



**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS BUNGKIL BIJI JARAK PAGAR
OLEH *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA PRODUKSI PROTEIN SEL
TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

SKRIPSI

Oleh:

**NUR PUTRI RAHARDIYANTI
NIM 111810401040**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS BUNGKIL BIJI JARAK PAGAR
OLEH *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA PRODUKSI PROTEIN SEL
TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**NUR PUTRI RAHARDIYANTI
NIM 111810401040**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur dan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan karunianya sehingga skripsi ini dapat berjalan dengan lancar;
2. Ayah Sugeng Rahardjo, Ibu Ariyanti (Almh), Ibu Tri Yuniarsih, adik-adik saya Desi Wahyu Asriyani dan Rhomadion Rahardiansyah serta seluruh keluarga yang turut mendo'akan dan memberikan segenap kasih dan sayangnya untuk saya;
3. guru-guru mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmunya yang bermanfaat selama ini;
4. Almamater tercinta yaitu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Allah telah menjanjikan kepada orang-orang di antara kamu yang beriman dan yang mengerjakan kebajikan, bahwa Dia sungguh akan menjadikan mereka berkuasa di bumi sebagaimana Dia telah menjadikan orang-orang sebelum mereka berkuasa, dan sungguh Dia akan meneguhkan bagi mereka dengan agama yang telah Dia ridai. Dan benar-benar mengubah (keadaan) mereka, setelah berada dalam ketakutan menjadi aman sentosa. Mereka tetap menyembah-Ku dengan tidak menyekutukan-Ku dengan sesuatu pun. Tetapi barang siapa (kafir) setelah (janji) itu, maka mereka itulah orang-orang yang fasik.

(QS. An-Nur: 55)*)

Do'a adalah titik embun yang menjelma cahaya manakala mimpimu gulita atau harapan tak menemukan jalannya.

(Asma Nadia)**)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahnya Special for Woman*. Bogor: Syaamil Al-Qur'an.

***) Asma Nadia. 2012. *Catatan Hati di Setiap Do'aku*. Depok: Asma Nadia Publishing House.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Putri Rahardiyanti

NIM : 111810401040

menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Bungkil Biji Jarak Pagar Oleh *Trichoderma viride* Sebagai Media Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*” adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institut manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan kesadaran dan sebenarnya, tanpa adanya tekanan atau paksaan dari pihak manapun. Saya bersedia menerima sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan yang saya tulis ini terbukti tidak benar.

Jember, 8 Juni 2018

Yang menyatakan,

Nur Putri Rahardiyanti

NIM 111810401040

SKRIPSI

**PEMANFAATAN HASIL HIDROLISIS BUNGKIL BIJI JARAK PAGAR
OLEH *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA PRODUKSI PROTEIN SEL
TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

Oleh

Nur Putri Rahardiyanti
NIM. 111810401040

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Siswanto, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Bungkil Biji Jarak Pagar Oleh *Trichoderma viride* Sebagai Media Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces Cereviceae*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.
NIP. 196805031994011001

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP. 196012161993021001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. rer.nat. Kartika Senjarini, M.Si.
NIP. 197509132000032001

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP. 196008161989021001

Mengesahkan

Dekan,

Drs. Sujito Ph.D.
NIP. 196102041987111001

RINGKASAN

Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Bungkil Biji Jarak Pagar Oleh *Trichoderma viride* Sebagai Media Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*;
Nur Putri Rahardiyanti, 111810401040; 2018; 35 halaman; Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Bungkil biji jarak pagar (BBJP) merupakan limbah dari pengolahan biji jarak dalam menghasilkan minyak dan merupakan hasil samping dari proses pembuatan biodiesel. Pemanfaatan limbah BBJP sebagai pakan ternak memiliki beberapa kendala, yaitu adanya senyawa racun (*phorbol ester*) dan senyawa antinutrisi (kursin). Oleh karena itu, untuk menghilangkan senyawa racun dan antinutrisi tersebut dapat dilakukan proses fermentasi padat pada BBJP oleh kapang *Trichoderma viride* sebagai penghasil enzim ekstraseluler. Penelitian mengenai fermentasi dalam menurunkan senyawa toksik dan antinutrisi sudah pernah dilakukan oleh kapang *T. reesei* pada Bungkil Inti Sawit (BIS) yang menyebabkan kenaikan ADF (*Acid Detergent Fiber*) dan protein kasar, penurunan NDF (*Neutral Detergen Fiber*) dan hemiselulosa serta penyusutan bahan kering.

Pada proses fermentasi padat, terjadi hidrolisis selulosa pada BBJP oleh kapang *T. viride* sebagai penghasil enzim ekstraseluler. Hidrolisis selulosa meliputi proses pemecahan selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Gula yang dihasilkan tersebut digunakan sebagai media produksi Protein Sel Tunggal (PST). PST merupakan protein kasar atau murni yang berasal dari mikroorganisme yang bersel tunggal. Manfaat PST antara lain dapat digunakan sebagai makanan tambahan pada hewan ternak yang kaya akan protein dan dapat pula digunakan sebagai alternatif pengganti protein daging. Jenis PST yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Saccharomyces cereviceae*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: (i) pembuatan stok kultur *T. viride* dan *S. cereviceae* (ii) penentuan kadar air substrat BBJP (iii) pembuatan reagen *Somogyi* dan *Nelson*. Dilanjutkan proses fermentasi padat yang

meliputi: (i) produksi skala besar gula reduksi dari hidrolisis BBJP oleh *T. viride* (ii) pemanenan gula hasil dekomposisi selama fermentasi (iii) analisis konsentrasi gula reduksi dengan metode *Somogyi-Nelson*. Tahap terakhir yaitu produksi *S. cereviceae* yang meliputi: (i) produksi *S. cereviceae* pada konsentrasi dan waktu optimum (ii) perhitungan jumlah populasi *S. cereviceae* (iii) analisis konsentrasi gula reduksi akhir dengan metode *Somogyi-Nelson*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah gula reduksi yang diperoleh pada hari ke- 6 adalah 102.8 µg/ml. Gula reduksi tersebut digunakan sebagai media pertumbuhan *S. cereviceae* selama inkubasi 54 jam, dengan penurunan jumlah gula reduksi sebesar 36,1% . Penurunan gula reduksi tersebut menandakan *S. cereviceae* mampu menggunakan gula reduksi tersebut sebagai sumber karbon.

