

FERMENTASI TEPUNG KULIT UBI KAYU OLEH *TRICHODERMA HARZIANUM* UNTUK MEMPRODUKSI GLUKOSA

Ika Gusriani*, dan Hidayat Koto

Program studi Teknologi Industri Pertanian Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas
Pertanian Universitas Bengkulu

* *ikagusriani@unib.ac.id*

ABSTRACT

Cassava peel is a waste product of Cassava that has not been utilized optimally, utilization of cassava peel is constrained by the components of Lignocellulose, hemicellulose and lignin which are difficult to break down into simpler forms so that it is easier to process them for various industrial purposes. Lignocellulosic components can be remodeled in various ways, one of which is the use of the Lignocellulosic fungus Trichoderma harzianum. The purposes of this study was to determine the optimum conditions of fermentation by Trichoderma harzianum to cassava peel waste in producing glucose. The research was carried out in several stages, namely: preparation of Media and Reagents, testing and Clarification of Trichoderma harzianum, Fermentation and enzyme filtrate Collection and sample measurement. Fermentation reached its optimum condition on day 4 with the number of conidia reaching $1,05 \times 10^7$ cells/ml. Optimum pH for growth of Trichoderma harzianum which produces the highest enzyme activity is pH 5, with the optimum concentrations of substrate usege being 1% producing 0,74 g of glucose in every 1 g sample of cassava peel.

Keywords : Cassava peel, Enzyme activity, Glucose, Trichoderma harzianum

ABSTRAK

Kulit ubi kayu merupakan limbah produk ubi kayu yang belum dimanfaatkan secara optimal, pemanfaatan pada kulit ubi kayu terkendala komponen lignoselulosa, hemiselulosa dan lignin yang sulit untuk diuraikan menjadi bentuk lebih sederhana agar lebih mudah dalam mengolahnya untuk berbagai keperluan industri. Perombakan komponen lignoselulosa dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya yaitu penggunaan Jamur lignoselulosa *Trichoderma harziaum*. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan kondisi optimum fermentasi oleh *Trichoderma harzianum* terhadap limbah kulit ubi kayu dalam menghasilkan glukosa. Penelitian dilakukan dengan beberapa tahap yaitu: penyiapan media dan reagen, pengujian dan klarifikasi *Trichoderma harzianum*, fermentasi dan pengambilan filtrat enzim serta pengukuran sampel. Fermentasi mencapai kondisi optimum pada hari ke-4 dengan jumlah konidia mencapai $1,05 \times 10^7$ sel/ml. pH Optimum pertumbuhan *Trichoderma harzianum* yang

menghasilkan aktivitas enzim tertinggi adalah pH 5, dengan konsentrasi optimum penggunaan substrat yaitu 1% menghasilkan 0,74 gr glukosa pada setiap 1 gr sampel kulit ubi kayu.

Kata Kunci: Aktivitas enzim, glukosa, kulit ubi kayu, *Trichoderma harzianum*

*Submit: 6 April 2022 * Revisi: 18 April 2022 * Accepted: 21 April 2022 * Publish: 29 Mei 2022*

PENDAHULUAN

Produksi Ubi kayu di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun, hal ini dapat dilihat dari jumlah produksi pada tahun 2019 yakni 13,4 juta ton, sedangkan tahun 2020 mencapai 18,5 juta ton [1] Peningkatan produksi ubi kayu tersebut tentu berimbas pada peningkatan limbah kulit ubi kayu. Limbah kulit ubi kayu mengandung komponen utama yaitu lignoselulosa.

Lignoselulosa adalah komponen utama tanaman yang menggambarkan jumlah sumber bahan organik yang dapat diperbaharui. Pada umumnya lignoselulosa mengandung tiga komponen utama yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin [2]. Kulit ubi kayu memiliki 43,63% selulosa, 36,58% hemiselulosa, 7,65% lignin dan 10,38% pati [3]. Komponen lignoselulosa yang cukup tinggi berpotensi untuk dijadikan sumber gula sederhana dalam hal ini glukosa yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut pada pembuatan bioetanol atau produk lain yang memiliki nilai ekonomis lebih tinggi. Ditambahkan oleh [4] senyawa utama yang terdapat di dalam bahan baku nabati yang dapat digunakan untuk menghasilkan bioetanol adalah glukosa. Perombakan bahan lignoselulosa menjadi gula sederhana berupa glukosa dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya perombakan secara biologis dengan memanfaatkan peran serta enzim yaitu selulase.

Enzim selulase merupakan kompleks enzim yang dapat mengkatalis penguraian selulosa menjadi glukosa sehingga dapat dimanfaatkan dengan optimal. Salah satu cara menghasilkan enzim selulase adalah dengan memanfaatkan mikroba selulolitik. Mikroba selulolitik seperti bakteri, kapang, jamur dan protozoa merupakan agen penghasil enzim selulase. Berdasarkan penelitian Susanti (2007) melaporkan bahwa diantara *Trichoderma viridie*, *Trichoderma harzianum* dan *Aspergillus niger*, yang memberikan hasil paling tinggi dalam mendegradasi selulosa adalah *Trichoderma harzianum*. Ditambahkan oleh Danielson (2002) bahwa salah satu mikroba selulolitik yang telah dikenal luas menghasilkan enzim selulase adalah *Trichoderma harzianum*.

