

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Produksi Glukosa dengan Substrat Selulosa Kasar Brangkasian Jagung Menggunakan Enzim Selulase dari Isolat B2S8

Glucose Production with Crude Cellulose Corn Stover Substrate Using Cellulase Enzymes from Isolate B2S8

Rendy Sinaga¹, Ida Bagus Wayan Gunam^{2*}, Nyoman Semadi Antara³

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali 80361

^{2,3}Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar-Bali 80234

*Email: ibwgunam@unud.ac.id

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi substrat selulosa kasar brangkasian jagung dan waktu sakarifikasi terbaik untuk menghasilkan kadar glukosa yang tinggi. Selulosa yang terkandung pada brangkasian jagung memiliki potensi menjadi glukosa melalui proses sakarifikasi enzimatis menggunakan enzim selulase. Produksi glukosa pada konsentrasi substrat dan waktu sakarifikasi yang berbeda menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi substrat yang terdiri dari 4 taraf yaitu 2%, 3%, 4%, dan 5% (b/v). Faktor kedua adalah waktu sakarifikasi yang terdiri dari 4 taraf yaitu 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam. Variabel yang diamati meliputi kadar glukosa, residu selulosa, pH, dan total padatan terlarut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi substrat 5% dan waktu sakarifikasi 96 jam merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan kadar glukosa maksimum sebesar 0,3003 mg/mL, residu selulosa minimum setelah sakarifikasi sebesar 17,75%, pH setelah sakarifikasi sebesar 6,1 dan total padatan terlarut tertinggi setelah sakarifikasi sebesar 2,7°Brix.

Kata kunci : enzimatis, glukosa, sakarifikasi, selulosa kasar brangkasian jagung

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the crude cellulose corn stover substrate concentration and saccharification time to produce high glucose. Cellulose contained in the corn stover has potential converted into glucose by enzymatic hydrolysis using cellulase enzymes. Glucose production in different substrate concentrations and saccharification times uses a factorial randomized block design (RBD) consisting of two factors. The first factor is the substrate concentration which consists of 4 levels, namely 2%, 3%, 4%, and 5% (w/v). The second factor is the saccharification time which consists of 4 levels, namely 24 hours, 48 hours, 72 hours, and 96 hours. The observed variables include glucose level, cellulose residue, pH, and total dissolved solid. The results showed that 5% substrate concentration and 96 hours saccharification time was the best treatment for producing the maximum glucose level was 0.3003 mg/mL, the minimum cellulose residue after saccharification was 17.75%, pH after saccharification was 6.1, and the highest total dissolved solid after saccharification was 2.7°Brix.

Keywords : crude cellulose corn stover, enzymatic, glucose, saccharification

PENDAHULUAN

Biomassa lignoselulosa merupakan jenis biomassa yang tersusun dari ikatan kompleks lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Beukes *et al.*, 2011). Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang juga mempunyai ketersediaan jumlah biomassa lignoselulosa yang sangat melimpah yang berasal dari berbagai limbah pertanian, limbah industri kertas, limbah hasil hutan dan limbah perkebunan. Salah satu jenis limbah biomassa yang jumlahnya sangat melimpah di Indonesia adalah limbah pertanian berupa brangkasan jagung (Romli *et al.*, 2010). Pemanfaatan brangkasan jagung masih sangat terbatas dan seringkali hanya dibakar dan dibuang sebagai limbah. Menurut Sarkar *et al.* (2012), tanaman jagung mengandung selulosa sebesar 42,6%, hemiselulosa 21,3%, dan lignin 8,2%. Sehingga potensi limbah brangkasan jagung yang tinggi tersebut berpeluang sebagai alternatif sumber selulosa untuk berbagai kebutuhan di industri.

Sakarifikasi dapat dilakukan dengan dua cara diantaranya secara kimiawi menggunakan larutan asam dan enzimatis menggunakan enzim dalam sakarifikasinya. Perlakuan sakarifikasi enzimatis memiliki beberapa keunggulan dan kekurangan. Menurut Taherzadeh *et al.* (2008), pada sakarifikasi secara enzimatis tidak terjadinya degradasi glukosa hasil sakarifikasi, memberikan hasil yang lebih tinggi dan dapat dilakukan pada suhu yang rendah, namun kekurangannya yaitu harga enzim yang mahal sehingga membutuhkan waktu produksi yang lebih lama. Sakarifikasi secara kimiawi juga memiliki kelebihan yaitu proses lebih mudah karena tidak dipengaruhi oleh berbagai faktor, dan waktu yang lebih cepat, namun kekurangannya yaitu biaya pemeliharaan peralatan relatif tinggi karena terdapat bahan yang menimbulkan korosi (Ega, 2002).

Sakarifikasi menggunakan enzim selulase dapat memutuskan rantai polimer selulosa menjadi unit-unit monomer yang lebih sederhana berupa glukosa, yang nantinya glukosa dapat digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi lebih lanjut dalam pembuatan bioetanol. Pemutusan ikatan rantai polimer pada selulosa terjadi akibat serangan dari komponen-komponen dari enzim selulase yaitu endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase

yang bekerja secara sinergis memecah selulosa menjadi monomer glukosa (Lynd *et al.*, 2002).