Pertumbuhan *S. cereviceae* pada media hidrolisat BBJP relatif sama dengan pertumbuhannya pada media YEPD (*Yeast Extract Pepton Dextrose*). Hal ini membuktikan bahwa *S. cereviceae* memanfaatkan gula reduksi dalam bentuk monosakarida yang terkandung di dalam media hidrolisat BBJP sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Jumlah sel *S. cereviceae* yang dihasilkan selama inkubasi 54 jam yaitu $2,5 \times 10^5$ sel/ml. Selama pertumbuhannya pada media hidrolisat BBJP, media tidak mengalami perubahan pH. Nilai pH awal sekitar 8,2-8,5 masih dapat digunakan yeast untuk pertumbuhan. Hal ini disebabkan rentang pH untuk pertumbuhan *S. cereviceae* pada kondisi aerob yaitu 2,5-8,5, sehingga nilai pH awal tersebut tidak menghambat pertumbuhan yeast *S. cereviceae*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. Atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Hasil Hidrolisis Bungkil Biji Jarak Pagar Oleh *Trichoderma viride* Sebagai Media Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Drs. Siswanto M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penulisan skripsi ini;
2. Dr. rer.nat. Kartika Senjarini, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes., selaku Dosen Penguji II yang banyak memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi;
3. Dra. Dwi Setyati, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam peningkatan prestasi akademik penulis;
4. Ir. Endang Soesetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang banyak membantu penulis selama penelitian;
5. Ayah, ibu, adik, dan seluruh keluarga yang telah memberikan banyak do'a, motivasi, materi, dan dukungan yang tiada henti;
6. seluruh rekan kerjaku di Mikrobiologi antara lain: Anis Barokah, Nur Halimah K., Susyatin, Tutus Ervian N., Eriani Eleganty, Syafiq Ubaidillah, Widya Yuniar, Amin Robi, Fianda Deviyastuti, Zunairoh, Dwi Nur Hanifah, Erlinka, dan Khilia Nisa'. Sahabatku Niera Putri K., Nidaul Hikmah, Dia Qori Y., Risa Oktaviana, dan semua teman di Biologi khususnya teman-teman “*Ampibi*”

angkatan 2011. Terima kasih atas do'a, kerjasama, bantuan, dan dukungan selama ini;

7. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan penulisan. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 8 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Penelitian	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Bungkil Biji Jarak Pagar	4
2.2 Kapang <i>Trichoderma viride</i> dan Enzim Ekstraselluler	6
2.3 Fermentasi Padat	8
2.4 Protein Sel Tunggal Yeast <i>Saccharomyces cereviceae</i>	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Prosedur Penelitian	11
3.3.1 Pembuatan Stok Kultur <i>T. viride</i> dan <i>S. cereviceae</i>	12
3.3.2 Penentuan Kadar Air Substrat BBJP Jenuh Air	13
3.3.3 Hidrolisis BBJP oleh <i>T. viride</i>	13
3.3.4 Analisis Konsentrasi Gula Reduksi Awal dengan Metode <i>Samogyi</i> dan <i>Nelson</i>	13
3.3.5 Produksi <i>S. cereviceae</i> Pada Media Hidrolisat BBJP	15
3.3.6 Analisis Konsentrasi Sisa Gula Reduksi dengan Metode <i>Samogyi</i> dan <i>Nelson</i>	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Hasil Hidrolisis BBJP oleh <i>T. viride</i>	17
4.2 Produksi <i>S. cereviceae</i> Pada Media Hidrolisat BBJP	19
4.3 Konsumsi Gula Reduksi oleh <i>S. cereviceae</i>	22
4.4 pH Pertumbuhan <i>S. cereviceae</i> Pada Hidrolisat BBJP	24
BAB 5. PENUTUP	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Zat Makanan dan Fraksi Serat BBJP.....	6
4.1 Konsentrasi Gula Reduksi BBJP Hasil Hidrolisis dengan <i>T. viride</i> Pada Hari Ke- 6.....	17
4.2 pH Awal dan pH Akhir Setelah 72 Jam Pertumbuhan Yeast dalam Hidrolisat BBJP.....	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bungkil Biji Jarak Pagar.....	5
2.2 <i>Trichoderma viride</i>	6
4.1 Kurva Pertumbuhan <i>S. cereviceae</i> Pada Berbagai Variasi Konsentrasi dan Waktu.....	19
4.2 Hubungan Populasi PST dengan Konsumsi Gula Reduksi oleh <i>S. cereviceae</i>	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media	31
A.1 Komposisi Media Potato Dekstrosa Agar (PDA)	31
A.2 Komposisi Media <i>Yeast Ekstract Pepton Dextrose</i> (YPD)	31
A.3 Komposisi Media <i>Yeast Extract Pepton Dextrose Agar</i> (YPDA)	31
B. Komposisi Reagen <i>Somogyi-Nelson</i>	32
B.1 Komposisi Reagen <i>Somogyi</i>	32
B.2 Komposisi Reagen <i>Nelson</i>	32
C. Kurva Standart Glukosa	33
C.1 Tabel Standart Glukosa	33
C.2 Kurva Standart Glukosa	33
D. Konsentrasi Gula Reduksi	34
E. Kurva Standart PST	35
E.1 Tabel Standart PST	35
E.2 Kurva Standart PST	35

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki potensi limbah biomassa yang sangat melimpah. Salah satunya adalah ampas jarak yang berupa bungkil biji jarak pagar (Fahmi, 2013). Bungkil biji jarak pagar (BBJP) merupakan limbah dari pengolahan biji jarak dalam menghasilkan minyak (Arafadi *et al.*, 2013). BBJP juga merupakan hasil samping dari proses pembuatan biodiesel (Montes *et al.*, 2011).