Trichoderma harzianum adalah kapang yang memiliki distribusi yang luas dan mempunyai tingkat pertumbuhan yang cukup cepat, konidia yang dihasilkan berlimpah, mampu bertahan pada kondisi kurang menguntungkan [5]. *Trichoderma sp* khususnya *Trichoderma harzianum* berperan menguraikan lignoselulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroba tersebut akan mendegradasi selulosa menjadi gula sederhana. Waktu fermentasi berpengaruh pada kadar glukosa yang dihasilkan [6].

Penelitian ini bertujuan untuk a). menentukan waktu optimum dalam

menghasilkan aktivitas enzim tertinggi dengan jumlah konidia terbanyak selama fermentasi b). Menentukan kondisi pH dan Konsentrasi optimum substrat untuk menghasilkan aktivitas enzim tertinggi, c). Menentukan jumlah glukosa yang mampu dihasilkan setiap gram tepung kulit ubi kayu.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah tepung kulit ubi kayu yang diperoleh dari *home industri* Tapai, isolat murni *Trichoderma harzianum* dari Balai Pengembangan dan Pelatihan Pertanian yang telah ditumbuhkan pada media PDA (*Potatoes Dekstrosa Agar*), akuades, kapas, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, Media PDA, *water agar*, APDB (*Accidified Potatoes Dekstrosa Broth*), *tissue*, alkohol 70%, CMC 1%, buffer asetat, reagen Nelson, fosfomolibdat 85%,

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *object glass*, *cover glass*, *autoclave*, peralatan gelas seperti erlenmeyer, cawan petri, *testube*, *brighfield microscope*, inkubator, vorteks, *Laminar air flow*, *shaker water bath*, *Haemocytometer*, *Spectrofotometer*.

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan dalam empat tahap yaitu: pertama penyiapan kultur, larutan, reagen dan buffer; kedua, pengujian dan klarifikasi *Trichoderma harzianum* yang digunakan; ketiga, pelaksanaan fermentasi, pada tahap ini dilakukan proses fermentasi menggunakan *Shaker Water Bath*; keempat, Pengambilan filtrat enzim dari hasil fermentasi serta pengukuran jumlah konidia *Trichoderma harzianum* dan aktivitas enzim selama fermentasi.

Setelah diketahui lama fermentasi dengan aktivitas enzim tertinggi, selanjutnya digunakan sebagai waktu optimum produksi enzim selulase. Tahap terakhir, pengujian kadar pH dan konsentrasi kulit ubi kayu yang optimum dalam memproduksi glukosa.

Tahap 1. Penyiapan Media dan Reagen

a. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) [7]

Bahan yang digunakan untuk pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) adalah kentang 100 gr, agar 10 gr dan dekstrosa 10 gr. Kentang yang telah dikupas kulitnya dicuci bersih, kemudian dipotong-potong seukuran dadu, selanjutnya ditimbang sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan. Kentang tersebut direbus dalam 1 liter akuades sehingga mendidih, setelah mendidih, saring dan ambil larutan filtrat kentang campur dengan agar dan dekstrosa yang telah dipersiapkan sesuai dengan kebutuhan, aduk-aduk di dalam api kecil, bila dirasa homogen, pindahkan ke dalam erlenmeyer yang telah disterilkan dan ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil, selanjutnya medium siap disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit [8].

b. Pembuatan Media APDB (*Acidified Potatoes Dextrosa Broth*) [7]

Komposisi seperti PDA, tetapi tiak memakai agar sebagai pematat. Proses pembuatannya pun lebih sederhana, pencampuran ekstrak kentang dan dekstrosa sampai homogen, selanjutnya disterilisasi, pH diatur 3,5-4,0 [9]. Nilai pH pertumbuhan untuk *Trichoderma harzianum* adalah 5,0 sehingga pH diatur menjadi 5,0 dengan menggunakan larutan asam tartarat 10%.

c. Pembuatan Media WA (*Water Agar*)

Komposisi seperti PDA, tetapi tidak menggunakan ekstrak kentang dan dekstrosa, hanya menggunakan agar dan akuades.

d. Reagen Nelson [10]

Larutan A: 12,5 gr Natrium karbonat anhidrat; 12,5 gr Kalium natrium Tartarat, 10 gr natrium Hidroksi karbonat dan 100 gr Natrium Sulfat anhidrat dilarutkan ke dalam 500 ml akuades.

