

## **PENENTUAN WAKTU FERMENTASI OPTIMUM PRODUKSI XILANASE DARI *Trichoderma viride* MENGGUNAKAN SUBSTRAT KULIT APEL DAN KLOBOT JAGUNG DENGAN FERMENTASI SEMI PADAT**

**Nufida Tri Febrianti, Sutrisno\*, Danar Purwonugroho**

*Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran Malang 65145*

\*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835  
Email: tris\_mc@ub.ac.id

### **ABSTRAK**

Xilanase dapat diproduksi melalui fermentasi semi padat menggunakan substrat kulit apel dan klobot jagung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu fermentasi dan jenis substrat optimum produksi xilanase dari *Trichoderma viride*. Waktu fermentasi dan jenis substrat optimum ditentukan dengan cara mengukur aktivitas dan kadar xilanase pada variasi waktu fermentasi dengan substrat kulit apel dan klobot jagung. Aktivitas xilanase ditentukan dengan cara mengukur gula pereduksi yang dihasilkan selama reaksi enzimatik secara spektrofotometri dengan menggunakan reagen DNS, dan kadar xilanase ditentukan secara spektrofotometri menggunakan reagen Biuret. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi optimum produksi xilanase dari *Trichoderma viride* menggunakan fermentasi semi padat adalah 60 jam dan jenis substrat yang optimum yaitu klobot jagung dengan aktivitas dan kadar protein berturut-turut 20, 875 U dan 14,6 mg/mL.

**Kata kunci:** aktivitas xilanase, jenis substrat optimum, kadar protein xilanase

### **ABSTRACT**

Xylanase can be produced by solid state fermentation using apple peel and corn bran substrates. Xylanase was isolated from *Trichoderma viride* in variety of fermentation periode by solid state fermentation followed by activity tested and protein content of xylanase crude extract by using spectrophotometry method. This research was aimed to know optimum fermentation periode and type of optimum substrate in xylanase production from *Trichoderma viride*. In this research, there were some variations of fermentation periode (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96) hours with apple peel and corn bran substrates. Reduce sugar was tested by spectrophotometrically with DNS reagent and protein content use Biuret reagent. The result showed that optimum fermentation periode in xylanase production from *Trichoderma viride* by solid state fermentation was 60 hours and type of optimum substrate was corn bran which the activity and protein content was 20, 875 U and 14,6 mg/mL.

**Key words:** activity of xylanase, type of optimum substrate, protein content of xylanase.

### **PENDAHULUAN**

Xilanase adalah enzim yang mampu menguraikan xilan menjadi xilo-oligosakarida dan xilosa [1]. Xilanase dapat dihasilkan dari mikroorganisme seperti jamur dan bakteri, salah satunya adalah *Trichoderma sp.* [2]. Xilanase dapat dihasilkan melalui proses fermentasi oleh mikroorganisme. Di Industri, xilanase digunakan dalam industri pangan, pakan dan pemutih bubuk kertas atau *pulp* [1].

Indonesia merupakan salah satu Negara penghasil jagung dan apel. Menurut Badan Pusat Statistik tahun 2012, produksi jagung di Jawa Timur sebesar 6.295.301 ton [3]. Apel merupakan komoditi utama di Jawa Timur, terutama di kota Batu, Malang dengan produktivitas sebesar 27,5 ton/Ha [4]. Jagung biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai makanan pokok sedangkan apel dimanfaatkan untuk industri keripik apel atau sari apel. Hasil sampingnya yang berupa klobot jagung dan kulit apel hanya digunakan sebagai pakan ternak, kompos atau dibuang sebagai limbah.

Fermentasi adalah proses yang memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan [5]. Fermentasi semi padat adalah salah satu cara fermentasi substrat pada kondisi kelembaban tinggi dengan media pertumbuhan yang ketersediaan airnya tercukupi [6].

Pada penelitian sebelumnya, metode yang digunakan untuk memproduksi xilanase adalah fermentasi cair dan padat dengan variasi jenis substrat dan jenis kapang. Penelitian yang dilakukan oleh Hoda, dkk menunjukkan bahwa aktivitas xilanase yang diproduksi dari substrat klobot jagung dan *Trichoderma viride* hasil isolasi jerami padi sebesar  $(03,7 \pm 0,30)$  Ug substrat<sup>-1</sup>. Waktu fermentasi optimumnya adalah 2 hari dengan aktivitas xilanase sebesar 24,22 Ug substrat<sup>-1</sup> [7].

