



Produksi *Crude* Selulase dari Bahan Baku Ampas Tebu Menggunakan Kapang *Phanerochaete chrysosporium*

Sri Rulianah, Zakijah Irfin, Mufid, Prayitno

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno-Hatta No.9, Malang, Indonesia

*E-mail: rulianahpolinema@yahoo.com

ABSTRAK

Bagasse mengandung selulosa yang cukup tinggi sehingga berpotensi sebagai bahan baku produksi *crude* selulase menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium*. Kapang ini memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim selulase dari substrat yang mengandung selulosa dan juga menghasilkan enzim yang dapat memecah lignin sehingga tidak perlu dilakukan proses delignifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memanfaatkan limbah ampas tebu sebagai bahan baku pembuatan *crude* selulase menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi substrat dan waktu fermentasi terhadap aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengeringkan dan memperkecil ukuran ampas tebu, meremajakan kapang *Phanerochaete chrysosporium*, membuat inokulum dalam media cair, memfermentasi ampas tebu sesuai dengan variabel, dengan media Nitrogen Limited Media (NLM) menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium*. Hasil fermentasi disaring, dan filtratnya dianalisa aktivitasnya sebagai *crude* selulase. Variabel dalam penelitian ini adalah waktu fermentasi 9, 11, 13, 15 dan 17 hari dan konsentrasi ampas tebu sebagai media: 5, 6, dan 7 % b/v. Ekstrak kasar selulase (*crude*) yang dihasilkan disaring menggunakan filter vakum, dan aktivitas filtrat (*crude cellulase*) diuji dengan pereaksi DNS (*dinitro salicylic acid*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas selulase tertinggi diperoleh pada variabel konsentrasi ampas tebu sebesar 7% b/v dan waktu inkubasi selama 17 hari yaitu sebesar 91.304 U/mL.

Kata kunci: *bagasse*, *crude* selulase, fermentasi, *Phanerochaete chrysosporium*

ABSTRACT

Bagasse contain high cellulose which potentially to be used to raw material for producing cellulase enzyme using fungi *Phanerochaete chrysosporium*. This fungus has ability to produce cellulase enzymes from substrates which contain cellulose and also produce enzymes that can degrade lignin content so it didn't need the delignification process. The objective of this study was to convert cellulose in *bagasse* to be *crude* cellulase enzymes by using *Phanerochaete chrysosporium* and determine the effect of substrate concentration and fermentation time to the enzyme activity. This research was conducted by drying and reducing the *bagasse* particle size, rejuvenating mold *Phanerochaete chrysosporium*, making inoculum in liquid medium, fermenting *bagasse* in accordance with the variable, with media NLM (nitrogen limited media) using *Phanerochaete chrysosporium*. Fermentation results were filtered, and it was analyzed the activity of *crude* cellulase. The variable in this study was the time of fermentation 9, 11, 13, 15, and 17 days and substrate concentration: 5, 6, and 7 % b/v. *Crude* cellulose was filtered and was analyzed the enzyme activity by DNS (*dinitro salicylic acid*) reagent, using UV-Vis spectrophotometer. The best result of this study was the *crude* cellulase with highest activity 91,304 U/mL for 7 % substrate concentration with fermentation time 17 days.

Keywords: *bagasse*, *crude* cellulase, fermentation, *Phanerochaete chrysosporium*