Limbah berupa BBJP dapat dimanfaatkan sebagai pakan alternatif sumber protein untuk ternak. Namun dalam pemanfaatannya, limbah tersebut memiliki beberapa kendala, yaitu adanya senyawa racun dan senyawa antinutrisi (Makkar *et al.*, 2008). Pemanfaatan limbah yang belum optimal tersebut, dapat dilakukan proses fermentasi pada bungkil biji jarak pagar dengan menggunakan enzim ekstraseluler dari kapang *Trichoderma viride* sebagai upaya detoksifikasi senyawa racun dan antinutrisi (Tjakradidjaja *et al.*, 2007; Mahajati, 2008).

T. viride merupakan salah satu kapang mesofilik penghasil enzim selulolitik yang sangat efisien, terutama mampu menghidrolisis selulosa (Wirakartakusumah *et al.*, 1987; Mahajati, 2008). Menurut Jaelani (2007); (Mahajati, 2008) penelitian mengenai fermentasi dalam menurunkan senyawa toksik dan antinutrisi, sudah pernah dilakukan oleh kapang *Trichoderma reesei* yang juga penghasil enzim selulase pada Bungkil Inti Sawit (BIS) yang menyebabkan kenaikan ADF (*Acid Detergent Fiber*) dan protein kasar, namun terjadi penurunan NDF (*Neutral Detergen Fiber*) dan hemiselulosa serta penyusutan bahan kering. Peningkatan kandungan protein kasar BISF (Bungkil Inti Sawit Fermentasi) berkisar antara 23,29%-24,37% dan penurunan NDF BISF berkisar antara 58,57%-72,42%. Penurunan NDF ini mengindikasikan bahwa *T. reesei* mampu dalam menghidrolisis dinding sel (mannanase, selulase, dan β -glukosidase) menjadi oligosakarida dan monosakarida seperti mannosa, glukosa, xylose, dan galaktosa). Sedangkan untuk peningkatan kandungan ADF BISF berkisar 40,54%-53,00% dan kandungan hemiselulosa BISF berkisar 12,15%-

23,39%. Penurunan hemiselulosa merupakan aktivitas enzim mannanase. Aktivitas kapang pada waktu fermentasi lebih cenderung dalam pembentukan selulosa daripada hemiselulosa.

Hidrolisis selulosa oleh kapang *T. viride* meliputi proses pemecahan selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya (Ul-Haq *et al.*, 2005). Pemanfaatan hasil hidrolisis tersebut dapat digunakan sebagai media produksi Protein Sel Tunggal (PST) (Sutopo, 1986; Wulandari *et al.*, 2012). Manfaat PST antara lain dapat digunakan sebagai makanan tambahan pada hewan ternak yang kaya akan protein dan dapat pula digunakan sebagai alternatif pengganti protein daging (Ugalde dan Castrillo, 2005).

Setiap mikroorganisme yang dapat tumbuh menggunakan selulosa sebagai sumber karbon dapat digunakan sebagai PST. Bahan lain yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan suatu mikroorganisme dalam pembuatan protein sel tunggal adalah bahan yang mengandung gula. Mikroorganisme yang digunakan sebagai PST dalam penelitian ini adalah yeast *Saccharomyces cereviceae*. Penggunaan *S. cereviceae* dalam pembuatan PST berdasarkan pada beberapa keuntungan yeast ini dalam beberapa hal. Misalnya, toleran terhadap lingkungan yang lebih asam dengan pH berkisar 3,5 sampai 5,5, mempunyai suhu pertumbuhan 25⁰C-30⁰C, dan mempunyai diameter sebesar 0,0005 cm. Diameter yeast yang sangat besar ini memudahkan yeast untuk dipisahkan dengan cara sentrifugal (Mark, 1991; Pawignya, 2011)

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu diketahui bagaimana perkembangan PST *S. cereviceae* pada media hasil hidrolisis BBJP oleh *T. viride*.

1.2 Rumusan Masalah

Adanya senyawa racun dan antinutrisi yang menyebabkan pemanfaatan limbah BBJP belum optimal. Hal ini mengakibatkan BBJP tidak dapat digunakan secara langsung sebagai pakan ternak. Dengan adanya fermentasi BBJP menggunakan enzim ekstraseluler dari kapang *T. viride*, dapat membantu dalam

menghasilkan hidrolisat berupa gula reduksi yang akan digunakan sebagai media produksi PST yeast *S. cereviceae*.

1.3 Batasan Penelitian

Optimasi hidrolisis BBJP menggunakan enzim ekstraseluler dari Kapang *T. viride* dan pemanfaatannya sebagai media produksi PST *S. cereviceae*.

1.4 Tujuan

Penelitian dilakukan untuk memanfaatkan filtrat hasil hidrolisis BBJP menggunakan enzim ekstraseluler dari kapang *T. viride* sebagai bahan dasar media produksi PST yeast *S. cereviceae*.

1.5 Manfaat

1. Penelitian ini diharapkan memperoleh hasil biokonversi material penting untuk produksi PST.
2. Keberhasilan penelitian dapat dijadikan sebagai strategi untuk memproduksi PST berbasisan biomassa limbah pertanian, khususnya bungkil biji jarak pagar.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bungkil Biji Jarak Pagar

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) adalah tanaman tahunan yang berasal dari daerah tropis, yaitu Amerika Tengah dan sekarang telah menyebar ke berbagai tempat di Afrika dan Asia (Oktavianus *et al.*, 2013). Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991); (Mahajati, 2008), *J. curcas* L. termasuk dalam divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledonae, ordo Euphorbiales, famili Euphorbiaceae, genus *Jatropha*, spesies *Jatropha curcas* L.

Tanaman jarak pagar tumbuh pada kondisi lingkungan dengan curah hujan 200-1500 mm/tahun (Gubitz *et al.*, 1999; Windarwati, 2011). Tanaman jarak pagar memiliki habitus pohon dan merupakan tanaman perdu. Tinggi tanaman ini berkisar 1-7 meter. Batangnya berkayu, silindris, dan apabila terluka akan mengeluarkan getah (Hambali *et al.*, 2006; Windarwati, 2011).