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang penentuan waktu fermentasi optimum produksi xilanase dari *Trichoderma viride* menggunakan substrat klobot jagung dan kulit apel dengan fermentasi semi padat. Pada penelitian ini, *Trichoderma viride* yang digunakan merupakan kultur murni *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA Universitas Brawijaya.

## **METODA PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan penelitian yang digunakan adalah kultur murni kapang *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Brawijaya, klobot jagung manis dan kulit apel varietas Manalagi.

Bahan kimia yang digunakan memiliki kualitas pro analis (pa), antara lain: CH<sub>3</sub>COOH, CH<sub>3</sub>COONa, NaCl, KCl, MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub>.7H<sub>2</sub>O, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, Na tartrat, CuCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, asam oleat, urea, asam dinitrosalisilat, dextrosa dan akuades. Bahan kimia dengan kualitas *for microbiology* antara lain: tepung agar, pepton, xilan, kasein.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, jarum ose, pengaduk magnet, oven, ayakan 40 mesh, aluminium foil, kapas steril, pH universal, pH meter, kertas saring *Whatman* no.40, blender, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), neraca analitik (Bosch PE 620), autoklaf, (All American Model 20X), inkubator (Heraeus Type B 5042), penangas air (Memmert W 200), shaker (Edmund Buhler SM 2524B), Laminar air flow, sentrifuge dingin (Juan MR 1889), pemanas listrik (Janke-Kunkel) dan spectronic 20, kuvet.

## **Prosedur Penelitian**

### **Pembuatan Larutan Media Basal**

Ditimbang 0,713 g  $H_3BO_3$ ; 0,450 g  $MnCl_2 \cdot 7H_2O$ ; 0,735 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,443 g Na tartrat; 0,008 g  $CuCl_2$ ; 0,005 g  $ZnCl_2$ ; 0,010 g  $CoCl_2$ ; 0,005 g  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , dilarutkan dalam 50 mL akuades dan diaduk hingga padatan terlarut sempurna dalam gelas kimia 250 mL. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut disterilkan di autoklaf pada temperatur  $121^\circ C$  dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Larutan tersebut disebut dengan larutan logam renik.

Ditimbang 30 g NaCl; 0,75 g KCl; 7 g  $MgSO_4$ ; 0,50 g  $NH_4Cl$ ; 0,70 g  $K_2HPO_4$ ; 0,30 g  $KH_2PO_4$  dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, lalu ditambahkan 1 mL larutan logam renik, ditambah akuades sebanyak 100 mL dan diaduk hingga larut sempurna. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut dimasukkan sebanyak 250 mL ke dalam erlenmeyer 250 mL, ditutup kapas, dilapisi aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ C$  dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

### **Optimasi Produksi Xilanase**

*Trichoderma viride* yang ditumbuhkan dalam media padat miring (pH 5) selama 6 hari disuspensikan ke dalam 10 mL akuades steril, lalu suspensi diambil sebanyak 2 mL dan ditanam di dalam erlenmeyer yang berisi 13 mL media cair steril. Media tersebut diinkubasi dalam shaker hingga mencapai pertengahan fase logaritma (jam ke-36).

Substrat xilan (tepung klobot jagung atau tepung kulit apel) ditimbang sebanyak 5 gram dan ditambah 13 mL larutan media basal kemudian disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ C$  dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Campuran yang telah steril ditambahkan 2 mL inokulum *Trichoderma viride* (rasio substrat : air = 1 : 3). Campuran

tersebut difermentasi di shaker pada temperatur kamar dengan variasi waktu fermentasi selama (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 dan 96) jam.

### **Isolasi Xilanase**

Substrat yang sudah difermentasi ditambah 10 mL buffer asetat pH 5,0, lalu dihomogenkan dengan menggunakan stirer dan disentrifugasi pada 3000 rpm dan temperatur 4 °C selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar xilanase.

### **Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Xilanase**

Larutan yang terdiri dari 1 mL substrat xilan 1% (b/v), 1 mL ekstrak kasar xilanase, 1 mL buffer asetat diinkubasi pada temperatur 60 °C selama 50 menit. Larutan tersebut ditambahkan 2 mL reagen DNS dan dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 15 menit kemudian didinginkan dengan air mengalir. Larutan yang dihasilkan diukur absorbansinya menggunakan spectronic 20 pada panjang gelombang 485 nm. Kadar gula pereduksi yang dihasilkan ditentukan dengan cara memplotkan absorbansi yang diperoleh ke dalam persamaan regresi kurva baku gula pereduksi yang telah dibuat sebelumnya. Satu unit aktivitas enzim diartikan sebagai 1 µg xilosa yang dihasilkan per menit per mL enzim.