1. PENDAHULUAN

Bahan berlignoselulosa merupakan komponen organik berlimpah di alam, yang terdiri dari tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%) dan lignin (10-25%) [1]. Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk seperti glukosa dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon dan energi. Konversi bahan lignoselulosa banyak dilakukan oleh mikroba selulolitik maupun xilanolitik [2]. Ampas tebu (*bagasse*) merupakan limbah padat pabrik gula hasil perasan cairan tebu. Dari satu pabrik dihasilkan ampas tebu sekitar 35-40 % dari berat tebu yang digiling. Tetapi sebanyak sekitar 60 % dari ampas tebu telah dimanfaatkan untuk bahan bakar pabrik gula, bahan baku kertas, dan yang lainnya sehingga masih sekitar 40 % yang belum dimanfaatkan [3]. Ampas tebu mengandung hemiselulosa 20-32,2 %, selulosa (40,3-55,35 %, dan lignin 11,2-15,7% [4]. Melihat dari kandungan selulosa yang cukup tinggi tersebut maka ampas tebu mempunyai potensi yang cukup bagus untuk bahan baku produksi *crude* selulase yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Pada sisi lain, kapang *Phanerochaete chrysosporium* memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase dari substrat yang mengandung selulosa dan sekaligus menghasilkan enzim yang bisa memecah lignin [5], [6]. Sehingga tidak perlu adanya proses delignifikasi untuk memecah lignin yang ada pada jaringan *bagasse*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh referensi [7] yang menggunakan *bagasse* sebagai substrat untuk pembuatan *crude* selulase dengan rentang waktu 5, 7, 9 hari, dan konsentrasi substrat 1-5 %, maka diperoleh waktu terlama yaitu 9 hari dan konsentrasi substrat 5 %, diperoleh *crude* selulase yang aktivitasnya tertinggi sehingga pada kesempatan ini peneliti akan melanjutkan penelitian tersebut dengan menggunakan variabel rentang waktu 9, 11, 13, 15 dan 17 hari, dan konsentrasi substrat 5, 6, dan 7 dengan harapan bisa diperoleh hasil dengan aktivitas yang lebih tinggi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi substrat *bagasse* terhadap *crude* selulase yang dihasilkan, dan untuk memperoleh kondisi operasi yang terbaik dari variabel yang digunakan supaya diperoleh *crude* selulase yang mempunyai aktivitas tertinggi.

Penelitian tentang produksi selulase dari ampas tebu sudah dilakukan oleh beberapa peneliti diantaranya oleh referensi [8] yang membuat enzim selulase dari ampas tebu dengan menggunakan kapang *Trichoderma viride* dengan perlakuan konsentrasi *bagasse* (1, 2, dan 3%) yang ditambahkan dan waktu fermentasi (5, 7, dan 9 hari) dan diperoleh aktivitas tertinggi pada konsentrasi penambahan 3 % dan waktu fermentasi 7 hari dengan aktivitas spesifik selulase 2,94 Unit/mg protein. Untuk produksi *crude* selulase dari jerami padi dengan kapang *Aspergillus niger* diperoleh aktivitas tertinggi pada waktu fermentasi 9 hari. Referensi [9] melakukan penelitian produksi selulase dengan substrat serbuk kayu mahoni dengan kapang *Aspergillus niger*, dengan variabel konsentrasi penambahan substrat (2,3,4,5,6 %) dan suhu delignifikasi (100 dan 120°C) dan diperoleh hasil terbaik pada suhu delignifikasi 120°C dan penambahan substrat 5%. Referensi [7] juga melakukan penelitian tentang pembuatan enzim selulase dari *bagasse* dengan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dengan perlakuan lama fermentasi (5, 7, 9 hari) dan jumlah penambahan substrat (1,2,3,4,5%) dan diperoleh kondisi terbaik pada waktu fermentasi 9 hari dan jumlah substrat yang ditambahkan 5%.

Penelitian tentang produksi *crude* selulase dengan kapang *Phanerochaete chrysosporium* masih belum banyak dilakukan karena selama ini kapang *Phanerochaete chrysosporium* masih dikhususkan untuk degradasi lignin. Namun dalam perkembangannya setelah dicoba untuk menghasilkan enzim selulase ternyata bisa menghasilkan enzim selulase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kapang *Aspergillus niger*.

Enzim selulase adalah suatu enzim yang bisa memecah selulosa (menghirolisis ikatan $\beta(1-4)$ pada selulosa) [10]. Selulase merupakan enzim extra seluler yang terdiri atas complex endo β -1,4-glukonase, ekso β -1,4-glukonase, dan β -1,4-glukosidase.

Selulase dapat diproduksi oleh fungi, bakteri, dan ruminansia. Produksi enzim secara komersial biasanya menggunakan fungi atau bakteri. Fungi yang bisa menghasilkan selulase antara lain genus *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Jenis fungi yang biasa digunakan dalam produksi selulase adalah *Aspergillus niger* [11], *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus nidulans* [11], *Neurospora sitophila*, *Trichoderma viride* [10], *Trichoderma longibrachiatum*, dan *Saccharomyces cerevisiae* [12], dan *Phanerochaete chrysosporium* [7]. Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellobivrio*, dan *Sporosphytophaga*. Inokulasi biasanya dilakukan pada medium PDA/Potato Dextrose Agar atau pada medium Czapek Dox Liquid [13]. Enzim selulase bekerja dengan cara memecah ikatan β 1,4-glikosidik pada selulosa. Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga tipe enzim ini, yaitu :2. Exo-1,4- β -D-glucanase (cellobiohydrolase), 3. β -glucosidase (cellobiase), Endo-1,4- β -D-glucanase [10].

