

## Peningkatan Kadar Protein *Putak* melalui Fermentasi oleh Kapang *Trichoderma reesei*

(THE INCREASE OF PROTEIN LEVEL FROM PUTAK THROUGH FERMENTATION OF  
FUNGI TRICHODERMA REESEI)

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 85111;  
Telp. 0380-881465. Email: hukimaku@yahoo.com

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan,

<sup>3</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan sebagai upaya meningkatkan kandungan protein *putak* melalui fermentasi oleh kapang *Trichoderma reesei*. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial 3 x 4 x 3. Faktor pertama adalah level kultur *T. reesei* (T): 5,0; 7,5; dan 10,0% (b/b) dan lama inkubasi (W) : 2, 3, dan 4 hari sebagai faktor ke-2. Parameter yang diukur yakni kadar protein kasar (PK) dan murni (PM) serta serat kasar (SK). Hasil menunjukkan bahwa pada level kultur 7,5% dengan empat hari lama inkubasi menghasilkan kandungan protein kasar dan murni *putak* paling tinggi masing-masing sebanyak 20,60% dari 14,17%, dan 13,25% dari 3,25%, serta kadar serat kasar paling rendah sebanyak 9,08% dari 9,70%. Fermentasi menggunakan kapang *T. reesei* dapat meningkatkan protein serta menurunkan kadar serat kasar *putak*.

Kata-kata kunci: *Corypha*, gebang, *putak*, *T. reesei*

### ABSTRACT

A study was conducted was to increasing the protein level in *putak* by fermentation using fungi *Trichoderma reesei*. A laboratory experimental study was conducted using factorial Completely Randomized Design 3 x 4 x 3. The main factor is were inoculant levels of fungi *T. reesei* (T): 5,0; 7,5 and 10,0 % (w/w), the level and the second factor were of incubation time (W): 2; 3; and 4 days. Variables tested were crude protein (CP), true protein (TP) and crude fiber (CF). The result showed that treatment with 7.5% of *T. reesei* and incubation time for 4 days gave the highest of crude and true protein level (20,60%) from 14,17% and 13,25% from 3,25%, and lowest crude fiber 9,08% from 9,70%. Through fermentation of fungi *T. reesei* can be increase the protein and decrease the fiber level of *putak*.

Key words : *Corypha*, gebang, *putak*, *T. reesei*

### PENDAHULUAN

Ransum yang baik adalah ransum yang mampu memenuhi kebutuhan nutrisi ternak untuk hidup pokok, produksi, dan reproduksi. Pasokan nutrisi, kualitas, dan kuantitas khususnya pada ternak bunting hingga periode pertumbuhan, erat kaitannya dengan produktivitas ternak selanjutnya. Menurut

Barker dan Clark (1997) malnutrisi janin/foetus akan memengaruhi perkembangan setelah kelahiran karena mudah terinfeksi penyakit dan menyebabkan angka kematian tinggi. Selanjutnya Cramer *et al.*, (2001) menyatakan bahwa bagi ternak yang sedang tumbuh dan atau bereproduksi, bahan pakan sumber protein berkualitas tinggi mutlak merupakan bagian dalam formula ransum.

*Putak* merupakan nama pakan lokal di Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur yang diperoleh dari empulur batang pohon gebang (*Corypha gebanga*). Potensinya sangat besar karena tidak digunakan sebagai pangan, di samping itu ketersediaan cukup tinggi. Laporan Nulik *et al.*, (1988), dari satu pohon gebang dengan tinggi 13 m ( $12,9 \pm 3,3$  m) dapat dihasilkan sebanyak  $663,0 \pm 12,4$  kg *putak* basah atau 396 kg berat kering (kadar air 40%), dengan kandungan protein kasar 2,53%, serat kasar 12,04%, dan energi 4210 kkal. Agar penggunaan *putak* sebagai pakan menjadi optimal, maka diperlukan proses pengolahan untuk meningkatkan kandungan nutrisinya. Salah satu cara yang banyak dilakukan untuk meningkatkan nilai gizi suatu bahan menurut Ghanem *et al.*, (1991) adalah melalui fermentasi. Laporan penelitian Balai Penelitian Ternak, Ciawi Bogor menunjukkan bahwa teknologi fermentasi dapat meningkatkan kandungan protein pada singkong (Kompiang, 1994), bungkil kelapa (Sinurat *et al.*, 1995; Purwadaria *et al.*, 1997), dan sagu (Kompiang *et al.*, 1997).