Larutan B: 7,5 gr Cupper Sulfat 5 Hidrat dilarutkan ke dalam 50 ml akuades dan ditambahkan 1 tetes Asam Sulfat pekat. Reagen Nelson dibuat dengan mencampurkan 25 volume Bagian A dan 1 volume bagian B.

e. Reagen Fosfomolibdat [10]

Dilarutkan 7 gr asam molibdat dan 1 gr natrium Tungstat dalam 70 ml Natrium Hidroksida 5% dan dididihkan selama 5 menit untuk menghilangkan amoniak. Kemudian didinginkan dan ditambah 25 ml asam fosfat 85%, ditambahkan dengan akuades hingga volume 100 ml.

f. Substrat Carboxy Metil Cellulosa (CMC) 1% [11]

Substrat CMC dengan konsentrasi 1% (b/v) atau 1 gr yang dilarutkan ke dalam 100 ml dan dipanaskan sampai mendidih.

Tahap 2. Pengujian dan klarifikasi Trichoderma harzianum

Pengamatan morfologi *Trichoderma harzianum* dilakukan dengan menggunakan metode Riddel (*Slide culture*) yaitu: siapkan *Water agar*, *object glass*, *cover glass*, *tissue* basah dan pipet plastik yang telah dipotong dengan ukuran ± 3 cm,

letakkan di dalam cawan petri dan sterilkan seluruh bahan dan alat yang digunakan dengan *autoclave*. Setelah steril, letakkan *object glass* di atas potongan pipet yang berada di dalam cawan petri, selanjutnya potong media *Water Agar* yang ada di dalam cawan petri dengan ukuran $\pm (6 \text{ mm} \times 6 \text{ mm} \times 2 \text{ mm})$ diletakkan pada bagian tengah *object glass*. Inokulasikan dengan koloni *Trichoderma harzianum* pada bagian atas potongan agar, kemudian tutup potongan agar dengan *cover glass*. Inkubasi pada suhu kamar selama 3 x 24 jam. Amati menggunakan mikroskop untuk melihat vesikel, permukaan spora dan konidiofor pada pembesaran 10x100. [12]. Dari hasil pengamatan diperoleh gambar miselium, hifa, dan konidia. Lakukan perbandingan dengan literatur untuk dapat memastikan bahwa preparat yang ditumbuhkan adalah *Trichoderma harzianum*. Selanjutnya isolat ditumbuhkan pada media APDB (*Acidified Potatoes Dekstrosa Broth*) biarkan tumbuh pada suhu 30°C selama 7 hari.

Tahap 3. Fermentasi

Siapkan 7 erlenmeyer 250 ml, masukkan ke dalam erlenmeyer tersebut 1 gr urea dan 5 gr tepung kulit ubi kayu selanjutnya tambahkan akuades 95 ml, tutup rapat menggunakan kapas, dan aluminium foil, lakukan sterilisasi menggunakan *autoclave*. Isolat yang telah ditumbuhkan pada media APDB, divorteks sehingga homogen, ambil 5 ml suspensi selanjutnya dimasukkan ke masing-masing erlenmeyer yang telah disiapkan sebelumnya, lakukan secara aseptis. Beri label pada masing-masing erlenmeyer dan siap untuk difermentasi dalam *shaker water bath* selama 7 hari pada suhu 30°C dengan kecepatan 110 rpm.

Tahap 4. Pengambilan Filtrat Enzim serta Pengukuran Sampel [10] dan [11]

Setiap hari ambil satu erlenmeyer untuk dilakukan perhitungan jumlah konidia kapang *Trichoderma harzianum* dan pengujian aktivitas enzim. Erlenmeyer yang telah dikeluarkan dari *shaker water bath*, diambil 5 ml sampel filtrat dan dipindahkan ke dalam *testube*, tutup rapat menggunakan kapas dan aluminium foil, lapiasi dengan plastik wrap, kemudian siap dilakukan perhitungan jumlah konidia yang ada. Sisa filtrat disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam *testube* yang berbeda, tutup rapat menggunakan kapas, dan aluminium foil dan lapiasi plastik wrap, simpan di dalam kulkas pada suhu 5°C untuk dilakukan pengujian selanjutnya.

- a. Perhitungan konidia *Trichoderma harzianum* menggunakan *haemocytometer*.

Haemocytometer dibersihkan menggunakan alkohol 70%, lalu dikeringkan menggunakan *tissue*. Sampel filtrat 5 ml di dalam *testube* dikocok dan dihomogenkan, diambil satu tetes (50µml) suspensi dan diteteskan ke parit kaca *Haemocytometer*. Lakukan pengamatan di atas meja benda kemudian cari fokusnya pada pembesaran pembesaran 40 x 10. Lakukan perhitungan secara kasar apakah diperlukan pengenceran atau tidak. Jika di dalam satu kotak sedang terdapat sel-sel yang banyak dan bertumpuk, maka diperlukan pengenceran dengan perbandingan 1:5 atau 1:10.