Phanerochaete chrysosporium termasuk dalam divisio *Mycota*, sub divisio *Eumycota*, klas *Bacidiomycetes*, famili *Hymenomycetaceae*, genus *Phanerochaete*, dan Spesies *Phanerochaete chrysosporium*. *Phanerochaete chrysosporium* mempunyai suhu pertumbuhan optimum 37°C, pH 4-7, dan aerob [14].

Phanerochaete chrysosporium merupakan salah satu mikroorganisme yang mempunyai kemampuan mendegradasi lignoselulosa secara selektif yaitu mendegradasi komponen lignin terlebih dahulu diikuti dengan komponen selulosa. Selulosa dan hemiselulosa dimanfaatkan oleh kapang sebagai sumber karbon. Kapang ini cocok digunakan dalam proses fermentasi yang banyak menghasilkan panas. Efisiensi degradasi lignin yang tinggi dan minimal dalam memanfaatkan polimer selulosa dibanding fungi pelapuk putih lain menjadikan *P. chrysosporium* sebagai pilihan terbaik dalam perlakuan degradasi lignin [14].

Enzim selulase yang dihasilkan *Phanerochaete chrysosporium* mempunyai aktivitas tertinggi antara suhu 25°C sampai 40°C karena aktivitas enzim pendegradasi selulosa akan meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Stabilitas enzim dipengaruhi oleh suhu, penggunaan suhu yang lebih tinggi menyebabkan penambahan aktivitas dan penurunan stabilitas tergantung pada periode waktu inkubasi enzim. *Phanerochaete chrysosporium* mendegradasi selulosa tertinggi pada pH 5 karena aktivitas selulase *Phanerochaete chrysosporium* maksimum terjadi pada pH substrat yang mendekati netral.

Proses pemecahan lignin dilakukan melalui reaksi pembelahan. Enzim ekstraselular ini melepaskan radikal bebas untuk memicu pemecahan spontan menjadi *phenyl propane* unit dalam metabolisme sekunder atau fase stasioner [14].

Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah tanaman yang ditanam untuk bahan baku gula. Tanaman ini hanya dapat tumbuh di daerah beriklim tropis. Tanaman ini termasuk jenis rumput-rumputan. Umur tanaman sejak ditanam sampai bisa dipanen mencapai kurang lebih 1 tahun. Di Indonesia tebu banyak dibudidayakan di pulau Jawa dan Sumatra.

Ampas tebu atau lazimnya disebut *bagasse*, adalah hasil samping dari proses ekstraksi (pemerahan) cairan tebu. Dari satu pabrik dihasilkan ampas tebu sekitar 35– 40% dari berat tebu yang digiling. Referensi [3] menambahkan, berdasarkan data dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) ampas tebu yang dihasilkan sebanyak 32% dari berat tebu giling. Ampas tebu sebagian besar mengandung ligno-cellulose. Panjang seratnya antara 1,7 sampai 2 mm dengan diameter sekitar 20 mikro. *Bagasse* mengandung air 48 - 52%, gula rata-rata 3,3 % dan serat rata-rata 47,7%. Serat *bagasse* tidak dapat larut dalam air dan sebagian besar terdiri dari selulosa, pentosan dan lignin [3].

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses dan Laboratorium Analisa Instrumentasi – Jurusan Teknik Kimia- Politeknik Negeri Malang.

Alat dan bahan yang digunakan: Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, tabung reaksi, corong, *beaker glass*, sentrifuge, spatula, *water bath*, kaca arloji, *thermostat*, oven, *shaker*, kawat ose, bunsen, *autoklaf*, pipet ukur, ball pipet, desikator, spektrometer uv vis, kulkas, neraca digital, ph meter, *furnace*, seperangkat peralatan *reflux*, pompa vakum.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, antara lain: Kapang *Phanerochaete chrysosporium*, media NLM, glukosa, PDA (*Potato Dextrosa Agar*), bagas, taugé, ekstrak kamir, polipepton, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $KMnO_4$, H_2SO_4 72%, gula putih, reagen DNS, *yeast extract*, alkohol, spiritus, CTAB, aquades, aquades bebas reduktor, kertas pH universal, kapas berlemak, aluminium foil, kain kasa, kertas saring whatman no. 41, CMC.

