

## Penerapan Kultur Campuran *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dalam Meningkatkan Kualitas *Putak* sebagai Pakan

(APPLIED MIXED-CULTURED ASPERGILLUS NIGER AND TRICHODERMA REESEI TO INCREASE PUTAK QUALITY AS FEED)

Maritje Aleonor Hilakore<sup>1</sup>, Suryahadi<sup>2</sup>,  
Komang Wiryawan<sup>2</sup> Djumali Mangunwijaya<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kimia Pakan,  
Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana,  
Jln. Adi Sucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 85111  
Telp. 0380-881465. Email: hukimaku@yahoo.com  
<sup>2</sup>Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan,  
Fakultas Paternakan, Institut Pertanian Bogor  
<sup>3</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

### ABSTRAK

Putak merupakan jenis pakan lokal di pulau Timor Nusa Tenggara Timur yang diperoleh dari empulur batang pohon gebang (*Corypha gebanga*). Putak digunakan sebagai pakan sumber karbohidrat karena kandungan pati yang tinggi dan protein rendah. Sebagai upaya meningkatkan kandungan protein putak maka telah dilakukan penelitian *in vitro* dengan menggunakan kultur campuran kapang *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 12 perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari kombinasi kultur *T. reesei* yakni T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> dan T<sub>3</sub> masing-masing untuk level kultur 5,0; 7,5; dan 10,0% (b/b) dan A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, dan A<sub>4</sub> masing-masing untuk level kultur 0,5; 1,0; 1,5; dan 2,0 % (b/b). Proses fermentasi campuran dilaksanakan dengan cara: kapang *T. reesei* sesuai level perlakuan dicampur putak dan diinkubasi 2 x 24 jam, selanjutnya dicampur lagi dengan kultur *A. niger* sesuai dosis perlakuan, dan diinkubasi lagi selama 2 x 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan kandungan protein kasar dan murni terbaik dari putak adalah pada kombinasi level *T. reesei* 7,5% dan *A. niger* 1,5% memberikan kualitas terbaik terhadap kandungan protein kasar 23,62%, terlarut 14,92%, serta kadar serat kasar 10,17%.

Kata-kata kunci: kultur campuran; *Trichoderma reesei*; *Aspergillus niger* kualitas putak; *Corypha gebanga*

### ABSTRACT

*Putak* is a local feed in west Timor, East Nusa Tenggara Province. It is obtained from soft core of palm tree which is called gebang tree (*Corypha gebanga*). *Putak* contains high carbohydrate and fiber but low in protein. As an effort to increase the protein level in *putak* a research was conducted by fermenting it with mixed-cultured of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*. A laboratory experimental method was used and arranged factorially in Completely Randomized Design 3 x 4 x 3 namely three inoculant levels of *T. reesei* (T): 5,0; 7,5 and 10,0 % (w/w), and four levels of *A. niger* (A) 0,5; 1,0; 1,5 and 2,0% (w/w). Mixed-cultured was done by: first, *T. reesei* as treatment mix with *putak* and incubation for two days, after that mix with *A. niger*, incubation for two days. The best result of this study was on combination of *T. reesei* 7.5% level and 1,5% of *A. niger* were crude protein (23.62%) and soluble protein (14.92%) was highest and fiber 10,17%.

Key words: *Corypha gebanga*; *gewang*; *putak*; *T. reesei*, *A. niger*

## PENDAHULUAN

Musim kering panjang yang umum terjadi di Provinsi Nusa Tenggara Timur khususnya Pulau Timor diketahui menyebabkan rendahnya produktivitas ternak ruminansia di daerah ini. Laporan Bamualim *et al.* (1993) menunjukkan produktivitas ternak yang rendah sebagai akibat rendahnya kualitas pakan dan asupan nutrisi serta minimnya ketersediaan pakan. Angka mortalitas pedet sapi bali menurut Jelantik *et al.* (2008) di Kabupaten Kupang adalah 60-80%, yang disebabkan penyakit (53,7%); kekurangan air susu induk (44,4%) dan kecelakaan (1,85%). Selanjutnya dilaporkan lagi bahwa pemberian 2% suplemen pakan yang mengandung 18,6% protein kasar selama musim kemarau kepada pedet dan induk ternyata mampu mengurangi angka kematian pedet, dan angka kematian hingga 0% dan pada induk meningkatkan jumlah air susu (Jelantik *et al.*, 2008, Jermias *et al.* 2008; Jelantik *et al.* 2010)

Optimalisasi penggunaan sumber pakan inkonvensional yang tersedia secara lokalita merupakan solusi kendala tersebut. Salah satu pakan lokal sumber karbohidrat serta cukup dikenal masyarakat P.Timor adalah *Putak* yang diperoleh dari empulur batang pohon gawang (*Corypha gebanga*). Sebagai pakan, putak sangat potensial karena ketersediaannya cukup banyak serta tidak bersaing dengan manusia karena tidak digunakan sebagai pangan.