Selulosa terikat sangat kuat dengan hemiselulosa dan dilindungi oleh struktur polimer lignin, sehingga dibutuhkan suatu proses perlakuan awal (*pre-treatment*). Proses *pre-treatment* atau delignifikasi bertujuan untuk merusak struktur kristal selulosa, menurunkan kandungan hemiselulosa, lignin, dan meningkatkan porositas bahan, sehingga membuat selulosa dapat dengan mudah dikonversi menjadi gula-gula sederhana melalui sakarifikasi (Zhang *et al.*, 2006). Menurut Gunam *et al.* (2019), delignifikasi yang umum dilakukan adalah dengan menggunakan larutan NaOH dengan konsentrasi rendah. Larutan NaOH dengan konsentrasi yang rendah mampu mendegradasi lignin yang membungkus selulosa dengan menyerang dan merusak struktur lignin yang partikelnya tersusun secara acak dan tidak teratur, melarutkan lignin, dan hemiselulosa serta menyebabkan terjadinya pengembangan struktur selulosa.

Secara teoritis, faktor-faktor yang mempengaruhi sakarifikasi yaitu konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH, dan waktu reaksi (Kaya *et al.*, 2000). Pada penelitian Alrumman (2016), pengujian pengaruh konsentrasi substrat dilakukan produksi glukosa melalui proses sakarifikasi dan diperoleh laju peningkatan glukosa yang dihasilkan tertinggi pada konsentrasi substrat 4% menggunakan substrat limbah kurma. Ouyang *et al.* (2009) mendapatkan glukosa yang dihasilkan tertinggi pada konsentrasi substrat 3% menggunakan substrat tongkol jagung. Sedangkan menurut penelitian Yabefa *et al.* (2014) didapatkan kadar glukosa yang dihasilkan tertinggi pada konsentrasi substrat 2% menggunakan substrat jeruk. Sedangkan pada penelitian Radhika *et al.* (2006) pengujian pengaruh waktu sakarifikasi dalam produksi glukosa diperoleh laju peningkatan glukosa yang dihasilkan tertinggi pada waktu sakarifikasi 48 jam menggunakan substrat sorgum. Sedangkan Saepulloh *et al.* (2012) mendapatkan bahwa glukosa yang dihasilkan tertinggi pada waktu sakarifikasi 72 jam.

Selain konsentrasi substrat dan lama waktu sakarifikasi, faktor yang mempengaruhi kondisi

proses sakarifikasi adalah suhu dan pH. Adrados *et al.* (2005), Alrumman (2016), Ningsih (2017), dan Gunam *et al.* (2019) melaporkan bahwa pada pH 5.0 dan pada suhu 50°C merupakan kondisi optimum kerja enzim selulase. Hal ini terjadi karena pada suhu dan pH tersebut enzim selulase dalam kondisi stabil dan lebih efektif.

Berdasarkan permasalahan di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi substrat selulosa kasar brangkasan jagung dan waktu sakarifikasi terbaik dalam menghasilkan glukosa yang nantinya dapat dimanfaatkan menjadi etanol. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan perbandingan yang tepat antara jumlah konsentrasi substrat selulosa brangkasan jagung yang digunakan dan waktu sakarifikasi dalam menghasilkan kadar glukosa yang maksimum.

MATERI DAN METODE

Persiapan substrat brangkasan jagung

Bahan yang digunakan sebagai substrat pada penelitian ini adalah brangkasan jagung kering yang berumur 3 bulan menggunakan daun dan batangnya yang sudah berwarna coklat tua. Brangkasan jagung dikeringkan menggunakan oven pada suhu pengeringan 60°C selama 4-8 jam sampai kadar air 10% lalu digiling menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk yang lolos ayakan 60 mesh (Yulianti, L *et al.*, 2019). Selanjutnya, serbuk brangkasan jagung dimasukkan ke dalam wadah dan didelignifikasi menggunakan larutan NaOH 4% dengan perbandingan 1:10 dan direndam selama 8 jam lamanya. Setelah dilakukan penyaringan, pencucian sampai netral, lalu dikeringkan dalam oven 60°C sampai kadar 10% (Gunam *et al.*, 2011; Purba *et al.*, 2019; Gunam *et al.*, 2020; Gultom *et al.*, 2022).

Uji aktivitas endoglukanase (CMCase), eksoglukanase (FPase), β -glukosidase (selobiase), dan kadar protein

Enzim endoglukanase (CMSase) diuji aktivitasnya menggunakan beberapa campuran reaksi yang mengandung 1 mL enzim selulase kasar, 1 mL larutan 1% *carboxymethyl cellulose* (CMC) pada buffer sitrat (pH 4,8) diinkubasi pada suhu 50°C selama 15 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 3 mL asam dinitrosalisilat, lalu dididihkan selama 5 menit (Dar *et al.*, 2015).

Kadar glukosa ditentukan berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 540 nm dan perhitungan berdasarkan kurva standar (Duza dan Mastan 2013; Dar *et al.*, 2015).

Enzim eksoglukanase (FPase) diuji aktivitasnya menggunakan campuran reaksi yang mengandung 1 mL enzim kasar dengan 2 buah kertas Whattman No.1 berukuran 1x1.5 cm dan 1 mL buffer sitrat 50 mM (pH 5.0), kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 jam. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 3 mL asam dinitrosalisilat, lalu dididihkan selama 5 menit (Dar *et al.*, 2015). Kadar glukosa ditentukan nilai absorbansi pada panjang gelombang 540 nm dan perhitungan berdasarkan kurva standar (Duza dan Mastan 2013; Dar *et al.*, 2015).