Jumlah Konidia sel/ml = Jumlah rata-rata x 2,5 x 10⁵ x Faktor Pengenceran

- b. Penentuan Waktu Optimum aktivitas enzim selulase [10] dan [11]

Pada setiap waktu perhitungan konidia *Trichoderma harzianum*,

dilakukan pengujian aktivitas enzim selulase pada panjang gelombang 560 nm. Waktu fermentasi dengan aktivitas enzim selulase tertinggi digunakan sebagai waktu optimum produksi selulase.

Tahap 5. Pengujian kadar pH dan konsentrasi optimum dalam memproduksi glukosa [10] dan [11]

Hasil penyaringan sampel pada tahap sebelumnya merupakan ekstrak filtrat kasar enzim selulase yang telah dipanen berdasarkan aktivitas selulase pada waktu fermentasi tertinggi, selanjutnya dilakukan pengujian pH dan konsentrasi yang bervariasi untuk mengetahui kombinasi aktivitas optimum enzim selulase. Pengujian pH optimum pada enzim selulase dilakukan dengan menggunakan Metode Somogy-Nelson. Metode Somogy-Nelson ini dipilih karena memiliki kemampuan mendeteksi kisaran relatif perubahan gula yang tinggi, sedikit interferensi dari enzim dan biaya yang relatif lebih murah [13].

- a. Penentuan pH optimum [10] dan [11]

Tabung reaksi dimasukkan 1 ml CMC 1% dan 1 ml tepung kulit ubi kayu 1% tambahkan 1 ml buffer asetat 0,2 M dengan variasi pH 4; 4,5; 5 dan 5,5 dan tambahkan 1 ml ekstrak enzim dan divortex, selanjutnya diinkubasi 30 menit pada suhu 40°C. Enzim dinaktifkan dengan mencelupkan pada air mendidih selama 20 menit. Kemudian didinginkan dengan segera sampai suhu 26°C. Selanjutnya tambahkan 1 ml reagen Nelson dipanaskan selama 20 menit didinginkan sampai suhu 26°C, tambahkan 1 ml reagen fosfomolibdat 85% dan dikocok hingga sempurna, kemudian tambahkan 5 ml akuades dan diamkan selama 30 menit untuk menyempurnakan reaksi. Absorban masing-masing larutan

diukur pada panjang gelombang 560 nm. Sebagai blanko digunakan akuades yang diberi perlakuan yang sama dengan sampel tetapi tanpa penambahan substrat CMC 1% dan filtrat enzim.

b. Penentuan konsentrasi substrat optimum [10] dan [11]

Sebanyak 1 ml buffer asetat 0,2 M pH optimum yang diperoleh dari pengujian sebelumnya dan 1 ml ekstrak enzim divortex, ditambahkan 1 ml substrat CMC dan tepung kulit ubi kayu dengan variasi konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 (b/v), inkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit. Enzim diinaktifkan dengan mencelupkan pada air mendidih selama 20 menit. Kemudian didinginkan dengan segera sampai suhu 26°C. Selanjutnya

tambahkan 1 ml reagen Nelson dipanaskan selama 20 menit dinginkan sampai suhu 26°C, tambahkan 1 ml reagen Fosfomolibdat 85% dan dikocok hingga sempurna, kemudian tambahkan 5 ml akuades dan diamkan selama 30 menit untuk menyempurnakan reaksi. Absorban masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 560 nm.

Setelah diperoleh hasil pengukuran absorban tertinggi pada pH dan konsentrasi optimum, dilakukan perhitungan konsentrasi glukosa yang dihasilkan. Adapun perhitungan konsentrasi glukosa, perbandingan relatif larutan glukosa, dan perhitungan kadar glukosa adalah dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Sampel } x = \frac{\text{absorban sampel}}{\text{absorban larutan standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

$$\text{Kadar glukosa} = x (\text{konsentrasi glukosa}) \times \text{faktor pengenceran}$$

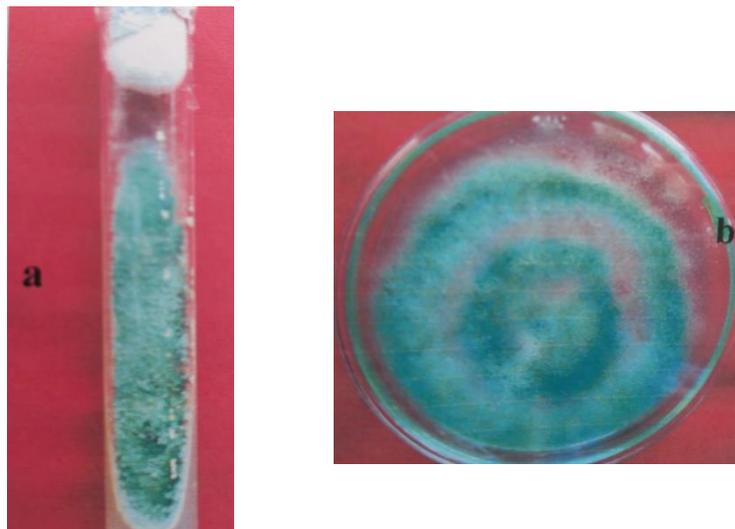
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian dan klarifikasi *Trichoderma harzianum*

