*. Pada konsentrasi substrat rendah, aktivitas ekstrak kasar enzim juga rendah, karena sisi aktif enzim hanya sedikit mengikat substrat, sehingga produk gula pereduksi yang dihasilkan juga sedikit. Demikian juga dengan konsentrasi substrat yang makin tinggi, maka sisi aktif enzim akan makin banyak mengikat substrat, sehingga produk glukosa yang dihasilkan juga makin banyak. Penambahan substrat lebih lanjut hanya sedikit meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim, karena hampir semua enzim telah membentuk kompleks enzim-substrat, sehingga tidak terdapat lagi sisi aktif enzim yang bebas. Interaksi antara enzim dengan substrat yang semakin lama menyebabkan semakin banyak glukosa yang terbentuk. Akan tetapi pada waktu hidrolisis tertentu konsentrasi glukosa akan mengalami penurunan. Penurunan ini disebabkan oleh adanya akumulasi produk yang telah terbentuk sebelumnya dan menyebabkan penghambatan bagi enzim selulase. Inhibitor enzim selulase berupa produk dari hidrolisis selulosa, yaitu glukosa dan selobiosa. Selobiosa menghambat enzim eksoglukanase sedangkan glukosa menghambat enzim  $\beta$ -glukosidase (Ambriyanto, 2010).

### **Validasi Model**

Respon aktivitas relatif *filter paperase* secara aktual didapatkan dari pengukuran aktivitas relatif *filter paperase* pada saat perlakuan kombinasi konsentrasi substrat dan lama fermentasi yang berbeda, sedangkan respon aktivitas relatif *filter paperase* model didapatkan dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari metode respon permukaan (Tabel 3). Untuk melihat adanya perbedaan antara aktivitas relatif *filter paperase* secara aktual dengan model yang optimum, maka dilakukanlah uji t-test.

Tabel 3. Perbandingan aktivitas relatif *filter paperase* aktual dan model

Konsentrasi substrat (%)	Lama fermentasi (hari)	Respon Aktivitas Relatif <i>Filter paperase</i> (Unit/mlfiltrat)	
		Aktual	Model
1	5	0,006±0,001	0,001
5	5	0,023±0,002	0,034
1	9	0,029±0,002	0,041
5	9	0,007±0,001	0,036
0,172	7	0,012±0,001	0,015
5,828	7	0,052±0,002	0,035
3	4,172	0,013±0,001	0,016
3	9,828	0,062±0,001	0,046
3	7	0,098±0,004	0,099
3	7	0,097±0,002	0,099
3	7	0,099±0,002	0,099
3	7	0,092±0,002	0,099

Keterangan : Pengujian konsentrasi substrat dan lama fermentasi dilakukan dengan 2 kali ulangan ( $\pm$  : standar deviasi)

Berdasarkan dari hasil analisa yang dilakukan, maka diperoleh nilai t-test sebesar 0,52 dengan nilai  $P > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa, tidak ada perbedaan yang nyata antara aktivitas relatif *filter paperase* secara aktual dengan aktivitas relatif *filter paperase* yang dihasilkan dari persamaan model optimum.

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### Kesimpulan

Hasil analisis optimasi konsentrasi substrat kulit singkong dan lama fermentasi terhadap aktivitas relatif *filter paperase* dengan menggunakan regresi polinomial menghasilkan persamaan  $Z = -0,4988 + 0,0756 X - 0,0092 X^2 + 0,1315 Y - 0,0085 Y^2 - 0,0024 XY$  ( $r^2 = 0,8992$ ), dan memperoleh aktivitas relatif *filter paperase* maksimal sebesar 0,099 Unit/ml filtrat pada konsentrasi substrat kulit singkong sebesar 3,14% dan lama fermentasi 7,26 hari.

#### Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan *incubator shaker* agar proses fermentasi dapat dimaksimalkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambriyanto, K. S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum schaum*). Institut Teknologi Sepuluh Nopember (Skripsi).
- Arnata, I W. 2009. Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis Master, IPB, Bogor.
- Artiyani, A. 2011. Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisis dan Fermentasi dengan *Saccharomyces Cerevisiae*. Tesis Master, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Darwis, A.A, dan E. Sukara. 1990. Isolasi, Purifikasi dan Karakteristik Enzim. PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Gautam, S.P., Bundela P.S., Pandey A.K., Jamaluddin, Awasthi M.K., and Sarsaiya S. 2010. Optimization of the Medium for the Production of Cellulase by the *Trichoderma viride* using Submerged Fermentation. International Journal of Environmental Science. Volume 1, No 4. ISSN 0976-4402.
- Guna, I M.Y.S., 1998. Mempelajari pengaruh perlakuan delignifikasi dan konsentrasi substrat jerami padi terhadap produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger*. Skripsi S1, PS. Teknologi Pertanian, UNUD.
- Gunam, I.B.W., K. Buda, dan I.M.Y.S. Guna. 2010. Pengaruh Perlakuan Delignifikasi Dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger* NRRL A-II, 264. Jurnal Biologi XIV (1) : 55 – 61. ISSN : 1410 5292. Universitas Udayana.
- Gunam, I.B.W., W.R. Aryanta., dan I.B.N.S.Darma. 2011. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma Viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi. Jurnal Biologi XV (2) : 29 – 33. ISSN : 1410 5292. Universitas Udayana.
- Hardjo, S., N.S. Indrasti, dan B. Tajuddin. 1989. Biokonveksi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Bogor : Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Muhiddin, N.H., N.Juli., dan IN.P.Aryantha. 2001. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. JMS Vol. 6 No. 1, hal. 1 – 12 April 2001. ITB, Bandung.
- Sudjana. 1989. Desain dan Analisis Eksperimen. Tarsito. Bandung.
- Xiong, L., Chao H., Wan-feng P., Lv-rong T., Xiao-yan Y., Xue-fang C., Xin-de C., Long-long M., and Yong C. 2013. Efficient cellulase Production from Low-cost Substrates by *Trichoderma reesei* and its Application on the Enzymatic Hydrolysis of Corn cob. African Journal of Microbiology Research. Vol 7, pp 5018-5024. ISSN 1996-0808.