### **Uji Kadar Protein**

Larutan enzim sebanyak 2 mL ditambah 8 mL reagen Biuret dan 2 mL larutan kasein 5000 ppm, lalu dikocok dan diinkubasi pada temperatur 50 °C selama 30 menit. Setelah itu larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 545 nm. Kadar protein diketahui dengan memplotkan nilai absorbansi yang diperoleh pada persamaan regresi kurva baku kasein yang telah dibuat sebelumnya.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Penentuan Waktu Fermentasi optimum**

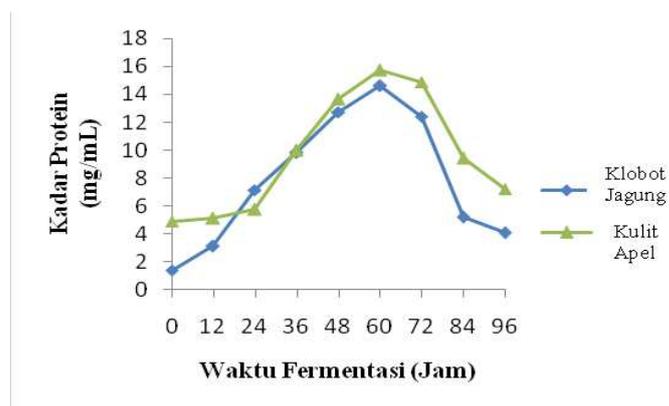
Waktu fermentasi merupakan waktu yang diperlukan oleh sel mikroba untuk mengubah substrat menjadi produk. Sel mikroba membutuhkan waktu yang cukup untuk dapat mengolah substrat secara optimum. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin optimum sel mikroba dalam mengolah substrat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu fermentasi optimum produksi xilanase dari *Trichoderma viride* menggunakan substrat kulit apel dan klobot jagung adalah 60 jam. Hal tersebut sesuai dengan kurva pertumbuhan *Trichoderma viride* yang menunjukkan bahwa

pada jam ke-60 adalah akhir dari fasa log pertumbuhan *Trichoderma viride* yang merupakan waktu optimum untuk produksi xilanase.

Hasil dari penentuan kadar protein menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar protein hingga jam ke-60 dikarenakan semakin banyaknya xilanase yang diproduksi, kemudian terjadi penurunan hingga jam ke-96. Penurunan ini kemungkinan dikarenakan protein yang terbentuk digunakan oleh sel mikroba sebagai nutrisi.

Ekstrak kasar xilanase dari *Trichoderma viride* yang menggunakan substrat klobot jagung mempunyai kadar protein rata-rata tertinggi pada jam ke-60 yaitu sebesar 14,6 mg/mL. Kadar protein rata-rata tertinggi ekstrak kasar xilanase dari *Trichoderma viride* yang menggunakan substrat kulit apel yaitu pada jam ke-60 sebesar 15,725 mg/mL (Gambar 4.1). Kadar protein ekstrak kasar xilanase dari *Trichoderma viride* yang ditumbuhkan pada substrat klobot jagung berbeda dengan kulit apel karena kadar xilan dari klobot jagung dan kulit apel berbeda.

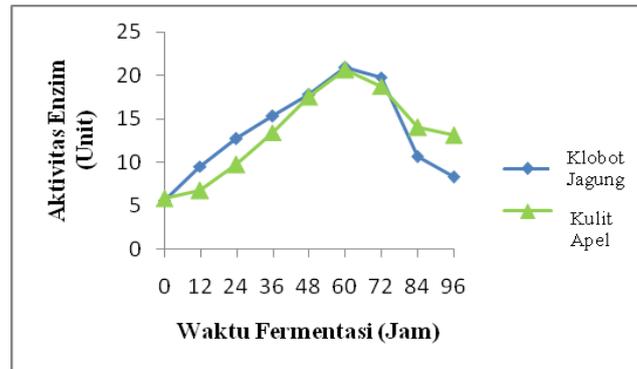


**Gambar 1.** Kurva hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar protein enzim

Hasil dari penentuan aktivitas ekstrak kasar xilanase dari klobot jagung dan kulit apel menunjukkan bahwa ekstrak kasar xilanase mengalami peningkatan aktivitas seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi hingga jam ke-60 dan terjadi penurunan aktivitas hingga jam ke-96. Peningkatan aktivitas dikarenakan jumlah xilanase yang diproduksi semakin tinggi sehingga gula pereduksi yang dihasilkan juga semakin tinggi yang menyebabkan aktivitasnya meningkat. Penurunan aktivitas kemungkinan dikarenakan xilanase telah rusak karena kerja protease yang sama-sama dihasilkan oleh *Trichoderma viride*.