Enzim β -glukosidase diuji aktivitasnya menggunakan campuran reaksi yang mengandung 1 mL enzim selulase, 1 mL larutan selobiosa 1% pada buffer sitrat (pH 5.4), kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 mL asam dinitrosalisilat (DNS) lalu divortex (Dar *et al.*, 2015). Kadar glukosa ditentukan nilai absorbansi pada λ 405 nm (Duza dan Mastan 2013).

Kadar protein total ditentukan menggunakan metode Lowry. Larutan yang dibutuhkan yaitu larutan A terdiri atas 2% NaCO₃ dalam 0,1 N NaOH, larutan B terdiri atas 2% natrium kalium tatarat dalam air distilat, larutan C terdiri atas 1% CuSO₄ dalam air distilat dan 1 N reagen Folin-Ciocalteu. Larutan biuret yang terdiri dari larutan A, B, dan C dibuat dengan perbandingan 100:1:1. Sampel enzim kasar sebanyak 0,15 mL ditaruh dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 mL larutan biuret, kemudian diamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit ditambahkan larutan Folin-Ciocalteu sebanyak 0,3 mL, divorteks, dan didiamkan selama 30 menit. Pembuatan larutan standar protein dari *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan variasi konsentrasi 0–0,6 mg/mL dengan interval 0,05, dan buffer sitrat fosfat pH 5 digunakan sebagai blanko. Variasi konsentrasi BSA dilarutkan ke dalam buffer sitrat fosfat sampai volumenya 0,5 mL lalu ditambahkan larutan biuret 1 mL, divorteks, dan didiamkan 10 menit, lalu ditambahkan larutan Folin 0,1 mL, divorteks, dan didiamkan 30 menit. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV visible pada panjang gelombang 750 nm (Lowry

et al., 1951).

Proses sakarifikasi

Perlakuan pendahuluan dimulai dengan menimbang brangkasan jagung yang telah di delignifikasi (selulosa kasar) dengan beberapa konsentrasi masing-masing 2, 3, 4, dan 5% dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL untuk disakarifikasi dengan enzim selulase (Ouyang *et al.*, 2009; Yabefa *et al.*, 2014; Alrumman, 2016). Sebelum disakarifikasi substrat diberi buffer sitrat 0,05 M pH 5 sebanyak 100 mL dan ditambahkan air destilata sampai volumenya menjadi 200 mL, kemudian pH-nya diatur menjadi 5 dengan cara menambahkan larutan Na-Sitrat 0,1M (Gunam *et al.*, 2019).

Substrat tersebut diberi enzim selulase dengan konsentrasi sebesar 40% (Ouyang *et al.*, 2009). Sampel segera diinkubasi menggunakan alat *water bath shaker* 150 rpm pada suhu 50°C. Sampel dibiarkan lalu diambil pada jam ke 24, 48, 72, dan 96 (Saepulloh *et al.*, 2012; Radhika *et al.*, 2016). Sampel hasil sakarifikasi ini disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit.

Analisis kadar gula reduksi

Supernatan tersebut dianalisis kadar gula reduksinya dengan menambahkan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*). Satu mililiter sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL pereaksi DNS. Larutan tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang λ 540 nm (Alrumman, 2016). Jumlah gula reduksi yang dihasilkan dihitung dengan menggunakan kurva standar glukosa, dan dinyatakan sebagai mg/mL.

Analisis residu selulosa

Satu gram sampel kering (berat a) ditambahkan 150 mL H₂O dan di *reflux* pada suhu 100°C dengan *waterbath* selama 1 jam. Hasilnya disaring dengan kertas saring, dimana residu yang berada di kertas saring dicuci dengan air panas 300 mL. Kemudian residu dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat b). Residu kemudian ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1 N, kemudian di-*reflux* kembali dengan *waterbath* selama 1 jam pada suhu 100°C. Kemudian hasilnya disaring dan

dicuci menggunakan air distilat, kemudian residunya dikeringkan hingga beratnya konstan (berat c).

Residu kering tersebut ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 72% dan dibiarkan pada suhu kamar selama 4 jam. Kemudian ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1 N dan di-*reflux* kembali pada suhu 100 °C dengan *waterbath* selama 1 jam. Kemudian residu disaring dan dicuci dengan air distilat. Residu kemudian dipanaskan dengan oven pada suhu 60°C sampai beratnya konstan dan ditimbang (berat d) dengan Metode Chesson (Datta, 1981). Menghitung berat selulosanya menggunakan rumus:

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{\text{Berat c} - \text{Berat d}}{\text{Berat a}} \times 100\%$$

Analisis pH

Pengukuran pH dilakukan dengan pH-meter. Sebelum digunakan pH-meter dikalibrasi terlebih dahulu ke dalam buffer pH 4 dan buffer pH 7. Setelah dicuci dengan air destilat, elektroda dimasukkan ke dalam sampel yang akan diukur pH-nya. Nilai pH adalah nilai yang ditampilkan setelah menunjukkan nilai konstan.

Analisis total padatan terlarut

Analisis total padatan terlarut diukur menggunakan *hand refraktometer*. Pengujian total kandungan padatan terlarut diawali dengan kalibrasi *hand-refractometer* menggunakan air distilat kemudian sampel diteteskan sebanyak 1–2 tetes pada prisma refraktometer pada suhu 25°C, kemudian derajat Brix diukur. Derajat Brix yang diukur menunjukkan kandungan padatan terlarut dalam larutan (Ismawati *et al.*, 2016).