Tipe daun pada tanaman jarak pagar adalah daun tunggal, permukaan bawah daun lebih pucat daripada permukaan atas daun, bentuk daun jantung dengan lebar daun berkisar 5-15cm, ujung daun meruncing, dan tulang daun menjari dengan jumlah tulang daun utama adalah 5-7. Bunga tanaman jarak pagar adalah bunga majemuk berbentuk malai dengan warna kuning kehijauan dan berumah satu. Bunganya mempunyai 5 kelopak dan 5 mahkota. Buah pada tanaman jarak pagar berupa buah kotak dan terdiri dari tiga ruang. Sehingga masing-masing ruang terdapat tiga biji. Bijinya berbentuk bulat lonjong dan berwarna coklat kehitaman (Hambali *et al.*, 2006; Windarwati, 2011).

Pengolahan dari beberapa bagian tubuh tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) ini akan menghasilkan berbagai macam limbah, yaitu kulit luar dari buah jarak, cangkang warna hitam, dan bungkil biji (Makkar dan Becker, 1997). Pada limbah BBJP banyak mengandung protein dan minyak yang tinggi. Sedangkan pada cangkangnya, umumnya terdiri dari serat dan lignin yang cukup tinggi. Oleh sebab itu, bungkil yang tercampur cangkang akan menghasilkan nilai

nutrisi yang lebih rendah karena kandungan lignin dan serat di dalam bungkil menjadi tinggi (Makkar *et al.*, 1997).



Gambar 2.1 Bungkil Biji Jarak Pagar (Elizabeth *et al.*, 2008)

Protein yang terdapat di dalam biji jarak pagar berkisar 45%-55% dan pada cangkang berkisar 20%-30% (Marasabessy *et al.*, 2011). Pada biji jarak pagar juga mengandung serat (14%) dan karbohidrat (50%) (Dave *et al.*, 2012). Sedangkan kandungan energi pada BBJP mengandung 24,8% protein dan 18,17% lemak. BBJP juga memiliki kadar serat sebesar 35,95% dan lignin sebesar 24,61% (Imy, 2006; Mahajati, 2008). Untuk komposisi nutrisi biji jarak yang berpotensi menimbulkan toksik adalah sebagai berikut: protein kasar 27,2%, lemak 58,5%, abu 4,3%, gross energi 31,1 MJ/kg, dan NDF 3,8%. (Makkar *et al.*, 1998).

BBJP memiliki kandungan nutrisi yang sangat baik untuk ternak. Namun terdapat beberapa senyawa antinutrisi dalam membatasi penggunaannya. Kandungan antinutrisi tersebut meliputi *phorbol ester*, *tannin*, *phytat*, *saponin*, dan *alkaloid* (Sanusi *et al.*, 2013). Menurut Brodjonegoro *et al.* (2005); (Mahajati, 2008) senyawa racun utama yang diduga paling banyak pada BBJP adalah *phorbol ester* dan *curcin*.

Tabel 2.1 Komposisi Zat Makanan dan Fraksi Serat BBJP

Zat makanan	BBJP dengan cangkang	Cangkang biji Jarak pagar
Bahan kering (%)	89,71	88,31
Abu (% BK)	5,20	4,22
Protein kasar (% BK)	24,28	10,21
Lemak kasar (% BK)	15,99	5,71
Serat kasar (% BK)	38,49	59,62
BeTN (% BK)	16,06	20,24
NDF (% BK)	57,64	93,40
Hemiselulosa/ADS (% BK)	10,45	12,48
ADF (% BK)	46,78	80,90
Selulosa (% BK)	19,22	34,85
Lignin (% BK)	23,98	46,00
Silika (% BK)	3,51	0,03

(Tjakradidjaja *et al.*, 2007; Mahajati, 2008).

2.2 Kapang *Trichoderma viride* dan Enzim Ekstraseluler

Kapang *Trichoderma* spp. merupakan mikroorganisme utama dalam menghasilkan enzim selulase. (Aiello *et al.*, 1996; Kasmiran dan Tarmizi, 2012). *T. viride* adalah kapang berfilamen yang dikenal sebagai kapang selulolitik (Deacon, 1997; Gunam *et al.*, 2006). Menurut Frazier dan Westhoff (1978); (Mahajati, 2008), *T. viride* termasuk dalam divisi Mycotina, kelas Deuteromycetes, ordo Moniliales, famili Moniliaceae, genus *Trichoderma*, spesies *Trichoderma viride*.



Gambar 2.2 a. *Trichoderma viride* b. Konidia c. Konidiofor (Dewi *et al.*, 2015).

Koloni kapang *T. viride* yaitu miselium berseptat dan bercabang banyak, mempunyai konidiospora, berwarna hijau cerah, dan bergerombol menjadi satu bola. *T. viride* mempunyai konidiofora bebas yang muncul dari miselium secara tidak teratur (Frazier dan Westhoff, 1978; Mahajati, 2008). Pada umumnya kapang ini hidup pada kayu, mudah dikenal karena pertumbuhannya yang cepat, mula-mula berwarna putih kemudian tampak seperti bintik-bintik kecil berwarna hijau karena konidium yang telah terbentuk (Dharmaputra, 1989; Mahajati, 2008). Menurut Wirakartakusumah *et al* (1983); (Mahajati, 2008) pH optimum untuk pertumbuhan *T. viride* adalah sekitar 4,5-5 dengan suhu optimal aktivitas selulase adalah 60⁰C dan waktu optimumnya dalam melakukan pertumbuhan adalah empat hari.

T. viride menghasilkan tiga macam enzim selulase yaitu endo- β -1,4 glukonase, ekso- β -1,4-glukanase dan β - glukosidase atau selobiose (Saparianti *et al.*, 1992). Enzim selulase secara konseptual adalah enzim yang mendegradasi selulosa menjadi gula sederhana. Degradasi selulosa adalah sebuah proses yang kompleks yang merupakan aksi sinergis dari beberapa enzim (Pandey *et al.*, 2000). Kelebihan dari *T. viride* selain menghasilkan enzim selulolitik yang lengkap, juga menghasilkan enzim xyloglukanolitik. Keberadaan enzim semakin memudahkan kapang selulolitik dalam memecah selulosa (Tribak *et al.*, 2002; Gunam *et al.*, 2006).