Aktivitas rata-rata tertinggi ekstrak kasar xilanase menggunakan substrat klobot jagung dan kulit apel masing-masing sebesar 20,875 U dan 20,653 U (Gambar 4.3). Ekstrak kasar xilanase dari *Trichoderma viride* yang ditumbuhkan pada sumber xilan klobot jagung

mempunyai aktivitas lebih tinggi dibandingkan dari ekstrak kasar xilanase yang ditumbuhkan pada sumber xilan kulit apel karena jumlah nutrisi terutama xilan pada klobot jagung lebih besar daripada kandungan xilan di dalam kulit apel, sehingga aktivitas ekstrak kasar xilanase yang dihasilkan dari substrat klobot jagung lebih tinggi daripada ekstrak kasar xilanase dari substrat kulit apel.



**Gambar 2.** Kurva hubungan antara waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim

### Penentuan Jenis Substrat Optimum

Variasi jenis substrat pada produksi xilanase dari *Trichoderma viride* berpengaruh terhadap kadar protein dan aktivitas yang dihasilkan oleh ekstrak kasar xilanase. Jenis substrat yang paling baik untuk produksi xilanase dari *Trichoderma viride* menggunakan fermentasi semi padat adalah klobot jagung. Hal ini kemungkinan dikarenakan kadar xilan yang ada pada klobot jagung lebih tinggi dibandingkan dengan kadar xilan pada kulit apel. Kadar xilan yang terkandung di dalam klobot jagung sebesar 32%. Semakin banyak kandungan xilan di dalam substrat maka semakin banyak pula xilanase yang dihasilkan sehingga xilanase yang terbentuk dari substrat klobot jagung lebih banyak dari kulit apel.

Kadar protein ekstrak kasar dari *Trichoderma viride* yang ditumbuhkan pada substrat kulit apel lebih besar daripada yang ditumbuhkan pada substrat klobot jagung. Sedangkan aktivitas xilanase dari *Trichoderma viride* yang ditumbuhkan pada substrat kulit apel lebih rendah daripada yang ditumbuhkan pada substrat klobot jagung. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar xilanase yang ditumbuhkan pada substrat kulit apel mengandung banyak protein non-xilanase.

## KESIMPULAN

Waktu fermentasi dan variasi jenis substrat berpengaruh terhadap aktivitas dan kadar protein ekstrak kasar xilanase yang dihasilkan dari *Trichoderma viride*. Waktu fermentasi optimum adalah 60 jam, dengan aktivitas xilanase untuk substrat klobot jagung dan kulit apel berturut-turut sebesar 20, 875 U dan 20,653 U dan kadar protein untuk substrat klobot jagung dan kulit apel sebesar 14,6 mg/mL dan 15,725 mg/mL. Substrat yang baik untuk digunakan sebagai media fermentasi semi padat adalah klobot jagung.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Richana N., Irawadi, T., Nur, A., dan Syamsu, K., 2008, Isolasi Identifikasi Bakteri Penghasil Xilanase serta Karakterisasi Enzimnya, *Jurnal AgroBiogen* 4(1):24-34.
2. Richana N., 2002, Produksi dan Prospek Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor, *Buletin AgroBio* 5(1):29-36.
3. Badan Pusat Statistik, 2013, *Tanaman Pangan*, [http://www.Bps.go.id /tnmn\\_pgn](http://www.Bps.go.id /tnmn_pgn), diakses 11 September 2013.
4. Indahwati, R., Hendarto, B., dan Izzati, M., 2012, *Keanekaragaman Arthropoda Tanah di Lahan Apel Desa Tulungrejo Kecamatan Bumiaji Kota Batu*, Universitas Diponegoro, Semarang.
5. Departemen Teknik Kimia ITB, *Panduan Pelaksanaan Laboratorium Instruksional I/II Teknik Fermentasi*, ITB, Bandung.
6. Amir, I., Zahid, A., Yusuf, Z., Iqbal H., Aish, M., Muhammad, I., dan Sajid, M., 2011, Optimization of Cellulase Enzyme Production from Corn Cobs using *Alternaria Alternata* by Solid State Fermentation, *Journal of Cell and Molecular Biology* 9(2):51-56, Turkey.
7. Hoda M.A., Abdel D.A., Sherif, Arafat B.E., 2012, Production of Xylanase by *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* using Some Agriculture Residues, [docsdrive.com/pdfs/acade-micjournals/ijar/0000/38382-38382.pdf](https://docsdrive.com/pdfs/acade-micjournals/ijar/0000/38382-38382.pdf), diakses 19 September 2013.