Penelitian diawali dengan *pretreatment* bahan (ampas tebu) yaitu dengan mengeringkan ampas tebu dan mengecilkan ukuran partikel sampai sampai 42 mesh, serta analisa awal bahan baku yaitu kadar air, kadar lignin dan kadar selulosa. Tahap berikutnya meremajakan *starter* dengan cara mengembangkan bibit dalam media cair dengan menggunakan media NLM yang sudah diadaptasikan dengan bagas. Tahap selanjutnya membuat kurva pertumbuhan. Pada pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan cara: Membuat suspensi spora *Phanerochaete chrysosporium*, kemudian suspensi spora tersebut diinokulasikan ke dalam masing-masing erlemeyer yang sudah diisi dengan media NLM sebanyak 20 erlemeyer. Suspensi yang ditambahkan jumlahnya 10 % dari media. Setelah diinokulasi, semua erlemeyer diinkubasi sesuai dengan waktunya mulai dari 1 hari sampai 20 hari. Kemudian dianalisa massa sel kering kapang tiap- tiap erlemeyer, yang kemudian datanya untuk membuat kurva pertumbuhan.

Langkah selanjutnya adalah pembuatan *crude* selulase: *bagasse* yang sudah dikeringkan dan dihaluskan dimasukkan ke dalam media NLM sesuai dengan variasi konsentrasi, yaitu 5, 6, dan 7 % b/v dari volume media, kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*, setelah dingin, diinokulasi dengan starter *Phanerochaete chrysosporium* kemudian diinkubasi dengan lama waktu sesuai dengan variabel penelitian (9, 11, 13, 15, dan 17 hari). Hasil fermentasi dihomogenkan kemudian disaring menggunakan pompa vacuum, filtratnya merupakan ekstrak kasar enzim selulase yang kemudian dianalisa aktivitas selulasenya untuk tiap variabel.

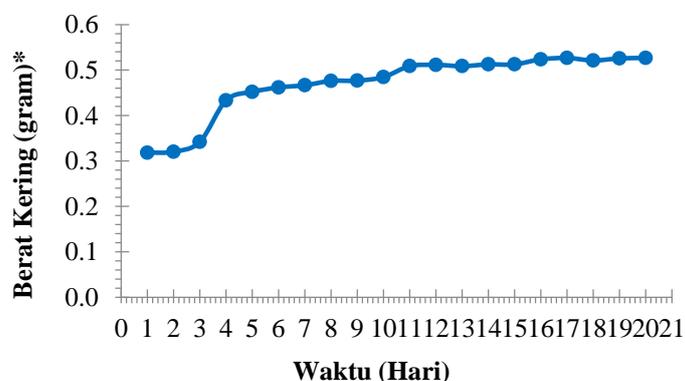
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 KURVA PERTUMBUHAN

Kurva Pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* dalam media *bagasse* dibuat dengan tujuan untuk mengetahui waktu yang paling baik untuk proses fermentasinya. Untuk itu diperlukan pemahaman terhadap proses pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan metode analisis berat kering untuk membuat kurva pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium*. Metode analisis massa sel kering ini mencakup perhitungan massa sel kering karena pada penelitian ini menggunakan kapang yang hanya bisa dihitung dengan menggunakan perhitungan massa sel kering.

Berdasarkan hasil percobaan, kurva pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium*, ditunjukkan pada gambar 1, pada kurva pertumbuhan dengan media *bagasse* tersebut *Phanerochaete chrysosporium* mengalami fase *lag* atau fase adaptasi pada hari ke 1 sampai hari ke 2, pada fase ini terjadi proses adaptasi *Phanerochaete chrysosporium* terhadap bahan pertumbuhannya, peningkatan ukuran sel terjadi tapi sangat lambat. Fase *log* atau fase eksponensial pada *Bagasse* terjadi pada hari ke 3 sampai hari ke 5. Pada fase ini sel mengalami peningkatan yang sangat pesat, dimana sel tumbuh lebih banyak dua kali dari fase *lag*, karena pada fase ini sel sudah beradaptasi dengan lingkungan dan nutrisi masih cukup tersedia pada media yang disediakan.