Fermentasi merupakan aktivitas mikroorganisme untuk memperoleh energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya melalui katabolisme terhadap senyawa-senyawa organik secara aerob maupun anaerob. Pada proses fermentasi terjadi perubahan-perubahan terhadap komposisi kimia, seperti kandungan protein, lemak, karbohidrat, asam amino, vitamin dan mineral sebagai akibat aktivitas dan perkembangbiakan mikroorganisme selama proses fermentasi.

*Trichoderma reesei* adalah kapang aerob yang dapat digunakan dalam proses fermentasi karena mampu menghasilkan enzim-enzim pengurai polisakarida seperti pati, dan selulosa. Penelitian yang dilakukan Suhartati *et al.*, (2003) pada kulit coklat dengan penambahan mineral sulfur ternyata dapat meningkatkan kandungan asam amino methionin substrat, demikian halnya Jaelani (2008) melaporkan penggunaan *T. reesei* pada fermentasi bungkil inti sawit dapat meningkatkan kadar protein kasar dari 16,50% menjadi 24,37%.

Keuntungan lain yang didapat ternak yang diberi pakan produk fermentasi adalah kultur mikrob yang terdapat dalam bahan olahan merupakan sumber protein riil yang diperoleh ternak. Dikemukakan oleh Wina (1999) bahwa kultur kapang dapat meningkatkan populasi bakteri selulolitik dan bakteri asam laktat dalam

rumen sehingga pencernaan serat ataupun sintesis protein mikrob meningkat dan pada akhirnya produksi ternak meningkat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peningkatan kandungan protein *putak* setelah mengalami proses fermentasi oleh kapang *T. reesei*, dan diharapkan diperoleh jenis pakan baru yang memiliki kualitas lebih baik dibandingkan *putak* tanpa perlakuan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biotek Politeknik Pertanian Negeri Kupang. Percobaan dirancang berdasarkan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan level kultur *T. reesei* FNCC 6041 sebagai faktor pertama yakni T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, dan T<sub>3</sub> untuk level kultur 5,0; 7,5; dan 10,0% (b/b) dan lama inkubasi W<sub>1</sub>, W<sub>2</sub>, dan W<sub>3</sub> yakni 2, 3, dan 4 hari sebagai faktor kedua. Masing-masing diulang tiga kali. Dengan demikian terdapat sembilan kombinasi perlakuan atau 27 unit penelitian. Kepadatan bubuk kultur *T. reesei* adalah  $1,98 \times 10^5$  cfu/g.

Peubah yang diukur adalah kadar protein kasar, protein murni, dan serat kasar. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan sidik ragam, selanjutnya diuji dengan uji Duncan sebagaimana Gaspersz (1991) serta Mattjik dan Sumertajaya (2006).

### Prosedur Penelitian

*Putak* dicacah kecil-kecil ukuran kurang lebih  $1 \times 0,5$  cm kemudian dijemur selama 2-3 hari untuk digunakan dalam proses fermentasi. Proses penelitian diawali dengan pembuatan bubuk kultur dengan menggunakan media *putak*. Proses pembuatan sama dengan perlakuan, yang berbeda adalah pada pembuatan bubuk kultur diinkubasi selama lima hari, selanjutnya dikeringkan dalam oven 40°C selama tiga hari kemudian di *blender* menjadi tepung kultur. Tepung atau bubuk ini yang digunakan dalam perlakuan selanjutnya.

*Putak* kering sebanyak 100 g direndam dalam air selama 30 menit, ditiriskan dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Mineral KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4,62 g, dan urea 3,15 g dicampur dengan air menjadi 100 mL selanjutnya ditambahkan kedalam *putak* kemudian dikukus selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan bubuk kultur sesuai perlakuan, selanjutnya diinkubasi sesuai waktu

perlakuan. selanjutnya dikeringkan untuk proses analisis sesuai peubah percobaan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis proksimat substrat sebelum dan sesudah difermentasi dengan kapang *T.reesei* disajikan pada Tabel 1. Secara keseluruhan, hasil tersebut menunjukkan bahwa jumlah kultur memengaruhi lama inkubasi.