Penggunaan enzim telah banyak digunakan dalam industri unggas. Hal ini dikarenakan dapat memperbaiki nilai gizi dan memperbaiki kualitas makanan pada pakan ternak. Selain enzim selulase, terdapat pula enzim mannanase yang merupakan enzim ekstraseluler yang diperoleh dari limbah berupa ampas kelapa. Hal ini sesuai dengan pendapat Lin dan Chen (2004); (Kasmiran dan Tarmizi, 2012) yang menyatakan bahwa kopra adalah sumber karbon yang baik untuk produksi enzim mannanase, tetapi isi minyak yang tinggi pada kopra juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Penggunaan mikroorganisme sebagai sumber enzim memiliki beberapa keuntungan yaitu produksi enzim dapat ditingkatkan dengan cepat selama proses fermentasi dan produksi yang dihasilkan

tidak menimbulkan kerusakan pada lingkungan (Akhtar, 1997; Kasmiran dan Tarmizi, 2012).

2.3 Fermentasi Padat

Fermentasi merupakan proses metabolisme dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisa, dan reaksi kimia lainnya sehingga pada saat proses fermentasi terjadi perubahan reaksi kimia pada suatu substrat organik dengan menghasilkan produk tertentu (Saono, 1974; Mahajati, 2008). Substrat yang mengalami fermentasi menghasilkan nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan bahan asalnya. Hal ini dikarenakan adanya sifat katabolik dan anabolik suatu mikroorganisme, sehingga dapat menghidrolisis komponen kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana sehingga mudah dicerna (Winarno, 1980; Mahajati, 2008).

Pada saat ini, banyak digunakan metode fermentasi fasa padat atau *Solid State Fermentation* (SSF) dalam memproduksi enzim, yang nantinya akan digunakan untuk menghidrolisis suatu substrat. Prinsip dasar SSF adalah pertumbuhan mikroorganisme pada substrat padat basah dengan kadar air rendah dan memiliki kelembaban yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme suatu mikroba (Dave *et al.*, 2012).

Ada beberapa keuntungan dari metode SSF, yaitu medium fermentasi lebih murah, peralatan dan pengaturan operasi yang sederhana diperoleh jumlah produk yang lebih tinggi, kebutuhan energi yang rendah, proses *scaling up* yang lebih mudah, stabilitas produk yang lebih tinggi, dan pengendalian kontaminasi lebih mudah karena rendahnya kadar air saat proses fermentasi berlangsung (Prabhakar *et al.*, 2005). Menurut Knapp dan Howel (1980); (Septiningrum dan Apriana, 2011) hal-hal yang perlu diperhatikan ketika melakukan fermentasi padat adalah sifat media yang berhubungan dengan kristalisasi dan derajat polimerisasi, sifat mikroorganisme yang mana setiap mikroorganisme memiliki kemampuan yang berbeda dalam memecah komponen media untuk keperluan metabolisme, dan sifat kinetika metabolisme serta kinetika enzim (Jaelani, 2011).

Salah satu faktor utama keberhasilan SSF adalah pemilihan substrat padat. Substrat padat tersebut digunakan sebagai tempat hidup dan sumber nutrisi mikroba untuk melakukan aktivitas hidupnya (Shah dan Madamwar, 2005; Septiningrum dan Apriana, 2011). Substrat padat yang dibutuhkan harus mengandung makronutrisi, mikronutrisi, dan elemen-elemen lainnya yang dapat mendukung aktivitas mikroorganisme (Septiningrum dan Apriana, 2011).

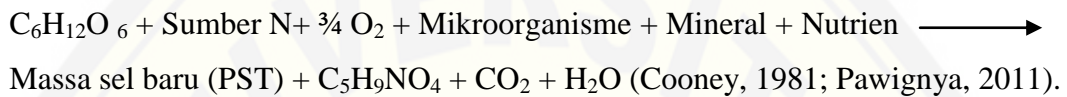
2.4 Protein Sel Tunggal Yeast *Saccharomyces cereviceae*

Penggunaan mikroorganisme secara langsung sebagai makanan manusia ataupun hewan sudah pernah dilakukan sejak awal abad ke-19. Salah satu contohnya adalah penggunaan *Candida utilis* sebagai bahan makanan hewan ataupun manusia selama perang dunia II. Pada tahun 1957, dilakukan percobaan pertama kali untuk membiakkan mikroorganisme dalam skala besar. Produk yang dibiakkan tersebut dikenal dengan *Single Cell Protein* (Protein Sel Tunggal) yang berasal dari mikroorganisme bersel tunggal (Hariyum, 1986; Wulandari *et al.*, 2012).

Scrimshaw (1963) dan Wilson (1966); (Wulandari *et al.*, 2012), menamakan hasil yang telah dikeringkan tersebut sebagai PST. Pada saat ini, PST yang sedang dikembangkan antara lain ganggang (*Spirulina maxima*, *Chlorella sp.*, dan *Scenedesmus sp.*), jamur benang (*Agaricus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Endomycopsis fibuligera*, *Trichosporon cutaneum*), bakteri (*Bacillus sp.*, *Cellidomonas sp.*, *Acinobacter calceaticus*, *Nocardia sp.*), dan jenis-jenis ragi lainnya (*Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Saccharomyces sp.*) (Hariyum, 1986; Wulandari *et al.*, 2012).

Istilah PST digunakan untuk protein kasar atau murni yang berasal dari mikroorganisme yang bersel tunggal (Tannenbaum, 1971; Pawignya, 2011). Beberapa fungsi dari PST adalah dapat digunakan sebagai protein tambahan pada pangan, pelengkap protein untuk ternak, dan sebagai pembentuk cita rasa pada pangan (Pawignya, 2011). Menurut Muljono (1992); (Pawignya, 2011), pengembangan produk PST memiliki prospek yang cukup baik. Hal ini dikarenakan dalam memproduksinya tidak membutuhkan areal yang cukup luas,

tidak menimbulkan limbah, dan proses produksinya cepat. Reproduksi mikroorganisme seperti bakteri dan khamir dapat memberikan hasil yang sangat besar setiap jamnya, sedangkan ganggang memerlukan waktu kurang dari satu hari. Persamaan reaksi pembuatan PST pada proses fermentasi adalah sebagai berikut:



Jenis yeast yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. cereviceae*. *S. cereviceae* termasuk dalam kelas Ascomycetes yang banyak mengandung karbohidrat, protein, dan lemak, sehingga dapat dimanfaatkan dan dikonsumsi oleh manusia untuk melengkapi kebutuhan nutrisi sehari-hari. Selain itu, *S. cereviceae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *S. cereviceae* mudah dicerna dan tidak menularkan penyakit (Tjokroadikoesoemo, 1986; Amaria *et al.*, 2001; Purwitasari *et al.*, 2004). *S. cereviceae* tumbuh dalam berbagai media yang memiliki sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral, dan air (Wibowo, 1990; Amaria *et al.*, 2001; Purwitasari *et al.*, 2004).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan September sampai Desember 2015 dan meneruskan penelitian pada bulan Desember 2017 sampai Januari 2018.