Fase *stationer* pada media *Bagasse* terjadi pada hari ke 6 sampai hari ke 20. Pada fase ini keadaan pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* mendekati seimbang tetapi tetap mengalami kenaikan meskipun sedikit, dimana laju pertumbuhan dan laju kematian hampir sama. Sehingga jumlah keseluruhan *Phanerochaete chrysosporium* yang hidup akan mendekati konstan. Pada fase *stationer* ini juga dihasilkan metabolit sekunder yang mengaktifasi keadaan *lignolitik* *Phanerochaete chrysosporium* [15].



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* pada media ampas tebu

Gambar 1 menunjukkan bahwa mulai hari ke 6 sampai hari ke 20 tersebut kapang *Phanerochaete chrysosporium* masih mengalami fase stasioner, sehingga berdasarkan gambar 1 kapang tersebut masih menghasilkan enzim-enzim pendegradasi lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Hal ini juga dibuktikan bahwa pada pembuatan kurva pertumbuhan, disamping dianalisa massa sel keringnya juga dianalisa aktivitas enzimnya setiap hari. Dan terbukti semakin lama waktu inkubasi akan semakin tinggi aktivitas enzimnya seperti pada gambar 3. Ini membuktikan bahwa fase stasioner dari *Phanerochaete chrysosporium* masih bisa lebih lama lagi dari 20 hari. Penelitian ini sesuai dengan pernyataan yang disampaikan oleh referensi [16] yang menyatakan bahwa penurunan kadar lignin yang tertinggi diperoleh pada waktu fermentasi yang terlama yaitu 30 hari.

3.2 PENGUKURAN KADAR GLUKOSA

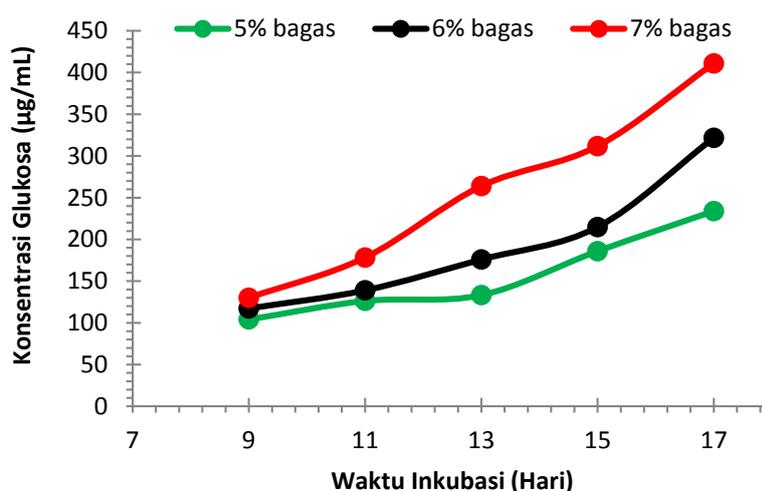
Pada proses hidrolisis *bagasse* dengan katalis enzim selulase akan menghasilkan gula reduksi dalam bentuk glukosa. Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan kurva baku glukosa dengan menyiapkan beberapa sampel glukosa yang memiliki konsentrasi dari 10 ppm yang setara dengan 10 µg/mL.

Hasil pengukuran kadar glukosa pada masing-masing sampel yang dilakukan dengan menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylic Acid*) dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm.

Pereaksi ini umum digunakan untuk mengukur gula reduksi yang diproduksi dengan biokatalisator *crude* selulase karena tingkat ketelitiannya yang tinggi sehingga bisa diaplikasikan pada gula dengan kadar kecil sekalipun.

Referensi [17], dalam suasana alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–550 nm.

Dari kurva baku glukosa, konsentrasi glukosa setiap sampel dapat diketahui. Dengan menggunakan absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan kadar gula dengan rumus persamaan regresi linier $Y = a + bx$. a dan b diperoleh dari perhitungan gula standar, Y merupakan nilai absorbansi pada panjang gelombang 540 nm dan x adalah kadar glukosa yang dihasilkan. Satu unit dari aktivitas selulase diartikan sebagai jumlah dari enzim yang melepaskan µmol glukosa dalam satu menit pada kondisi pengujian. Gambar 2 menunjukkan konsentrasi glukosa dari variasi waktu inkubasi dan konsentrasi penambahan substrat yang berbeda. Dari grafik tersebut menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi dan semakin besar konsentrasi penambahan substrat, maka semakin besar konsentrasi glukosa yang dihasilkan.