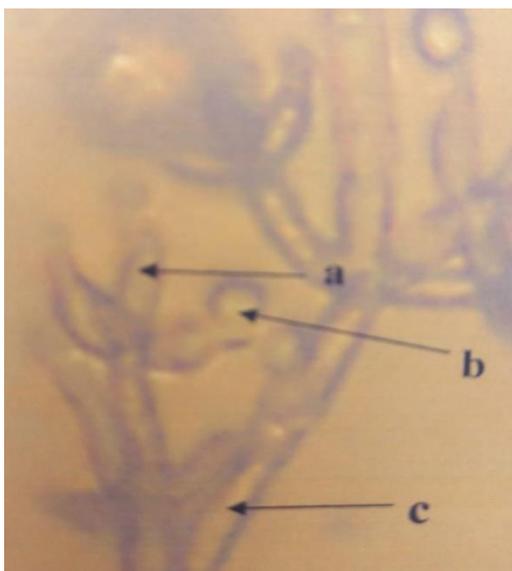
Pengamatan morfologi dan perbandingan hasil isolat *Trichoderma harzianum* yang sebelumnya telah diperoleh dari Balai Perlindungan Tanaman Pangan Hortikultura setelah dilakukan peremajaan dan dimurnikan dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada pengamatan makroskopis, sampel memiliki pertumbuhan miselium berwarna hijau botol bercampur warna putih dan tumbuh memenuhi cawan petridish pada hari ke 7. Koloni yang terlihat berwarna hijau muda sampai

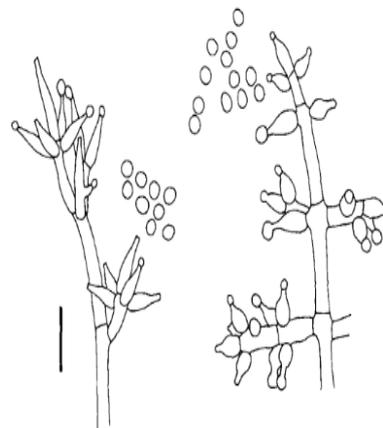
hijau tua. [14] menambahkan bahwa *Trichoderma harzianum* memiliki ciri menonjol antara lain koloninya berwarna hijau muda sampai hijau tua yang memproduksi konidia aseksual berbentuk globus dengan pertumbuhan yang cepat. Pertumbuhan miselium membentuk lingkaran seperti cincin yang dipenuhi warna hijau botol, pada cawan petri pada Gambar 1.b dapat dilihat bahwa *Trichoderma harzianum* membentuk dua lapis cincin hal ini sesuai dengan pernyataan [14] pada media PDA, *Trichoderma harzianum* membentuk 1-2 cincin konsentris dengan produksi konidia hijau. Penampakan mikroskopis sampel *Trichoderma harzianum* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 1. Penampakan Secara Makroskopis *Trichoderma harzianum* Setelah Diremajakan
a). Pada Media PDA Miring dan b). Pada Media PDA di Cawan Petri



Gambar 2. Penampakan Mikroskopis *Trichoderma harzianum*. a) Fialid, b) Konidia dan c). Konidiofor



Gambar 3. Penampakan *Trichoderma harzianum* [20]

Penampakan secara mikroskopis menunjukkan *Trichoderma harzianum* memiliki tiga cabang fialid berupa botol dengan ujung yang meruncing dan pada ujung fialid terdapat konidia yang berbentuk bulat. Ditambahkan oleh [15] bahwa konidia yang terdapat diujung fialid berbentuk bulat, berdingding rata

dengan warna hijau suram, hijau keputihan, hijau terang atau agak kehijauan. Selanjutnya, bila dibandingkan dengan Gambar 3 sebagai referensi mikroskopis, dapat dipastikan bahwa sampel yang digunakan terbukti merupakan *Trichoderma harzianum*.

Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Jumlah Konidia dan Aktivitas Enzim yang dihasilkan oleh *Trichoderma harzianum*

Fermentasi dilakukan dengan menetapkan kondisi awal berupa penggunaan *Trichoderma harzianum* sebanyak 5% dari volume media pertumbuhan yang telah dikondisikan pada suasana asam agar diperoleh pertumbuhan *Trichoderma harzianum* yang optimal. Sejalan dengan pendapat

[16] yang menyatakan bahwa jamur/kapang menyukai pH rendah dan optimumnya berkisar 4-6. Adapun media yang digunakan yakni *Acidified Potatoes Dekstroza Broth* (APDB) pada pH 5 hal ini sesuai pendapat [17], 5 gr substrat tepung kulit ubi kayu (sebagai sumber karbon), 1 gr urea sebagai sumber nitrogen pada suhu 30°C dengan kecepatan adukan (*shaker*) 110 rpm selama fermentasi. Perhitungan jumlah konidia *Trichoderma harzianum* selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 1.