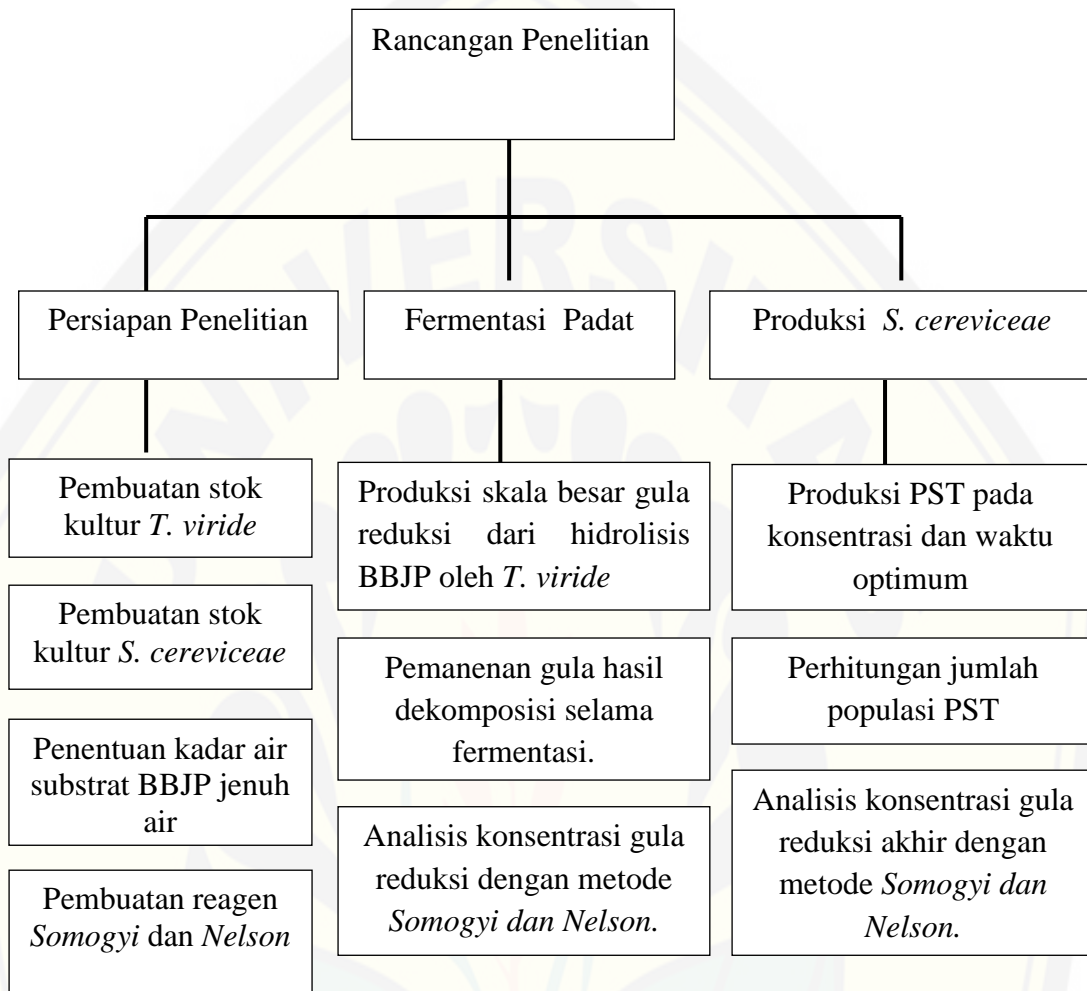
3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari inkubator, neraca analitik, labu Erlenmeyer 1000 mL, pipet volum, *shaker*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pH meter, penangas air, gelas beaker, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), petridish, jarum ose, lampu bunsen, labu Erlenmeyer 250 mL, gelas ukur, *sentrifuge*, *microtube*, spatula, *haemocytometer*, spektrofotometer, mikropipet, tip, vorteks, oven, lemari es, kantong teh kosong, nampan, korek api, spidol penanda, kamera, dan batang L.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bungkil biji jarak pagar yang diperoleh dari Yayasan Semen Indonesia Gresik, akuades, isolat *T. viride* dan *S. cereviceae* yang diperoleh dari Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Tangerang Selatan, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media YEPD (*Yeast Extract Pepton Dextrose*), alkohol 70%, kapas, kertas dorslag, tisu, kertas saring Whatman no 1 ukuran 1x6 cm, glukosa *anhidrat*, air, reagen *Somogyi* dan *Nelson*, aquades, dan kertas label.

3.3 Prosedur Penelitian

Pada prosedur penelitian ini, dibagi menjadi tiga tahapan yaitu persiapan penelitian, fermentasi padat pada substrat bungkil biji jarak pagar oleh *T. viride*, dan produksi PST *S. cereviceae*. Adapun rancangan penelitiannya seperti di bawah ini.



3.3.1 Pembuatan Stok Kultur *T. viride* dan *S. cereviceae*

Pembiakan kultur *T. viride* dengan cara satu ose diinokulasikan pada 10 media PDA dalam cawan petri. Selain itu, diinokulasikan juga sebanyak satu ose pada 5 ml PDA miring pada tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30⁰C sebagai stok isolat kapang.