Analisis data

Data obyektif yang diperoleh kemudian dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan apabila terdapat data yang berbeda nyata terhadap parameter yang diamati, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) menggunakan perangkat lunak Minitab. Perlakuan terbaik ditentukan dengan perlakuan yang menghasilkan kadar glukosa yang paling tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim endoglukanase (CMCase), eksoglukanase (FPase), dan β -glukosidase

Hasil analisis aktivitas endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase pada ekstrak kasar enzim selulase dari isolat B2S8 yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari hasil penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa enzim selulase kasar dari isolat bakteri B2S8 yang dihasilkan memiliki rata-rata aktivitas sebesar 0,0714 IU/mL. Aktivitas enzim selulase menggunakan substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo- β -glukanase dengan menghidrolisis ikatan glukosidik β -1,4 secara acak terutama pada daerah amorf serat selulosa dan tidak menyerang selobiosa tetapi mendegradasi selulosa dan selodekstrin yang telah disubstitusi seperti CMC yang akan membentuk selo-oligosakarida. Aktivitas enzim selulase pada substrat *Filter Paper* (Whattman No.1) merupakan aktivitas enzim ekso- β -glukanase dengan menghidrolisis ikatan glukosidik β -1,4 dan menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi, dan membebaskan selobiosa tetapi tidak menyerang selulosa yang disubstitusi seperti kertas saring yang akan membentuk selobiosa. Aktivitas enzim selulase pada substrat selobiosa merupakan aktivitas enzim β -glukosidase yang akan menghidrolisis ikatan glukosidik β -1,4 dan akan memotong molekul-molekul selobiosa yang terbentuk menjadi glukosa.

Tabel 1. Nilai rata-rata hasil analisis aktivitas endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase, protein terlarut, aktivitas spesifik endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase

Parameter yang uji	Hasil pengujian
Aktivitas enzim (IU/mL)	
Endoglukanase	0.07147 \pm 0.00150
Eksoglukanase	0.01628 \pm 0.00037
β -glukosidase	0.01479 \pm 0.00038
Kadar protein terlarut (mg/mL)	0.39574 \pm 0.00318
Aktivitas spesifik enzim (IU/mL)	
Endoglukanase	0.18059 \pm 0.00232
Eksoglukanase	0.04114 \pm 0.00128
β -glukosidase	0.03738 \pm 0.00126

Kadar protein terlarut

Hasil analisis kadar protein terlarut pada ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri isolat

B2S8 yang diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa jenis media ketiga produksi enzim selulase dengan konsentrasi terbaik 8% dengan penambahan konsentrasi inokulum bakteri isolat B2S8 5% dan diinkubasi selama 96 jam yang didapat dari peneliti sebelumnya menghasilkan rata-rata kadar protein sebesar 0,3957 mg/mL. Pada penelitian ini, kadar protein terlarut dalam enzim selulase kasar diasumsikan sebagai protein enzim selulase. Bakteri selulolitik memanfaatkan karbohidrat yang terlarut sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya, sehingga bakteri selulolitik akan berkembang lebih banyak selama masa inkubasi (Rastogi *et al.*, 2009). Protein terlarut dalam filtrat enzim dipengaruhi ada-tidaknya inhibitor enzim di dalam media produksi enzim. Apabila kadar protein tinggi, tetapi aktivitas spesifik rendah, maka ini menunjukkan selain adanya protein lain, konsentrasi zat yang menghambat atau menurunkan laju reaksi dalam media produksi enzim tinggi.

Aktivitas spesifik enzim endoglukanase (CMCase), eksoglukanase (FPase), dan β -glukosidase

Hasil analisis aktivitas spesifik endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase pada ekstrak kasar enzim selulase dari isolat B2S8 yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari hasil penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil nilai rata-rata aktivitas spesifik endoglukanase pada enzim selulase kasar dari isolat bakteri B2S8 yang dihasilkan memiliki aktivitas spesifik sebesar 0,1805 IU/mL, aktivitas spesifik eksoglukanase sebesar 0,0411 IU/mL, dan aktivitas spesifik β -glukosidase sebesar 0,03737 IU/mL. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan kemurnian suatu enzim, hal ini disebabkan karena hilangnya protein non-enzim (Humbird *et al.*, 2011). Aktivitas spesifik enzim dapat dihitung berdasarkan nilai aktivitas enzim yang telah diperoleh, kemudian dibagi dengan kandungan protein (Ngangi *et al.*, 2013). Peningkatan aktivitas spesifik sesuai dengan peningkatan aktivitas enzim, apabila semakin tinggi aktivitas enzim maka akan semakin tinggi tingkat kemurnian enzim tersebut. Namun, semakin rendah nilai aktivitas enzim tersebut maka semakin banyak protein lain yang turut diproduksi oleh mikroorganisme selama masa

pertumbuhannya (Rohmah *et al.*, 2019).