Teknologi pengolahan secara biologi sangat lazim dilakukan pada bahan pangan, seperti tempe. Penggunaan kultur tunggal *Saccharomyces cereviceae* telah dilaporkan oleh Ginting (2000) untuk pengolahan putak sebagai pakan ternak babi ternyata mampu meningkatkan kadar protein kasar (Prk) putak dari 2,53 menjadi 8,92%. selanjutnya Hilakore *et al.* (2011) melaporkan hasil fermentasi putak dengan kultur *Aspergillus niger* terjadi peningkatan kadar protein kasar (14,17 vs 19,81%) dan terlarut (3,25 vs 12,53%) dengan lama fermentasi tiga hari. Perlakuan fermentasi putak dengan *Trichoderma reesei* (Hilakore *et al.*, 2013) terjadi peningkatan kandungan protein kasar dan terlarut berturut-turut adalah 14,17 vs 20,60 dan 3,25 vs 13,25%. Menurut Hesseltine (1991), fermentasi biakan campuran dapat memberikan hasil yang lebih menguntungkan dibanding biakan tunggal

karena komponen metabolit yang dihasilkan masing-masing mikroba dalam substrat yang sama akan saling menunjang dan melengkapi kebutuhan lingkungan yang baik bagi pertumbuhan mikroba-mikroba tersebut.

*Trichoderma reesei* merupakan salah satu jenis kapang yang banyak diteliti terutama karena kemampuannya menghasilkan enzim selulase seperti *endoglukanase* dan *sellobiohidrolase* tetapi sedikit memproduksi *selobiase* (Panda *et al.*, 1989; Juhasz *et al.*, 2003; Pakula *et al.* 2000; Pakula *et al.*, 2003; Pakula *et al.*, 2005). *Aspergillus niger* memiliki kemampuan lebih, dalam menghasilkan enzim *selobiase* atau *α-glukosidase* dibanding *T.reesei* (Panda *et al.*, 1989, Saha 1991) di samping itu kapang ini juga menghasilkan banyak macam enzim ekstraseluler, seperti β-amilase, glukamilase, α- dan β- glukosidase serta selulase (Saha 1991), oleh karena itu sering digunakan dalam pengolahan pangan untuk pengkayaan protein dari bahan berpati (Moo-Young 1983).

Penelitian ini bertujuan meningkatkan kualitas nutrisi putak terutama kadar protein, agar penggunaannya sebagai pakan menjadi lebih optimal.

## METODE PENELITIAN

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Biotek, Politeknik Peranian Negeri Kupang bertujuan mengkaji kemampuan *T. reesei* dan *A. niger* bersama dalam kultur campuran untuk meningkatkan kualitas nutrisi putak. Percobaan ini merupakan lanjutan dari percobaan sebelumnya menggunakan kultur tunggal *T. reesei* dan *A. niger*. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 12 perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari level kultur *T. reesei* ( $T_1$ ,  $T_2$  dan  $T_3$ ) masing-masing: 5,0; 7,5; dan 10,0% (b/b) dan level kultur *A. niger* ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ , dan  $A_4$ ) masing-masing: 0,5; 1,0; 1,5; dan 2,0% (b/b).

Proses fermentasi campuran dilaksanakan dengan cara: Kapang *T. reesei* sesuai level perlakuan dicampur putak dan diinkubasi selama 2 x 24 jam, selanjutnya dicampur dengan kultur *A. niger* sesuai perlakuan, dan diinkubasi lagi selama 2 x 24 jam. Metode ini berdasar pada hasil percobaan sebelumnya untuk menentukan waktu penyatuan terbaik kedua kapang dalam kultur campuran.