Sedangkan untuk pembiakan *S. cereviceae*, diambil 1 ose isolat dan diinokulasikan pada 10 ml YEPD dengan cara *streak plate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30⁰C sebagai stok kultur isolat PST.

3.3.2 Penentuan Kadar Air Substrat BBJP Jenuh Air

Sebanyak 5 gr bungkil biji jarak pagar pada 7 kantong teh kosong direndam dengan akuades selama 30 menit. Kemudian digantung *overnight* sampai air tidak menetes. Setelah itu ditimbang sebagai berat basah = A gr. Selanjutnya dioven dengan suhu 50⁰C selama 6 jam dan ditimbang sampai berat konstan sebagai berat kering = B gr. Kemudian dikeluarkan isinya dan ditimbang kantong beserta talinya (C gr). Rumus kadar air = $A - (B+C)$.

3.3.3 Hidrolisis BBJP oleh *T. viride*

Sebanyak 50 gr BBJP dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL dengan lima kali pengulangan dan ditambahkan dengan air sebesar kadar air yang telah dihitung dari penentuan kadar air substrat BBJP jenuh air. Selanjutnya dilakukan sterilisasi pada media BBJP tersebut. Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 20 menit, kemudian didinginkan. Setelah itu, isolat *T. viride* diinokulasikan pada media tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari. Selanjutnya pemanenan dilakukan dengan menggunakan H₂O dengan perbandingan BBJP dengan H₂O adalah 1:4. Setelah itu dishaker selama 6 jam dan difiltrasi menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat hasil fermentasi BBJP. Kemudian filtrat tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan filtrat dan pelet yang masih tersisa. Selanjutnya hidrolisat difiltrasi dengan membran filter dengan pori-pori berdiameter 0,2 µm dalam kondisi dingin. Kemudian diuji kandungan gula reduksi.

3.3.4 Analisis Konsentrasi Gula Reduksi Awal dengan Metode *Somogyi* dan *Nelson*

a. Pembuatan Reagen *Somogyi* dan *Nelson*

Pembuatan reagen *Somogyi* dilakukan dengan cara menghomogenkan larutan 1 yang mengandung 240 ml aquades, 24 gram Na₂CO₃ *anhidrous*, dan 12 gram Potassium sodium (C₄H₄KN₄O₆H₂O). Kemudian menghomogenkan larutan 2 yang mengandung 40 ml CuSO₄.5H₂O dan 16 gram NaHCO₃. Selanjutnya

larutan 1 dan 2 dicampur dan dilarutkan sampai benar-benar larut. Larutan ketiga yang mengandung 180 gram NaSO_4 *anhydrous* dilarutkan dalam 300 ml aquades. Selanjutnya ketiga larutan dicampur dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan *difill up* dengan aquades sampai mencapai volume total 1000 ml. Kemudian reagen *somogyi* diletakkan pada botol gelap dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C serta disimpan pada suhu ruang.

Pembuatan reagen *Nelson* menggunakan dua jenis larutan yaitu larutan pertama mengandung 50 gram $(\text{NH}_4) \text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 46 ml *sulfuric acid*, dan 500 ml aquades dan larutan kedua mengandung 6 gram $\text{NaH}_4\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 25 ml aquades. Kemudian kedua larutan dicampur dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan ditambah aquades sampai volume 1000 ml. Setelah itu, reagen *nelson* disimpan pada botol gelap dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam serta disimpan pada suhu ruang.

b. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Sebanyak 10 ml glukosa anhidrat dilarutkan dalam air hingga 100 mL. Larutan standart ini dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 10 $\mu\text{g}/100$ mL. Setelah itu diambil sebanyak 500 μl dan ditambahkan 500 μl reagen *Somogyi* pada masing-masing pengenceran. Setelah itu divortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Selanjutnya diambil semua tabung dan dimasukkan ke dalam baker gelas yang berisi air dingin. Kemudian ditambahkan 500 μl reagen *Nelson* dan 2,5 mL aquades. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

c. Analisa Kadar Gula reduksi

Pengambilan filtrat hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan mikro pipet 1000 μL , diambil sebanyak 500 μl dengan lima kali pengulangan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 500 μl reagen *Somogyi* yang berfungsi sebagai senyawa mengandung kupri oksida yang akan

direduksi oleh gula reduksi menjadi endapan kupro oksida dan dipanaskan pada penangas air selama 15 menit yang bertujuan mempercepat reaksi reduksi. Semua tabung diambil dan dimasukkan ke dalam baker gelas yang berisi air dingin. Setelah dingin, ditambahkan 500 μ l reagen *Nelson* yang berfungsi mengikat endapan kupro oksida menjadi molybdenum yang optimum terbaca pada panjang gelombang 500 nm. Setelah itu, ditambahkan 2,5 ml akuades dan dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 500 nm. Data absorbansi diplot pada persamaan regresi liner yang diperoleh dari kurva standart glukosa. Konsentrasi kandungan gula reduksi ditetapkan dengan membandingkan dengan larutan standar glukosa

3.3.5 Produksi *S. cereviceae* Pada Media Hasil Hidrolisis BBJP

a. Pembuatan Kurva Standart Hubungan Antara Jumlah Populasi PST Pada *Haemocytometer* dengan Absorbansi PST Pada Spektrofotometer

Pembuatan kurva standart hubungan antara jumlah populasi PST pada haemocytometer dengan absorbansi PST pada spektrofotometer dilakukan dengan 1 ose koloni tunggal *S. cereviceae* diinokulasikan pada 20 ml media YEPD cair, kemudian dilakukan inkubasi shaker selama 3 hari. Setelah itu, dilakukan 5 seri pengenceran yaitu 1x, 2x, 3x, 4x, dan 5x dari kultur *S. cereviceae* dan divortex. Setiap pengenceran dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 600 nm. Selain itu, dilakukan perhitungan populasi *S. cereviceae* dengan menggunakan haemocytometer. Perhitungan jumlah sel PST dilakukan dengan 16 kotak kecil yang terdapat pada *haemocytometer* di bawah mikroskop cahaya dengan pengulangan perhitungan sampai 3 kali.

b Produksi PST Berdasarkan Konsentrasi dan Waktu Optimum Pertumbuhan *S. cereviceae* Pada Media Hidrolisat BBJP

Hidrolisat BBJP sebanyak 50 ml yang telah divariasi konsentrasinya, dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf. Kemudian suspensi *S. cereviceae*

diinokulasikan pada media Hidrolisat BBJP. Selanjutnya dilakukan inkubasi shaker selama 72 jam dan setiap interval 6 jam, dilakukan pengambilan sampel sebanyak 500 μl . Perhitungan jumlah populasi *S. cereviceae* dengan cara sebanyak 100 μl kultur *S. cereviceae* pada variasi konsentrasi dan waktu inkubasi dimasukkan ke dalam 900 μl H₂O steril dengan dua kali pengulangan dan divortex. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm. Jumlah populasi PST dihitung menggunakan persamaan yang didapatkan pada pembuatan kurva standart hubungan *S. cereviceae* pada panjang gelombang 600 nm dengan populasinya pada *haemocytometer*.