Kadar glukosa

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat brangkasan jagung dan lama waktu sakarifikasi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar glukosa yang dihasilkan. Nilai rerata kadar glukosa dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel

2 bahwa nilai rata-rata kadar glukosa dari variasi konsentrasi substrat dan lama waktu sakarifikasi menunjukkan perbedaan yang nyata dimana kadar glukosa maksimum diperoleh sebesar 0,3003 mg/mL dari variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 96 jam sedangkan pada konsentrasi substrat brangkasan jagung 2% dengan lama waktu sakarifikasi 24 jam menghasilkan nilai rata-rata kadar glukosa terendah yaitu 0,0601 mg/mL.

Tabel 2. Nilai rata-rata kadar glukosa yang dihasilkan dari sakarifikasi selulosa kasar brangkasan jagung (mg/mL)

Konsentrasi Substrat (%)	Lama Sakarifikasi (jam)			
	24	48	72	96
2	0,0601 ± 0,0002 p	0,0736 ± 0,0002 n	0,0879 ± 0,0002 l	0,1156 ± 0,0004 j
3	0,0696 ± 0,0004 o	0,1215 ± 0,0004 i	0,1731 ± 0,0002 f	0,2384 ± 0,0004 d
4	0,0841 ± 0,0002 m	0,1396 ± 0,0004 h	0,2038 ± 0,0002 e	0,2791 ± 0,0004 b
5	0,0975 ± 0,0004 k	0,1679 ± 0,0002 g	0,2427 ± 0,0002 c	0,3003 ± 0,0004 a

Keterangan: notasi berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kesalahan 5% ($p < 0,05$).

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 2 bahwa nilai rata-rata kadar glukosa dari variasi konsentrasi substrat dan lama waktu sakarifikasi menunjukkan perbedaan yang nyata. Kadar glukosa maksimum diperoleh sebesar 0,3003 mg/mL dari variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 96 jam, sedangkan pada konsentrasi substrat brangkasan jagung 2% dengan lama waktu sakarifikasi 24 jam menghasilkan rata-rata kadar glukosa terendah yaitu 0,0601 mg/mL. Adapun penelitian Alrumman (2016) menyatakan bahwa kadar glukosa yang dihasilkan menggunakan limbah kurma sebagai substratnya pada konsentrasi 4% menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 0,02460 mg/mL. Peneliti lainnya juga melakukan pengujian pengaruh waktu sakarifikasi dalam produksi glukosa dan diperoleh laju peningkatan glukosa yang dihasilkan tertinggi pada lama waktu sakarifikasi selama 48 jam

menggunakan substrat sorgum (Radhika *et al.*, 2016). Sedangkan Saepulloh *et al.* (2017) mendapatkan bahwa glukosa yang dihasilkan tertinggi pada lama waktu sakarifikasi selama 72 jam. Peningkatan konsentrasi glukosa yang tinggi dihasilkan pada konsentrasi substrat 5% dengan waktu sakarifikasi selama 96 jam menunjukkan bahwa terjadinya interaksi antara enzim selulase dengan substrat yang tinggi. Interaksi antara enzim selulase dengan substrat selulosa akan membentuk kompleks enzim-substrat yang menghasilkan glukosa sebagai produk.

Residu selulosa

Hasil analisis residu selulosa setelah perlakuan sakarifikasi substrat brangkasan jagung menggunakan enzim selulase dalam menghasilkan glukosa sebagai produk akhirnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata residu selulosa setelah proses sakarifikasi brangkasan jagung

Konsentrasi Substrat (%)	Lama Sakarifikasi (jam)			
	24	48	72	96
2	28,31 ± 0,0035 a	24,30 ± 0,0070 e	20,70 ± 0,0070 i	18,33 ± 0,0070 m
3	28,03 ± 0,0035 b	24,06 ± 0,0070 f	20,45 ± 0,0035 j	18,16 ± 0,0070 n
4	27,72 ± 0,0070 c	23,89 ± 0,0035 g	20,24 ± 0,0070 k	17,97 ± 0,0070 o
5	27,40 ± 0,0070 d	23,65 ± 0,0035 h	20,06 ± 0,0035 l	17,75 ± 0,0070 p

Keterangan: notasi berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kesalahan 5% ($p < 0,05$).

Berdasarkan data yang diperoleh dari Tabel 3 bahwa rata-rata residu selulosa dari variasi konsentrasi substrat dan lama waktu sakarifikasi menunjukkan perbedaan yang nyata. Kadar residu selulosa tertinggi sebesar 28,31% dari konsentrasi substrat brangkasan jagung 2% dengan lama waktu sakarifikasi 24 sedangkan pada konsentrasi substrat brangkasan jagung 5% dengan lama waktu sakarifikasi 96 jam menghasilkan nilai rata-rata kadar residu selulosa terendah sebesar 17,75%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar selulosa cenderung masih tinggi dan belum terkonversi semuanya menjadi gula-gula sederhana berupa glukosa. Kadar selulosa yang masih tergolong tinggi ini disebabkan oleh rendahnya ketiga aktivitas enzim yang didapat yaitu endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase. Rendahnya aktivitas enzim membuat selulosa yang terkandung pada substrat tidak sepenuhnya dikonversi menjadi glukosa.