Putak dicacah kecil-kecil ukuran kurang lebih  $\pm 1 \times 0,5$  cm kemudian dijemur matahari selama 2-3 hari. Putak kering sebanyak 100 g direndam dalam air selama 30 menit, ditiriskan dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Mineral  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan Urea dicampur dengan air menjadi 100 mL selanjutnya ditambahkan kedalam putak kemudian dikukus selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan bubuk kultur sesuai tuntutan percobaan, dan diinkubasi pada suhu kamar. Selanjutnya dikeringkan untuk proses analisis laboratorium peubah percobaan yakni analisis Proksimat untuk kadar serat kasar (SK), protein kasar (PK), dan protein terlarut (PTI).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Protein Kasar (PK) dan Terlarut (PTI)

Pada Tabel 1. disajikan rata-rata komposisi nutrisi putak hasil fermentasi kultur campuran *T. reesei* dan *A. niger*. Peningkatan kadar protein substrat dengan kombinasi level kultur rendah ( $T_1A_1$  atau  $T_1A_2$ ) terlihat cukup kecil perubahannya yakni berkisar antara 18,61-18,81% dan 10,02-11,79% masing-masing untuk kadar PK dan PTI. Hal ini menunjukkan kombinasi level kultur rendah membutuhkan waktu inkubasi yang lebih panjang akibat masa adaptasi (fase lag) yang juga lebih panjang,

sebagaimana dinyatakan Fardiaz (1988) bahwa semakin tinggi jumlah awal sel, dapat mempercepat masa adaptasi. Sebaliknya dengan kombinasi kultur tinggi ( $T_2$  dan  $T_3$  dengan  $A_3$  atau  $A_4$ ) peningkatan kadar kedua unsur nutrisi di atas lebih baik yakni berkisar antara 22,71-23,62% dan 13,39-14,92% masing-masing untuk PK dan PTI. Kombinasi kultur yang lebih tinggi ( $T_3A_4$ ) dapat memengaruhi pertumbuhan kapang akibat ketidakseimbangan antara faktor nutrisi dan jumlah sel dalam medium. Efek sinergisme antar kultur juga mungkin kurang bermanfaat karena kepadatan kultur yang tinggi dan tidak diimbangi ketersediaan nutrisi sehingga terjadi persaingan dalam memanfaatkan sumber nutrisi yang tersedia, akibatnya pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa, pada fermentasi campuran, kombinasi jumlah kultur yang sesuai menyebabkan penggunaan substrat menjadi produk lebih efisien.

Kapang *A. niger* tergolong kapang yang cepat tumbuh dan mudah beradaptasi, sebaliknya *T. reesei* lebih lambat, dengan demikian inokulasi *T. reesei* dua hari mendahului *A. niger* (perlakuan  $D_2$ ) tidak mempengaruhi laju pertumbuhan masing-masing kapang tetapi menunjukkan adanya sinergi metabolik antar spesies dalam memanfaatkan komponen substrat dan hasil metabolit untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya sesuai

Tabel 1. Komposisi nutrient putak hasil fermentasi campuran *T. reesei* dan *A. niger* dengan lama penundaan pencampuran dua hari ( $D_2$ ).

Level Kultur % (b/b)		Komposisi Nutrien (% BK)		
<i>A. niger</i> ( $2,4 \times 10^7$ cfu/g)	<i>T. reesei</i> ( $1,98 \times 10^5$ cfu/g)	Protein Kasar Crude protein	Protein terlarut Soluble protein	Serat Kasar Crude fiber
0,5	5,0	18,60 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	11,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	9,19 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
	7,5	18,01 $\pm$ 2,61 <sup>a</sup>	13,01 <sup>b</sup> $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>	9,54 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
	10,0	19,20 $\pm$ 0,32 <sup>b</sup>	11,94 <sup>a</sup> $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>	10,26 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
1,0	5,0	18,81 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	10,02 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	9,56 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
	7,5	22,41 $\pm$ 0,15 <sup>c</sup>	11,88 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	9,08 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
	10,0	21,72 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	14,58 <sup>c</sup> $\pm$ 0,12 <sup>c</sup>	9,70 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
1,5	5,0	19,02 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	12,59 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>	9,40 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
	7,5	23,62 $\pm$ 0,27 <sup>c</sup>	14,92 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	10,17 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
	10,0	22,21 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	12,89 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	10,06 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
2,0	5,0	19,31 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	13,10 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	9,06 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
	7,5	22,71 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	13,39 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	10,24 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
	10,0	19,54 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	13,28 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	9,07 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>