Gambar 2. Grafik hubungan antara waktu inkubasi (Hari) terhadap konsentrasi glukosa ($\mu\text{g/mL}$)

3.3 PENGUKURAN KADAR GLUKOSA

Pada penelitian ini aktifitas enzim dilakukan berdasarkan aktivitas CMC_{ase} dalam satuan Internasional Unit (IU) dengan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*) diuji dengan metode CMC_{ase}. Pengujian aktivitas enzim dilakukan pada masing-masing perlakuan dimana uji dilakukan dua kali pengulangan.

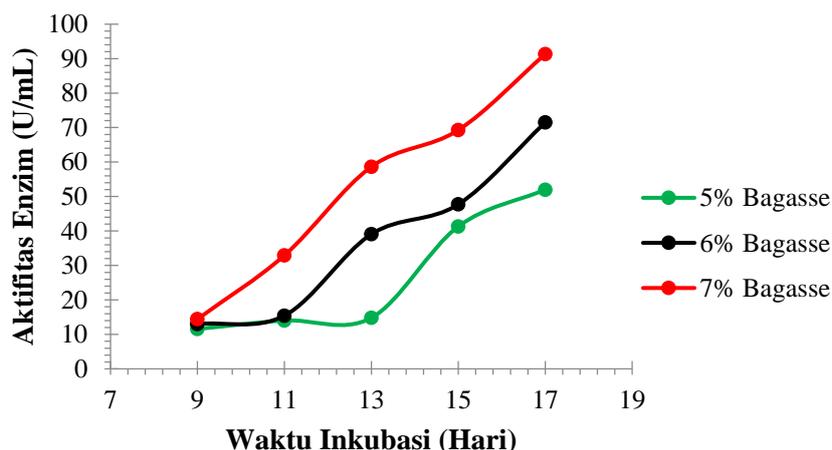
Pengujian aktivitas ini dilakukan berdasarkan jumlah glukosa yang dihasilkan tiap perlakuan. Jumlah kadar glukosa yang dihasilkan dilihat berdasarkan parameter panjang gelombang yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Analisis kadar glukosa dilakukan dengan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*) yaitu sampel hasil hidrolisis enzimatis dalam keadaan jernih dipipet sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih. Selanjutnya ditambahkan 1,8 mL CMC 1% dan 2 mL reagen DNS. Tabung reaksi dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dalam sampel dengan DNS.

Tabung didinginkan hingga mencapai suhu ruang, selanjutnya absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Pereaksi DNS (*Dinitrosalicylic acid*) ini umum digunakan untuk mengukur gula reduksi yang diproduksi oleh mikroba karena tingkat ketelitiannya yang tinggi sehingga bisa diaplikasikan pada gula dengan kadar kecil sekalipun. Menurut referensi [17], dalam suasana alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–550 nm.

Gambar 3 merupakan grafik pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan. Pada Gambar 3 terlihat bahwa konsentrasi substrat berpengaruh terhadap besar kecilnya aktivitas *crude* enzim selulase yang dihasilkan. Dari konsentrasi substrat 5%, 6% dan 7% b/v, aktivitas tertinggi diperoleh dari konsentrasi substrat 7 % b/v sebesar 91.304 U/mL Sehingga semakin besar konsentrasi substrat, dari 5 sampai 7