Hal ini juga didukung oleh lama waktu sakarifikasi yang masih kurang lama sehingga waktu yang dibutuhkan ketiga aktivitas enzim

tersebut tidak berjalan maksimal. Maka dengan penambahan lama waktu sakarifikasi yang lebih lama akan mengakibatkan residu selulosa yang didapatkan akan semakin rendah dan kadar glukosa yang didapatkan juga akan semakin tinggi. Menurut Taherzadeh *et al.* (2007) menyatakan bahwa proses sakarifikasi pada suhu yang tinggi dapat membantu melepaskan lignin dan hemiselulosa, serta dapat juga memecah lignin menjadi partikel yang lebih kecil. Sebab semakin banyak kadar selulosa yang terhidrolisis oleh enzim maka semakin banyak kadar glukosa yang dihasilkan.

Nilai pH

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat brangkasan jagung dan lama waktu sakarifikasi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai pH yang didapatkan dalam menghasilkan kadar glukosa. Nilai rata-rata pH terhadap kadar glukosa dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata pH pada proses sakarifikasi selulosa kasar brangkasan jagung

Konsentrasi Substrat (%)	Lama Sakarifikasi (jam)			
	24	48	72	96
2	5,4 ± 0,1414 h	5,5 ± 0,1414 gh	5,5 ± 0,1414 gh	5,6 ± 0,0707 g
3	5,6 ± 0,1414 fg	5,7 ± 0,1414 ef	5,8 ± 0,0707 de	5,8 ± 0,1414 cde
4	5,7 ± 0,1414 ef	5,8 ± 0,1414 cde	5,9 ± 0,1414 bc	5,9 ± 0,0707 cd
5	5,9 ± 0,1414 bc	5,9 ± 0,0707 cd	6,0 ± 0,1414 ab	6,1 ± 0,1414 a

Keterangan: notasi berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kesalahan 5% ($p < 0,05$).

Berdasarkan data yang diperoleh pada Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai rata-rata pH tertinggi sebesar 6,1 dari variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 96 jam yang tidak berbeda nyata dengan variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 72 jam. Sedangkan rata-rata pH terendah sebesar 5,4 dari variasi konsentrasi substrat 2% dan lama waktu sakarifikasi 24 jam yang tidak berbeda nyata dengan variasi konsentrasi substrat 2% dan lama waktu sakarifikasi 48 jam, serta variasi konsentrasi substrat 2% dan lama waktu sakarifikasi 72

jam. Dapat dilihat bahwa dari pH 5 sampai pH 6 konsentrasi glukosa semakin naik yaitu dari yang terendah sebesar 0,0601 mg/mL hingga yang paling tertinggi sebesar 0,3003 mg/mL. Putri *et al.* (2015) menyatakan bahwa konsentrasi glukosa tertinggi pada pH 6 sebesar 5,35 mg/mL. Kemudian pada saat pH hidrolisis berada pada pH 7 konsentrasi glukosa yang didapatkan menurun menjadi 3,13 mg/mL.

Peneliti menyimpulkan bahwa sesudah pH 6 mengalami penurunan dikarenakan enzim selulase yang bekerja pada pH yang

sudah mencapai pH optimum akan mengalami perubahan struktur atau muatan asam amino yang merupakan sisi aktif yang berfungsi dalam pengikatan substrat. Menurut Sutarno *et al.* (2012) bahwa jika enzim selulase sudah mencapai pH optimum akan mengakibatkan terganggunya interaksi antara sisi aktif enzim selulase dengan substrat selulosa sehingga konsentrasi selulosa yang dihasilkan menjadi rendah. Pada umumnya enzim aktif pada rentang pH yang sempit. Aktivitas kerja enzim selulase biasanya terjadi pada pH 4,5–5,5

(Taherzadeh *et al.*, 2007).

Total padatan terlarut

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat brangkasan jagung dan lama waktu sakarifikasi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai total padatan terlarut yang didapatkan. Nilai rata-rata total padatan terlarut terhadap kadar glukosa yang dihasilkan pada proses sakarifikasi enzimatis dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai rata-rata total padatan terlarut pada proses sakarifikasi selulosa kasar brangkasan jagung

Konsentrasi Substrat (%)	Lama Sakarifikasi (jam)			
	24	48	72	96
2	1,7 ± 0,1414 fg	1,6 ± 0,0000 g	1,7 ± 0,1414 fg	1,9 ± 0,1414 ef
3	1,7 ± 0,1414 fg	1,9 ± 0,1414 ef	2,1 ± 0,1414 de	2,1 ± 0,1414 de
4	2,1 ± 0,1414 de	2,1 ± 0,1414 de	2,3 ± 0,1414 bcd	2,5 ± 0,0707 ab
5	2,2 ± 0,0000 cd	2,4 ± 0,0000 bc	2,5 ± 0,1414 ab	2,7 ± 0,1414 a

Keterangan: notasi berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kesalahan 5% ($p < 0,05$).

Berdasarkan data yang diperoleh pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai rata-rata total padatan terlarut tertinggi sebesar 2,7°Brix dari variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 96 jam yang tidak berbeda nyata dengan variasi konsentrasi substrat 5% dan lama waktu sakarifikasi 72 jam, serta variasi konsentrasi substrat 4% dengan lama waktu sakarifikasi 96 jam. Sedangkan nilai rata-rata total padatan terlarut terendah sebesar 1,6°Brix dari variasi konsentrasi substrat 2% dan lama waktu sakarifikasi 48 jam yang tidak berbeda nyata dengan variasi konsentrasi substrat 2% dan lama waktu sakarifikasi 24 jam variasi konsentrasi substrat 2% dengan lama waktu sakarifikasi 72 jam, serta variasi konsentrasi substrat 3% dan lama waktu sakarifikasi 24 jam. Peningkatan total padatan terlarut yang sangat signifikan seiring meningkatnya konsentrasi substrat brangkasan jagung yang ditambahkan.