Keterangan: *superscript* yang berbeda dalam kolom-kolom yang berbeda, menunjukkan perbedaan yang nyata, (Pd<sup>0,05</sup>)

kelebihan masing-masing kapang. Efek sinergisme tersebut mungkin berjalan dengan baik dan optimum pada kombinasi T<sub>2</sub>A<sub>3</sub> (*T. reesei* 7,5% dan *A. niger* 1,5%) yang dapat diperkirakan dari kadar protein kasar dan terlarut terbaik (23,62 dan 14,92 %) dibanding kombinasi-kombinasi lainnya. Diduga bahwa kombinasi level tersebut adalah optimum dalam memanfaatkan sumber-sumber nutrisi yang ada, di samping itu tidak terjadi akumulasi metabolit yang dapat mengganggu aktivitas masing-masing mikroba di dalam medium karena metabolit tersebut digunakan oleh mikroba lainnya yang hidup bersama dalam medium.

Gong dan Tsao (1979) menyatakan, bahwa dalam sistem enzim selulase, genus *Trichoderma* memproduksi enzim *selobiohidrolase* sebagai komponen terbanyak, dan pada genus *Aspergillus*, komponen terbanyak adalah enzim  $\alpha$ -glukosidase di samping enzim lainnya. Juhasz *et al.* (2003), enzim *selobiohidrolase* memecah selulosa menjadi *selobiosa* sebagai satu-satunya produk akhir hidrolisis, selanjutnya enzim  $\alpha$ -glukosidase berperan dalam hidrolisis *selobiosa* menjadi glukosa yang akan digunakan sebagai sumber karbon oleh kapang selama proses fermentasi. Akumulasi *selobiosa* dalam medium dapat menghambat produksi enzim *selobiohidrolase*. Juhasz *et al.* (2003) dan Mishra *et al.* (2004) menyatakan bahwa interaksi antara dua spesies mikroba yang berbeda dapat dieksploitasi guna menghasilkan produk fermentasi yang lebih baik.

### Kandungan Serat Kasar

Perubahan kadar serat kasar sebelum dan sesudah difermentasi menunjukkan peningkatan khususnya pada level kultur terpilih (T<sub>2</sub>A<sub>3</sub>) yaitu 10,17%. Hal ini terjadi karena pertumbuhan kapang selain menyumbangkan protein sel kapang, ikut juga menyumbangkan serat kasar sebagai komponen dinding sel

Kadar serat kasar substrat yang meningkat merupakan indikasi adanya pertumbuhan kapang. Menurut Fardiaz (1988) bahwa kapang adalah organisme eukariotik yang tumbuh dengan cara perpanjangan *hifa* sedangkan salah satu komponen penting dinding sel kapang adalah kitin dan kitosan. Dalam analisis proksimat komponen tersebut terhitung sebagai serat kasar. Dengan demikian akibat

pertumbuhan akan meningkatkan serat dalam substrat. Selain itu perombakan media untuk memperoleh nutrisi bagi pertumbuhan kapang menyebabkan terjadi perubahan komposisi media karena terjadi kehilangan komponen non serat selama proses inkubasi. Kehilangan tersebut menyebabkan komposisi medium secara keseluruhan ikut berubah.

## SIMPULAN

Fermentasi campuran *T. reesei* dan *A. niger* dengan kombinasi level inokulan *T. reesei* 7,5% dan *A. niger* 1,5% mampu meningkatkan kualitas putak terbaik ditinjau dari kadar protein kasar yang mencapai 23,62%, protein terlarut 14,92% dan serat kasar 10,17%.

## SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh yang berhubungan dengan kualitas nutrisi putak maka perlu dikaji lebih lanjut kemampuan putak fermentasi sebagai pengganti bahan pakan konvensional semisal jagung dalam campuran konsentrat pada ruminansia.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas bantuan banyak pihak. Secara khusus ucapan terimakasih ditujukan kepada Komisi Pembimbing disertasi, di Institut Pertanian Bogor atas arahan dan kerjasamanya. Juga kepada Direktur Politani Negeri Kupang yang telah mengizinkan memanfaatkan Laboratorium Biotek untuk pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Bamualim A, Kale Taek J, Nulik J, Wirdahayati RB. 1993. Pengaruh suplemen daun kedondong hutan (*Lannea grandis*), turi (*Sesbania grandiflora*), putak (*Corypha gebanga*) dan putak campur urea terhadap pertumbuhan ternak sapi bali di musim kemarau. *Publikasi Wilayah Kering* 1: 1-5

- Correa GM, Portal L, Moreno P, Tengerdy RP. 1999. Mixed culture solid substrate fermentation of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* on sugar cane bagasse. *Bioresource Technology* 68: 173-178.
- Fardiaz S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Ginting MU. 2000. The influence of fermented putak in pig diets digestibility and growth performance of weanling pigs [disertasi]. Göttingen/Germany: Institute of Animal Physiology and Animal Nutrition Georg-August-University
- Hesseltine C W. 1991. Mixed-Culture Fermentations: An Introduction to Oriental Food Fermentations. Dalam: Zeikus JG, Johnson EA, editor. *Mixed Cultures in Biotechnology*. New York: McGraw-Hill Inc.
- Hilakore MA, Suryahadi, Wiryawan IKG, Mangunwidjaja D. 2011. Peran *Aspergillus niger* dalam Meningkatkan Protein Putak. *Media Kedokteran Hewan* 27(1): 16-20.
- Hilakore MA, Suryahadi, Wiryawan IKG, Mangunwidjaja D. 2013. Peningkatan Kadar Protein Putak melalui Fermentasi oleh Kapang *Trichoderma reesei*. *J Veteriner* 14(2): 250-254
- Jelantik IGN, Mullik ML, Leo-Penu C, JeremiasJ, Copland R. 2008. Improving calf survival and performance by supplementation in Bali cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 954-956
- Jelantik IGN, Mullik ML, Leo-Penu C Copland R, 2010. Factors affecting the response of Bali cattle (*Bos sondaicus*) calves to supplementation prior to weaning. *Animal Production Science* 50: 493-496
- Islam MR, Ishida M, Ando S, Nishida T. 2002. In situ dry matter and Phosphorous disappearance of different feeds for ruminants. *Asian-Aust J Anim Sci* 15: 793-799
- Jermias A, Jelantik IGN, Mullik ML, Leo-Penu CL, Benu I, Copland R, 2010. The Perceptions of Farmers Concerning Strategies to Supplement Bali Cattle (*Bos Sondaicus*) Calves Prior to Weaning in West Timor Villages, Indonesia. *Aust. Soc. Anim Prod* 28: 18
- Juhász T, Kozma K, Zsolt Szengyel, Reczey K. 2003. Production of  $\alpha$ -glucosidase in mixed culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30. *Food Technol Biotechnol* 41: 49-53.
- Mishra BK, Anju A, Lata. 2004. Optimization of a biological process for treating potato chips industry wastewater using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *A. niger*. *Bioresource Technology* 94: 9-12.
- Moo-Young M, Moreira AR, Tengerdy RP. 1983. Principles of Solid-Substrate Fermentation. Di dalam: Smith JE, Berry DR, Bjorn K, editor. *The Filamentous Fungi*. Vol 4 *Fungal Technology*. London: Edward Arnold Publs.
- Pakula TM, Uusitalo J, Saloheimo M, Salonen K, Robert JA, Penttilä M. 2000. Monitoring the kinetics of glycoprotein synthesis and secretion in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*: cellobiohydrolase I (CBHI) as a model protein. *Microbiology* 146: 223-232.
- Pakula TM, Laxell M, Huuskonen A, Uusitalo J, Saloheimo M, Penttilä M 2003. The effects of drugs inhibiting protein secretion in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *The Journal of Biological Chemistry* 278: 45011-45020.
- Pakula TM, Salonen K, Uustalo J, Penttilä M. 2005. The effect of specific growth rate on protein synthesis and secretion in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Microbiology* 151: 135-143.
- Panda T, Bisaria VS, Ghose TK. 1989. Method to estimate growth of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus wentii* in mixed culture on cellulosic substrates. *Appl Environ Microbiol* 55: 1044-1046.
- Saha BC. 1991. Mixed Cultures in Enzymatic Degradation of Polysaccharides. Dalam: Zeikus JG, Johnson EA, editor. *Mixed Cultures in Biotechnology*. New York: McGraw-Hill Inc.