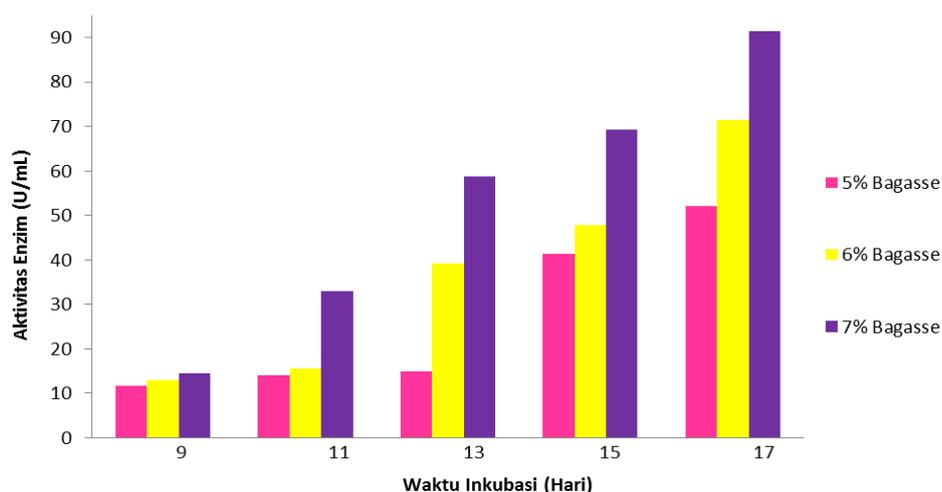
%, semakin naik aktivitas *crude* selulasenya. Demikian juga dengan waktu inkubasi, semakin lama waktu inkubasi dari 9 hari sampai 17 hari, maka semakin naik aktivitas *crude* selulasenya. Hal ini dapat terjadi karena enzim selulase dihasilkan oleh kapang *Phanerochaete chrysosporium* pada metabolit sekundernya. Sesuai dengan kurva pertumbuhan yang telah dibuat bahwa fase stasioner terbentuk mulai hari ke 6 sampai hari ke 20 sehingga apabila waktu inkubasi diperpanjang, masih ada kemungkinan aktivitas *crude* selulase akan meningkat. Pada penelitian sebelumnya oleh referensi [7], pada bahan baku yang sama dengan kapang yang sama dihasilkan aktivitas *crude* selulase semakin lama waktu, semakin naik aktivitasnya (dari waktu 5 sampai 9 hari).



Gambar 3. Hubungan antara waktu inkubasi dan aktivitas *crude* selulase pada berbagai konsentrasi substrat

Kompleks enzim substrat mengalami kesesuaian bila sisi afinitas enzim sesuai dengan jumlah molekul substrat pada bagian aktifnya. Jika % penambahan substrat terus diperbesar maka akan terjadi penambahan aktivitas [18]. Tapi sebenarnya apabila substrat terlalu besar bisa menjadi penghambat bagi enzimnya, sehingga perlu dicari kondisi yang optimum.

Ketika penambahan substrat melebihi titik optimal maka terjadi kompetisi antara bagian aktif substrat dalam memperebutkan sisi afinitas enzim, dan akibatnya terjadi penghambatan pada proses penggabungan enzim-substrat. Bila terjadi demikian maka aktivitas enzim yang terukur menjadi rendah karena proses pengikatan enzim-substrat tidak lagi berlangsung efisien, yang disebut dengan *substrate inhibition* [19]. Oleh karena itu, penambahan substrat secara menerus menyebabkan aktivitas enzim akan menaik, kemudian mencapai konstan, namun akhirnya aktivitas mengalami penurunan [19]. Untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap produk *crude* selulase yang dihasilkan pada berbagai persen penambahan bagas, maka bisa dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hubungan antara waktu inkubasi (Hari) terhadap aktivitas *crude* enzim selulase (U/mL) untuk berbagai konsentrasi substrat.

Gambar 4, menunjukkan grafik pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan. Pada gambar tersebut menunjukkan waktu inkubasi dari 9 hari, 11 hari, 13 hari, 15 hari dan 17 hari. Dari waktu 9 hari sampai 17 hari, semakin lama waktu inkubasi semakin tinggi aktivitas *crude* selulasenya. Hal ini disebabkan semakin lama waktu inkubasi sampai dengan waktu 17 hari, *Phanerochaete chrysosporium* masih berada dalam fase stasioner sehingga masih terus menghasilkan enzim selulase. Hasil ini juga sesuai dengan data yang diperoleh pada percobaan pembuatan kurva pertumbuhan bahwa sampai dengan hari ke 20 fase stasioner masih tetap berlangsung. Gambar 4 juga menunjukkan bahwa dari tiap waktu akan terlihat kenaikan aktivitas enzim pada penggunaan konsentrasi *bagasse* yang bervariasi. Semakin besar konsentrasi substrat *bagasse*, semakin tinggi aktivitas *crude* selulasenya. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar penambahan substrat yang mengandung selulosa akan semakin menaikkan aktivitas enzim selulosa yang dihasilkan. Dan aktivitas enzim terbaik diperoleh pada waktu inkubasi selama 17 hari, dan konsentrasi substrat *bagasse* 7 %, yaitu 91.30 U/mL.