**Protein Kasar**

Tabel 1 menyajikan kadar protein kasar (PK) *putak* pada kombinasi level kultur  $T_2$  ( $1,485 \times 10^6$ ) dengan lama inkubasi empat hari ( $W_4$ ) adalah sebesar 20,60% (dari sebelumnya 14,17%), nyata lebih tinggi dari level  $T_1$  ( $0,99 \times 10^6$ ) dan  $T_3$  ( $1,98 \times 10^6$ ). Nilai tersebut lebih tinggi dari yang dilaporkan Suhartati *et al.*, (2003) menggunakan *T.reesei* pada fermentasi *pod coklat* yang meningkatkan kadar protein kasar dari 5,53% menjadi 6,5%, juga Jaelani (2008) melaporkan penggunaan *T.reesei* pada fermentasi bungkil inti sawit dapat meningkatkan kadar protein kasar dari 16,5% menjadi 24,37%. Novianti (2002), menggunakan *T.harzinum* juga mampu meningkatkan protein kasar ampas tahu dari 24,57% menjadi 32,83% setelah diinkubasi enam hari. Perbedaan

tersebut mungkin disebabkan jenis dan komposisi substrat yang digunakan.

Fenomena tersebut memberi petunjuk bahwa pada level kultur rendah ( $T_1$ ) membutuhkan waktu inkubasi lebih lama daripada level kultur tinggi, artinya pada kultur rendah membutuhkan fase adaptasi (*lag*) yang lebih lama. Dikemukakan oleh Fardiaz (1992) bahwa jumlah awal sel memengaruhi kecepatan fase adaptasi. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa konsentrasi kultur awal yang tinggi memungkinkan pertumbuhan akan semakin besar. Hal ini terjadi karena pertumbuhan mikrob yang cepat turut meningkatkan kandungan protein substrat karena banyak terbentuk miselium.

Meningkatnya kadar protein substrat menggambarkan peningkatan pertumbuhan kapang dalam medium. Pada perlakuan level kultur rendah ( $T_1$ ) laju pertumbuhan lambat yang ditandai oleh kenaikan kadar protein yang masih terus bertambah hingga inkubasi hari ke-4. Akibat rendahnya kepadatan kultur dalam medium maka tingkat pemanfaatan nutrisi yang tersedia juga rendah, akan menyebabkan pertumbuhan kapang masih terjadi hingga hari ke empat inkubasi. Sebaliknya dengan perlakuan level  $T_2$  dan  $T_3$ , pertumbuhan terjadi lebih cepat sehingga lebih cepat juga mencapai fase stasioner yang mungkin disebabkan persediaan nutrisi mulai berkurang serta terjadi

Tabel 1 Pengaruh lama inkubasi (hari) dan level kultur *T.reesei* (% b/b) terhadap kadar nutrisi *putak* (%)

Level <i>T.reesei</i> (% b/b)	Lama Inkubasi (hari) W	Kadar Nutrien Putak (%BK)		
		PK	PM	SK
5.0 ( $T_1$ )	0	14,17*	3,25*	9,70*
	2	15,60 <sup>a</sup>	4,95 <sup>a</sup>	7,14 <sup>a</sup>
	3	16,45 <sup>a</sup>	5,82 <sup>b</sup>	8,32 <sup>b</sup>
	4	17,40 <sup>a</sup>	7,32 <sup>a</sup>	6,61 <sup>a</sup>
7.5 ( $T_2$ )	2	17,74 <sup>b</sup>	7,83 <sup>b</sup>	8,03 <sup>b</sup>
	3	19,52 <sup>b</sup>	11,32 <sup>c</sup>	8,60 <sup>c</sup>
	4	20,60 <sup>b</sup>	13,25 <sup>b</sup>	9,08 <sup>b</sup>
10.0 ( $T_3$ )	2	19,29 <sup>c</sup>	10,60 <sup>a</sup>	7,05 <sup>a</sup>
	3	20,44 <sup>c</sup>	11,4 <sup>a</sup>	7,93 <sup>a</sup>
	4	20,33 <sup>b</sup>	12,09 <sup>c</sup>	10,57 <sup>c</sup>

Keterangan: W = waktu; PK = protein kasar; PM = protein murni; SK = serat kasar

akumulasi zat-zat metabolik yang dapat menghambat pertumbuhan.