Total padatan terlarut merupakan jumlah selulosa yang berhasil diubah menjadi glukosa dan berupa selulosa yang tidak tersakarifikasi

selama proses inkubasi (Trisnaputri *et al.*, 2018). Peningkatan total padatan terlarut juga meningkat seiring meningkatnya lama waktu sakarifikasi yang dibutuhkan. Tabel 5 menunjukkan bahwa total padatan meningkat dari waktu sakarifikasi 24 jam hingga 96 jam. Menurut Buckle *et al.* (2007) bahwa semakin tinggi kadar glukosa yang didapatkan pada akhir proses hidrolisis maka total padatan terlarut yang didapatkan juga akan semakin besar. Ioelovich *et al.* (2011) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan dalam proses sakarifikasi, maka padatan terlarut yang didapatkan juga semakin bertambah. Hal itu disebabkan karena semakin besar peluang enzim untuk mengikat dan mengubah kandungan selulosa dalam substrat menjadi molekul-molekul sederhana berupa glukosa. Komponen yang terukur sebagai total padatan terlarut dapat berupa asam organik, sukrosa, gula reduksi, dan juga protein yang sangat berpengaruh terhadap nilai °Brix (Andriani *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Perlakuan konsentrasi substrat brangkasan jagung dan lama waktu sakarifikasi pada produksi glukosa sebagai produk akhirnya berpengaruh sangat nyata pada taraf kesalahan 5% dan 1% terhadap kadar glukosa, residu selulosa, nilai pH, dan total padatan terlarut yang dihasilkan. Pada perlakuan konsentrasi substrat selulosa kasar brangkasan jagung 5% dan lama waktu sakarifikasi 96 jam merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan kadar glukosa maksimum sebesar 0,3003 mg/mL, menghasilkan kadar padatan terlarut maksimum sebesar 2,7°Brix, sisa selulosa 17,75% dan dengan nilai pH sebesar 6,1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemenriktekdikti yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui skema Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) dan Universitas Udayana yang telah memberikan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrados, B.P., P. Choteborska, M. Galbe, and G. Zacchi. 2005. Etanol production from non-strach carbohydrates of wheat bran, *Bioresource Technology*, 96(7): 843–850.
- Alrumman, S.A. 2016. Enzymatic saccharification and fermentation of cellulosic date palm waste to glucose and lactic acid, *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1): 110–119.
- Andriani, S., dan Yunianta. 2015. Pembuatan sirup glukosa berantioksidan dari pati jahe emprit (*Zingiber officinale var. Rubrum*) secara hidrolisis enzimatis, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3): 1128–11.
- Buckle, K.A, R.A Edwards, G.H. Fleet, and M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan (Food Science). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Beukes, N., and B.I. Pletschke. 2011. Effect of alkaline *pre-treatment* on enzyme synergy for efficient hemicellulose hydrolysis in sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 102(8): 5207–5213.
- Datta. R. 1981. Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Component. *Biotechnol. Bioeng.*, P: 2167 – 2170
- Dar, A.M., K.D. Pawar, J.P. Jadhav, and R.S. Pandit. 2015. Isolation of cellulytic bacteria from the gastrointestinal tract of *Achatina fulica* and their evaluation form cellulose biodegration, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 98(15): 73–80.
- Duza, M.B, and S.A. Mastan. 2013. Isolation, Characterization and Screening of Enzyme Producing Bacteria from Different Soil Samples. *International Journal of pharma and bio sciences*, 4(2): 813–824.
- Ega, L. 2002. Kajian Sifat Fisik dan Kimia serta Pola Hidrolisis Pati Ubi Jalar Jenis Unggul Secara Enzimatis dan Asam (Tesis), Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Gultom, A. 2022. Pengaruh Konsentrasi Substrat Brangkasan Jagung dan Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri B2S8 (Skripsi), Bukit Jimbaran: Universitas Udayana.
- Gunam, I.B.W., N.M. Wartini, A.A.M.D. Anggreni, dan P.M. Suparyana. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidoksida sebelum proses sakarifikasi secara enzimatis menggunakan enzim selulase kasar dari *Aspergillus niger* FNU 6018, *Jurnal Teknologi*, 34: 1–9.
- Gunam I.B.W., N.S. Antara., A.A.M.D. Anggreni., Y. Setiyo., I.P.E. Wiguna., I.M.M. Wijaya., and I.W.W.P. Putra. 2019. Chemical pretreatment of lignocellulosic wates for cellulase production by *Aspergillus niger* FNU 6018. AIP Conference Proceedings International.