4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu inkubasi, maka semakin tinggi hasil aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan untuk waktu inkubasi: 9,11, 13, 15 dan 17 hari, dan semakin besar konsentrasi substrat yang digunakan, maka semakin besar pula aktivitas enzim yang dihasilkan dengan batasan variabel 5%, 6% dan 7%. Aktivitas *crude* selulase tertinggi dihasilkan pada konsentrasi substrat 7 % dan waktu inkubasi selama 17 hari yaitu sebesar 91.304 U/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan ucapan terima kasih pada Politeknik Negeri Malang yang telah memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian ini melalui anggaran DIPA 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] B.C. Saha. Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology, *American Chemical Society*, hal. 2-14, 2004.
- [2] P. Pason, K. Ratanakhanokchai, K.L. Kyu, Multiple Cellulases and Xylanases of *Bacillus circulans* B-6, *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics Vol. 16 Proceedings of Project Seminars in 2000-2003 for JSPS-NCRT/DOST/LIPI/VCC*. IC Biotech, Japan, hal. 305-310. 2003.
- [3] Husin. Analisis Serat Bagas, (<http://www.free.vlsm.org/>), 2007.
- [4] S. Stefanus, H. A. R. Tarmidi, Efek dosis dan lama biokonversi ampas tebu sebagai pakan oleh jamur tiram putih (*Plaurotus ostreatus*) terhadap kadar protein dan komponen serat, www.pustaka.unpad.ac.id, 2005.
- [5] S. Rulianah, P. H. Suharti, Y. Maryanty, B. Irawan, The Effect of Fermentation Time and Addition of CMC to Decrease of Lignin Content in Fermentation of Patchouli Leaves Using *Phanerochaete chrysosporium*. *Advanced Science Letters*, vol. 23, hal. 5666–5668, 2017.
- [6] P. H. Suharti, S. Rulianah, Y. Maryanty, B. Irawan, F. Chen, and M. J. Tsai, The Degradation of Cellulose in the Fermentation of Patchouli Leaves Using *Phanerochaete chrysosporium*, *Advanced Science Letters*, vol. 23, hal. 5669–5671, 2017.
- [7] S. Rulianah, H. Hardjono, R. Imron, A. D. R. Mila, Pemanfaatan Bagas sebagai Crude Selulase Menggunakan Kapang *Phanerochaete chrysosporium*, *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, UNDIP Semarang, ISSN: 1411-4216*, 2014.
- [8] I. B. W. Gunam, K. Buda, I. M. Y. S. Guna, Pengaruh Perlakuan Delignifikasi dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* nr1 a-ii, 264, *Jurnal Biologi XV*, vol. 2, hal. 29-33, 2011.
- [9] S. Rulianah, D. Moentamaria, D. Meilany, Pengaruh Suhu Delignifikasi dan Konsentrasi Penambahan Substrat Kayu Mahoni Terhadap Aktivitas Crude Selulase yang Dihasilkan pada Proses Fermentasi dengan Kapang *Aspergillus niger*. *Prosiding Propoltek. Diseminasi Hasil Penelitian. ISSN : 2089-2144*, 2013.
- [10] I. Ulhaq, M. M. Javed, T. S. Khan, Z. Siddiq, Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*, *Res. J. Agric & Biol. Sci.*, vol. 1, no. 3, hal. 241-245, 2005.
- [11] U.F. Ali, H. S. S. El-Dein, Production and Partial Purification of Cellulase Complex by *Aspergillus niger* and *A. nidulans* Grown on Water Hyacinth Blend, *Journal of Applied Sciences Research*, vol. 4, no. 7, hal. 875-891, 2008.

- [12] O. Omojasola, P. Folakemi, O. P. Jilani, S. A. Ibiyemi, Cellulase Production by some Fungi Cultured on Pineapple Waste, *Nature & Science*, vol. 6, no. 2, hal. 64-75, 2008.
- [13] G. Narasimha, A. Sridevi, B. Viswanath, S. Chandra, B. R. Reddy, Nutrient Effects on Production of Cellulolytic Enzymes by *Aspergillus niger*, *African Journal of Biotechnology*, vol. 5, no. 5, hal. 472-476, 2006.