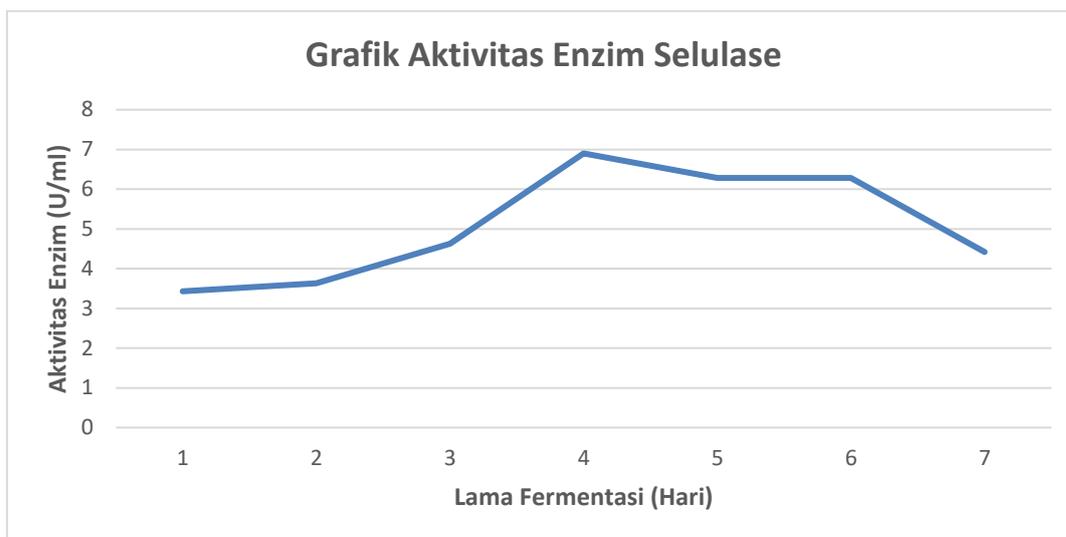
Tabel 1. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Jumlah Konidia *Trichoderma harzianum*

No.	Fermentasi hari ke-	Jumlah Konidia (sel/ml)
1	1	6.5×10^6
2	2	7.5×10^6
3	3	9.0×10^6
4	4	1.05×10^7
5	5	1.02×10^7
6	6	1.01×10^7
7	7	8.5×10^6

Jumlah konidia *Trichoderma harzianum* mencapai puncaknya pada fermentasi hari ke-4 dengan jumlah 1.05×10^7 sel/ml, dimana pada kondisi ini, *Trichoderma harzianum* telah melewati fase adaptasi dan dapat memanfaatkan seluruh sumber nutrient yang ada secara optimal. Penelitian ini menggunakan substrat tepung ubi kayu sebanyak 5 gr sebagai sumber karbon yang didukung oleh penelitian [18] menyatakan bahwa konsentrasi gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi sabut 5 gr/ml dan konsentrasi inokulum *Trichoderma sp* 5 gr/ml, yaitu sebesar 0,7999 ml/L, pada pH 5 dengan waktu fermentasi 72 jam.

Pengukuran aktivitas enzim pada pH 5, perhitungan aktivitas enzim yang dialurkan terhadap lama fermentasi dengan persamaan perbandingan relatif glukosa dapat dilihat pada Gambar 4.

Satu unit aktivitas enzim adalah banyaknya enzim yang dapat memproduksi 1 μ mol glukosa per menit. Pada grafik di atas, aktivitas enzim yang diproduksi dari kulit ubi kayu dengan menggunakan pH 5 mencapai titik optimum pada hari ke-4, jumlah enzim yang diekresikan semakin banyak seiring dengan pertumbuhan jamur. Melewati hari ke-4, aktivitas enzim semakin berkurang karena nutrien sebagai sumber energi untuk mensintesis enzim mulai habis.



Gambar 4. Grafik aktivitas Enzim Selulase selama Proses fermentasi

Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma harzianum* pada substrat Kulit Ubi Kayu

Kemampuan enzim mendegradasi substrat dipengaruhi oleh lingkungan ideal untuk aktivitas enzim tersebut, diantaranya yaitu kondisi pH dan konsentrasi substrat

a. Nilai pH Optimum

Kondisi pH sangat menentukan aktivitas enzim selulase, untuk menentukan pH optimum, dilakukan reaksi enzimatis pada suhu 40°C selama 30 menit menggunakan tepung Kulit Ubi Kayu dengan konsentrasi 1% sedangkan variasi pH dilakukan pada larutan buffer yang ditambahkan pH 4; 4,5; 5 dan 5,5. Metode yang digunakan adalah dengan mengukur gula reduksi yang dihasilkan dengan Somogyi-Nelson.