- Gunam, I.B.W., Y. Setiyo, N.S. Antara, I.M.M. Wijaya, I.W. Arnata, dan I.W.W.P. Putra. 2020. Enhanced delignification of corn straw with alkaline pretreatment at mild temperature, *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(2): 1022–1029.
- Humbird, D., R. Davis, L. Tao, C. Kinchin, D. Hsu, A. Aden, P. Schoen, J. Lucas, B. Olthof, M. Worley, and D. Sexton. 2011. Process design and economics for biochemical conversion of lignocellulosic biomass to ethanol: Dilute-acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. National Renewable Energy Lab Report No. TP-5100-47764.
- Ioelovich, M., and E. Morag. 2011. Effect of cellulose structure on enzymatic hydrolysis. *Bioresources Technology*, 6(3): 2818–2835.
- Ismawati, N., Nurwantoro., Y.B. Pramono. 2016. Nilai pH, total padatan terlarut, dan sifat sensoris yoghurt dengan penambahan ekstra bit. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 5(3): 1–5.
- Kaya, F., J.A. Heitmann, and Joyce, T.W. 2000. "Influence of lignin and its degradation products on enzymatic hydrolysis of xylan," *J. Biotechnol*, 80(3): 241-247.
- Lowry O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265–275.
- Lynd L.R., P.J. Weimer, and I.S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology, *Microbiology and Molecular Biology Review*, 66(3): 11–20.
- Ngangi. J., J. Pelealu., J. Warouw., and L. Mandey. 2013. Isolation and activity of cellulolytic bacteria isolated from hindgut of *Odontotermes* sp subteran termite on wasian (*Elmerrelia celebica*) an endemic wood to North Sulawesi, *International Journal of Science and Engineering Investigations*, 2(11): 8–16.
- Ningsih, B.A.R. 2017. Optimasi Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dalam Pembuatan Bioetanol dari Batang Kelapa Sawit dengan Metode Respon Permukaan. (Skripsi), Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Ouyang, J., Z. Li, X. Li., H. Ying., and Q. Yong. 2009. Enhanced enzymatic conversion and glucose production via two-step enzymatic hydrolysis of corncob residue from xylo-oligosaccharides producer's waste. *Bioresources Technology*, 4(4): 1586–599.
- Purba, N., I.B.W., Gunam, dan I M.M.Wijaya, 2020. Produksi enzim selulase kasar dari isolat bakteri B2S8 menggunakan substrat brangkasan jagung dengan perlakuan konsentrasi inokulum dan komposisi media yang berbeda, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2): 267–278.
- Putri, W.O., A. Amri., dan S.P. Utami. 2015. Pengaruh pH pada proses hidrolisis mikroalga *Chlorella vulgaris* menjadi glukosa menggunakan enzim selulase, *JOM FTeknik*, 2(1): 1-5.
- Radhika, K., T. Chiranjeevi, A. Uma, A.V. Umakanth, and B. Harshini. 2016. Parameter Optimization of Enzyme Saccharification for Low Lignin High Biomass Sorghum (CSV 15 X IS 21891)-1-1-1-1 and Estimation of Process Kinetics, *International Journal of Engineering and Science*, 5(9): 20–27.
- Rastogi, G., Muppidi, G.L., Gurrarn, R.N., Adhikari, A., Bischoff, K.M., Hughes, S.R., Apel, W.A., Bang, S.S., Dixon, D.J. and Sani, R.K. 2009. Isolation and Characterization of Cellulose-Degrading Bacteria from the Deep Subsurface of the Homestake Gold Mine, Lead, South Dakota, USA. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*. 36(4): 585-697.
- Rohmah, H.F., S. Ratna, P. Artini, and L.A.S. Siti. 2019. Optimization of cellulase production from cellulolytic fungi

- Thielaviopsis ethacetica* SLL 10 isolated from salak leaf litter (*Salacca edulis*). Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia, 5(2): 150–154.
- Romli, M., Suprihatin., Nastiti, S.I., dan Angga, Y.A. 2010. Potensi Limbah Biomassa Pertanian Sebagai Bahan Baku Produksi Bioenergi (Biogas). Prosiding Seminar Tjipto Utomo. Institut Teknologi Nasional, Bandung.
- Saepulloh., N.A Mukharomah, S.S. Rina, S. Krisna, dan P.B. Asthary. 2017. Sakarifikasi lumpur primer industri kertas secara *fed batch* menjadi glukosa untuk pembuatan bioetanol, *Jurnal Selulosa*, 7(2): 69–78.
- Sarkar, K.G., B. Saratupa, and A. Kaustav. 2012. Bioethanol production from agricultural wastes, *Renewable Energy*, 37(1): 19–27.
- Sutarno, R.J., T.A. Zaharah, dan N. Idiawati. 2012. Hidrolisis enzimatik selulosa dari ampas sago menggunakan campuran selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(1): 52–57.
- Taherzadeh, M.J., and K. Karimi. 2007. Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production, *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9): 1621–1651.
- Trisnaputri, A.C., N.R. Usman, M.A. Mustawa, and A.M. Jaya. 2018. Production banana glucose syrup with the α -Amylase supplementation, *International Journal of Applied Biology*, 2(2): 1–5.
- Yabefa, J.A., Y. Ocholi, and G.F. Odubo. 2014. Effect of substrate and cell loading on the hydrolysis of β -1,4 glycosidic bond in orange mesocarp (*Citrus sinensis*) by *Trichoderma reesei* for glucose production, *Asian Journal of Plant Science and Research*, 4(4): 17–20.
- Yulianti, L., Haslina, dan D. Larasati. 2019. Pengaruh Lama Waktu Pengeringan Terhadap Sifat Kimia, Fitokimia dan Organoleptik Tepung Tongkol Jagung, (Skripsi), Semarang: Universitas Semarang.
- Zhang, Y., M. Himmel, and J. Mielenz. 2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selecton strategies, *Biotechnology Advances*, 24(5): 452–481.