Kemampuan kapang *T.reesei* menghasilkan enzim selulolitik seperti endo dan ekso-glukanase (selobiohidrolase) memberikan keuntungan dalam hal produksi protein. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Pakula *et al.*, (2005) bahwa kapang mampu memproduksi enzim dalam jumlah yang tinggi, dan produksi ini setara dengan 40 g/L protein ekstraseluler. Selobiohidrolase I (CBHI) merupakan komponen enzim terbanyak yang diproduksi dan menyumbang ke dalam substrat sekitar 60% dari total protein yang disekresikan. Artinya bahwa di samping protein massa sel yang disumbangkan pada medium juga dihasilkan protein ekstraseluler dari enzim.

### Protein Murni

Peningkatan kandungan protein kasar sejalan dengan peningkatan protein murni (PM) karena kapang dapat memanfaatkan sumber-sumber nutrisi yang tersedia dalam substrat bagi pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Rahman (1992) bahwa akibat pertumbuhan mikroba dalam substrat maka kadar protein substrat meningkat.

Kadar protein murni terbaik, yakni 13,25% dari sebelumnya 3,25%, diperoleh dari kombinasi level kultur 7,5% (b/b) serta lama inkubasi empat hari sama dengan kadar protein kasar. Hal tersebut menunjukkan proses konversi pati yang terdapat dalam *putak* menjadi protein sel kapang terjadi dengan baik. Menurut Valdivia *et al.*, (1983) bahwa penggunaan bahan yang mengandung pati dalam menghasilkan protein sel tunggal merupakan pilihan yang tepat karena pati mudah digunakan oleh banyak mikroba.

### Serat Kasar

Serat kasar (SK) pada substrat yang difermentasi dengan *T.reesei* secara keseluruhan lebih rendah dibandingkan tanpa fermentasi, sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Kadar serat kasar substrat mengalami penurunan setelah difermentasi yakni 9,70% menjadi 9,08%. Kenyataan ini menunjukkan adanya kemampuan kapang dalam menghasilkan enzim selulase untuk mendegradasi komponen selulosa yang ada dalam medium. Yusoff *et al.*, (2000) melaporkan bahwa terjadi penurunan kandungan selulosa

pada bagas tebu yang difermentasi menggunakan kapang *T. reesei*. Enzim selobiohidrolase yang dihasilkan kapang telah menghidrolisis selulosa yang ada dalam substrat. Fungsi utama enzim tersebut adalah mendegradasi selulosa menjadi selobiosa. *T. reesei* merupakan kapang yang sangat potensial dalam menghasilkan enzim endo- dan ekso-glukanase (Panda *et al.*, 1988; Pakula *et al.*, 2000; Pakula *et al.*, 2005) dan enzim tersebut mendegradasi selulosa menjadi selobiosa sebagai satu-satunya produk akhir hidrolisis (Tsao dan Chiang, 1983; Juhasz *et al.*, 2003). Namun, akumulasi selobiosa dalam substrat dapat menghambat kerja enzim yang bersangkutan. Alasan lainnya, bahwa dinding sel kapang mengandung kitin sehingga meningkatnya jumlah sel kapang, berkorelasi positif dengan kadar protein kasar dan murni, akan meningkatkan jumlah kitin. Dalam analisis proksimat, kandungan kitin bahan teranalisa sebagai serat kasar.

### SIMPULAN

Dari hasil yang diperoleh dalam penelitian ini disimpulkan bahwa : fermentasi *putak* dengan *T.reesei* pada level kultur dapat meningkatkan protein kasar, protein murni, serta menurunkan serat kasar.

### SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh yang berhubungan dengan kualitas nutrisi *putak* maka perlu dikaji lebih lanjut kemampuan *putak* fermentasi sebagai bahan konsentrat secara khusus pada ternak ruminansia.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas bantuan banyak pihak. Secara khusus ucapan terimakasih ditujukan kepada Program Pascasarjana IPB, atas arahan dan kerjasamanya. Juga kepada Direktur Politani Negeri Kupang yang telah mengizinkan memanfaatkan Laboratorium Biotek untuk pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Barker DJ, Clark PM. 1997. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reprod* 2 : 105-112.
- Cramer KR, Greenwood MW, Moritz JS, Beyer RS, Parsons CM. 2007. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. *J Anim Sci* 85 : 3285-3293.
- Fardiaz S. 1992. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor. Pusat Antar Universitas IPB.
- Gaspersz V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Bandung. CV Armico.
- Ghanem KM, El-Refai AH, El-Gazaerly MA. 1991. Protein enriched feedstuff from beet pulp. *World J Microbil Biotech* 7 : 365-371.
- Jaelani, Piliang AWG, Suryahadi, Rahayu I. 2008. Hidrolisis Bungkil Inti Sawit (*Elaeis guineensis Jacq*) oleh Kapang *Trichoderma reesei* sebagai Pendegradasi Polisakarida Mannan. *Animal Production* 42-49.
- Juhasz 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(1) : 49 – 53.
- Kompiang IP. 1994. Cassapro. A Promising protein enriched cassava as animal and fish feed. *Indonesian Agric Res Develop J* 16(4): 57-63
- Kompiang IP, Purwadaria T, Haryati T, Supriyati. 1997. Bioconversion of Sago (*Metroxylon* sp.) waste. *Current Status of Agricultural Biotechnology in Indonesia*. A Darussamin, I. P. Kompiang, and S. Moeljopawiro (Editors), AARD Indonesia. pp. 523- 526
- Mattjik AA, Sumertajaya IM, 2006. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Bogor. IPB Press.
- Noviati A. 2002. Fermentasi Bahan Pakan Limbah Industri Pertanian dengan Menggunakan *Trichoderma harzianum*. Bogor. Jurusan Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Nullik J, Fernandez PTh, Bamualim A, 1988. Pemanfaatan dan produksi putak sebagai sumber energi makanan ternak sapi dan kambing. Laporan Penelitian Komponen Teknologi Peternakan, Main Base Kupang 1987–1988. Proyek NTASP. BPPP Deptan.
- 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, 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. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (4) : 1044–1046.
- Rachman A. 1992. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Bogor. PAU IPB
- Sinurat AP, Setiadi P, Lasmini A, Setioko AR, Turwadaria T, Kompiang IP, Darma J. 1995. Penggunaan *cassapro* (singkong terfermentasi) untuk itik petelur. *Ilmu dan Peternakan* 8(2) : 28-31.
- Suhartati FM, Suryapratama W, Ning Iriyanti. 2003. Sintesis Asam Amino Metionin pada *Trichoderma reesei* dan Pengaruhnya Terhadap Sintesis Protein Mikroba Rumen. *Jurnal Peternakan dan Lingkungan* 9 : 12-16.
- Suparjo, Wiryawan KG, Laconi EB, Mangunwidjaja D. 2011. Performa Kambing yang Diberi Kulit Buah Kakao Terfermentasi. *Media Peternakan* 35–41
- Tsao GT, Lin-Chang Chiang. 1983. Principles of Solid-Substrate Fermentation. In: Smith JE, Berry DR, Bjorn K, (Ed). *The Filamentous Fungi. Vol 4 Fungal Technology*. London Edward Arnold Publs. Pp. 296-326.
- Wina E. 1999. Pemanfaatan Ragi (Yeast) Sebagai Pakan Imbuhan Untuk Meningkatkan Produktivitas Ternak Ruminansia. *Wartazoa* 9 (2) : 1-8
- Yusoff WMW, Massadeh MI, Omar O, Kader J. 2000. Sugar Cane Bagasse Degradation by Mixed Culture of *T.reesei* and *A.terreus* in Solid State Fermentation. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 3(10) : 1758-1751.