Setelah dilakukan perubahan pH, diperoleh kurva penentuan pH optimum supernatan yang dihasilkan dari media produksi selulosa tepung kulit ubi kayu seperti di Tabel 2.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa aktivitas enzim berubah dengan berubahnya pH. Pada penelitian ini diperoleh pH optimum kulit ubi kayu pada pH 5 dengan aktivitas enzim sebesar 5,35 U/ml. Enzim bekerja pada pH tertentu, umumnya pada pH sekitar 5-8. Setiap enzim mempunyai pH optimum yang khas. Enzim yang sama sering pH optimumnya berbeda, tergantung dari mana enzim itu diperoleh. Misal, selulase yang diperoleh dari jamur *Trichoderma harzianum* pada bahan kulit ubi kayu memiliki pH optimum 5, sedangkan enzim yang sama yang dihasilkan oleh jamur yang sama dengan menggunakan bahan serbuk gergaji mempunyai pH optimum 5,2 [11] dan enzim selulase dari bakteri *Bacillus amyloliquenfaciens* dengan menggunakan serbuk gergaji mempunyai pH 5,4. [10] Ditambahkan oleh [19], disekitar pH optimum yaitu pH antara 5 dan 5,4 aktivitas enzim masih mempunyai stabilitas yang tinggi yang disebut kestabilan mantab.

Trichoderma sp adalah salah satu penghasil selulase terbaik, berperan mengurai lignoselulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Enzim selulase yang dihasilkan tersebut

mendegradasi selulosa menjadi gula. Waktu fermentasi berpengaruh pada kadar glukosa yang dihasilkan. Proses fermentasi jerami padi menggunakan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* rasio 1:2, kadar gula tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi 64 jam dengan kadar 16.884%. [6]. Penelitian tentang

produksi glukosa menggunakan *Trichoderma* dilakukan oleh [18] menyatakan bahwa konsentrasi gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi sabut 5 gr/ml dan konsentrasi inokulum *Trichoderma sp* 5 gr/ml, yaitu sebesar 0,7999 ml/L, pada pH 5 dengan waktu fermentasi 72 jam.

Tabel 2. Pengaruh Perubahan pH terhadap Aktivitas Enzim

pH	Kadar Glukosa ($\mu\text{g/ml}$)	Aktivitas Enzim (U/ml)
4	4062,5	3,76
4,5	4843,75	4,48
5	5781,25	5,35
5,5	4821,43	4,46

b. Konsentrasi Optimum

Substrat tepung kulit ubi kayu divariasikan konsentrasinya antara 0,5-2%. Penentuan konsentrasi substrat optimum dilakukan dengan menggunakan pH 5 sebagai pH optimum hasil penentuan sebelumnya, suhu

inkubasi 40°C selama 30 menit, digunakan sebagai suhu dan lama inkubasi optimum enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma harzianum* yang berasal dari penelitian [11]. Pengaruh konsentrasi substrat enzim selulase dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Ubi kayu terhadap aktivitas Enzim

Konsentrasi Tepung kulit ubi kayu (%)	Kadar Gula ($\mu\text{g/ml}$)	Aktivitas enzim (U/ml)
0,5	3839,29	3,55
1	7455,36	6,90
1,5	6941,96	6,42
2	5691,96	5,27

Peningkatan konsentrasi substrat dapat menyebabkan meningkatnya aktivitas enzim semapai tercapai aktivitas optimum. Pada Tabel di atas, aktivitas optimum enzim selulosa dengan menggunakan substrat tepung kulit ubi

kayu diperoleh titik optimum berada pada konsentrasi 1%. Dengan aktivitas sebesar 6,90 U/ml dengan kadar glukosa sebesar 7455,36 $\mu\text{g/ml}$.

7455,36 $\mu\text{g/ml}$ berasal dari konsentrasi 1 gr kulit ubi kayu salam 100 ml akuades.

$$\frac{1 \text{ gr tepung kulit ubi kayu}}{100 \text{ ml akuades}} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

Pada 10 mg/ml kulit ubi kayu mengandung 7455,36 $\mu\text{g/ml}$ glukosa atau 74,55% yield.

10 mg/ml = 7,455 mg/ml glukosa atau setiap gram kulit ubi kayu mengandung 0,74 gr glukosa.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Waktu optimum menghasilkan glukosa tertinggi pada hari ke-4 dengan jumlah konidia *Trichoderma harzianum* mencapai $1,05 \times 10^7$ sel/ml
2. Aktivitas enzim tertinggi adalah pH 5, sedangkan konsentrasi substrat tepung kulit ubi kayu yang optimum adalah 1%
3. Kadar glukosa tertinggi dihasilkan pada kondisi optimum adalah 74,55% (b/b) dengan nilai konversi adalah 1 gr tepung kulit ubi kayu menghasilkan 0,74 gr glukosa.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan sebagai berikut:

1. Menambahkan faktor-faktor lingkungan yang lebih lengkap seperti suhu dan lama inkubasi untuk menunjang optimalisasi aktivitas enzim selulase
2. Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan perbandingan hasil glukosa antara fermentasi menggunakan *Trichoderma harzianum* dengan yang tidak.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, *Laporan Tahunan Direktorat Jenderal Tanaman Pangan*. Jakarta, 2020.
- [2] J. Pérez, J. Muñoz-Dorado, T. De La Rubia, and J. Martínez, "Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview," *Int. Microbiol.*, vol. 5, no. 2, pp. 53–63, 2002, doi: 10.1007/s10123-002-0062-3.
- [3] A. Artiyani and E. S. Soedjono, "Bioetanol dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisis dan Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*," *Pros. Semin. Nas. Manaj. Teknol. XIII*, pp. 1–8, 2011.
- [4] K. P. Candra, Sarwono, and Sarinah, "Study on bioethanol production using red seaweed *Eucheuma cottonii* from Bontang sea water," *J. Coast. Dev.*, vol. 15, no. 1, pp. 45–50, 2011.
- [5] P. Wahyudi, U. Suwahyono, and S. Mulyati, "PERTUMBUHAN *Trichoderma harzianum* pada Medium yang Mengandung Xylan," 1999.
- [6] O. Jumadi and W. Caronge, *Trichoderma dan pemanfaatan*. Makasar: Biologi FMIPA Universitas Negeri Makasar, 2021.
- [7] S. Fardiaz, *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada, 1993.
- [8] W. Swandi, N. Ilmi, and I. Rahim, "Pertumbuhan Isolat Jamur Tiram (*Pleurotus* sp.) Pada Berbagai Media Tumbuh," *Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetah. dan Teknol.*, vol. 1, no. April, pp. 131–136, 2018.
- [9] J. E. Herskovitz, R. W. Worobo, and J. M. Goddard, "The Role of Solid Support Bound Metal Chelators on System-Dependent Synergy and Antagonism with Nisin," *J. Food Sci.*, vol. 84, no. 3, pp. 580–589, 2019, doi: 10.1111/1750-3841.14444.
- [10] N. Husnah, "Produksi dan

- Karakterisaasi Enzim Selulase Bacillus amyloliquefaciens Fakumoto dalam media substrat Serbuk Gergaji,” Universitas Andalas, 2008.
- [11] A. Amran, “Produksi dan Karakterisasi Enzim Selulase Jaur Trichoderma harzianum Rifai pada Substrat Serbuk Gergaji,” Universitas Andalas, 2008.
- [12] R. Dewi, R. Nursanty, and C. Yulvizar, “the Effect of Storage Time on Total of Fungi in Kanji Pedah,” *J. Nat.*, vol. 11, no. 2, pp. 74–78, 2010.
- [13] W. Anggraini, “Pengaruh Ph Terhadap Aktivitas Enzim Kitinase dari Isolat Actinomycetes dengan Metode Somogyi-Nelson,” *J. Ilm. Pendidik. Fis. Al-Biruni*, vol. 4, no. 2, pp. 219–230, 2015, doi: 10.24042/jpifalbiruni.v4i2.94.
- [14] Y. A. Sandy, S. Djauhari, and A. W. Sektiono, “Identifikasi Molekuler Jamur Antagonis Trichoderma harzianum Diisolasi dari Tanah Pertanian Malang di Malang, Jawa Timur,” *J. Med. Assoc. Thail.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–8, 2015.
- [15] H. Tindaon, “Pengaruh Jamur Antagonis Trichoderma harzianum dan Pupuk Organik untuk mengendalikan Patogen Tular tanah Sclerotium rolfsii Sacc pada tanaman Kedelai (*Glycine max L*) di Rumah Kasa,” Universitas Sumatera Utara, 2008.
- [16] C. Uruilal, A. M. Kalay, E. Kaya, and A. Siregar, “Pemanfaatan Kompos Ela Sagu, Sekam Dan Dedak Sebagai Media Perbanyakan Agens Hayati Trichoderma harzianum Rifai.,” *Agrologia*, vol. 1, no. 1, pp. 21–30, 2018, doi: 10.30598/a.v1i1.295.
- [17] F. D. Sulistiyono, “Karakteristik Fisiologi Empat Antagonis Isolat Trichoderma Sp. Sebagai Agensia Hayati,” *J. Sains Nat.*, vol. 5, no. 1, p. 24, 2017, doi: 10.31938/jsn.v5i1.96.
- [18] S. Sukadarti, S. D. Kholisoh, and H. Prasetyo, “Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur Trichoderma reesei,” *Pengemb. Tenologi Kim. untuk Pengolah. Sumber Daya Alam Indones.*, pp. 1–7, 2010.
- [19] F.G . Winarno, *Enzim Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia, 1983.
- [20] W. Gams and W. Meyer, “ What exactly is Trichoderma harzianum ? ,” *Mycologia*, vol. 90, no. 5, pp. 904–915, 1998, doi: 10.1080/00275514.1998.1202698.