3.3.6 Analisis Konsentrasi Sisa Gula Reduksi dengan Metode *Somogyi* dan *Nelson*

Perhitungan konsentrasi gula reduksi akhir dilakukan dengan cara sebanyak 50 μl kultur *S. cereviceae* pada variasi konsentrasi dan waktu inkubasi diencerkan pada 450 μl H₂O. Kemudian ditambahkan 500 μl reagen *Somogyi* yang berfungsi sebagai senyawa mengandung kupri oksida yang akan direduksi oleh gula reduksi menjadi endapan kupro oksida dan dididihkan selama 15 menit untuk mempercepat reaksi reduksi. Setelah dingin, ditambahkan 500 μl reagen *Nelson* yang berfungsi mengikat endapan kupro oksida menjadi molybdenum yang optimum terbaca pada panjang gelombang 500 nm. Setelah itu ditambahkan 2,5 ml akuades. Kemudian, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit untuk membebaskan filtrat dari sel. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm dengan dua kali pengulangan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hidrolisis substrat BBJP oleh *T. viride* selama inkubasi 6 hari menghasilkan gula reduksi sebesar 102.8 µg/ml. Gula reduksi tersebut digunakan sebagai media pertumbuhan yeast *S. cereviceae*. Hasil analisis pertumbuhan *S. cereviceae* pada hidrolisat BBJP diperoleh konsentrasi optimum pada media hidrolisat tanpa pengenceran. Sedangkan waktu optimum pertumbuhan sel *S. cereviceae* terjadi selama masa inkubasi 54 jam dengan menghasilkan $2,5 \times 10^5$ sel per ml. Selama pertumbuhannya pada media hidolisat BBJP, yeast menggunakan gula reduksi sebesar 37,1 µg/ml sebagai sumber karbon untuk proses metabolismenya.

5.2 Saran

Perlu dilakukan optimasi lanjutan untuk mengetahui pertumbuhan optimum dari *S. cereviceae* pada hidrolisat BBJP, terutama analisis terhadap pH.

DAFTAR PUSTAKA

- Amira, D., Roshanida, A., & Rosli, M. 2012. Effects of Xylanase and Cellulase Production during Composting of EFB and POME using Fungi. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 6(8), 340–343.
- Arafadi, F., Suryapratama, W., & Widiyastuti, T. 2013. Pengujian Bahan Pakan Bungkil Biji Jarak Fermentasi Secara In Vitro Ditinjau dari Kecernaan Protein Kasar dan Serat. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(2), 437–445.
- Belewu, M & Sam, R. 2010. Solid State Fermentation of *Jatropha curcas* Kernel Cake: Proximate Composition and Antinutritional Components. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(May), 44–46.
- Dave, B. R., Sudhir, A. P., Pansuriya, M., Raykundaliya, D. P., & Subramanian, R. 2012. Utilization of *Jatropha* Deoiled Seed Cake for Production of Cellulases Under Solid-State Fermentation. *Bioprocess Biosyst Eng*, 35, 1343–1353.
- Dewi, A. K., Utama, C. S., & Mukodiningsih, S. 2014. Kandungan Total Fungi Serta Jenis Kapang dan Khamir pada Limbah Pabrik Pakan yang Difermentasi dengan Berbagai Aras Starter “Starfung.” *Agripet*, 14(2), 102–106.
- Dewi, A. L., Oktavianingsih, L., & Sudrajat. 2015. Identifikasi Cendawan Mikroskopis yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Pangkal Batang Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.) di Desa Batuah Kecamatan Loa Janan Kutai Kartanegara. *Prosiding Seminar Tugas Akhir FMIPA UNMUL*.
- Elizabeth, W., Susana, I. R., & Turma, P. 2008. Pemanfaatan Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) dan Kendalanya Sebagai Bahan Pakan Ternak. *Wartazoa*, 18(1), 1–8.
- Fahmi, F. 2013. *Pemanfaatan Ampas Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Hasil Samping Pengepresan Minyak Sebagai Bahan Baku Pembuatan Papan Artikel*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Febriyanti, A. E., & Sari, C. N. 2016. Efektivitas Media Pertumbuhan Khamir Komersial (*Saccharomyces cerevisiae*) Untuk Fermentasi Bioetanol Dari Eceng Gondok, 12(2), 43–48.
- Gunam, I. B., Aryanta, W., & Darma, I. B. N. 2006. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas

- Tebu dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biologi Umum*, 1–11.
- Hidayati, N. R., Pujiati., & Rahayu, D. T. 2016. Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Lama Hidrolisis Bagasse oleh *Aspergillus niger* pada Proses Produksi Bioetanol. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 827–831.
- Ijaz, A., Anwar, Z., Zafar, Y., Hussain, I., Muhammad, A., Irshad, M., & Mehmood, S. 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.
- Jaelani, A. 2011. Dinamika Perubahan Media Bungkil Inti Sawit Selama Fermentasi Oleh Kapang *Trichoderma reesei*. *Media Sains*, 3(1), 108–116.
- Kasmiran, A & Tarmizi. 2012. Aktivitas Enzim Selulase Dari Kapang Selulolitik Pada Substrat Ampas Kelapa. In *Lentera* (Vol. 12, pp. 9–14).
- Kinanti, Langen. 2017. Praktikum Analisis Kadar Gula Reduksi, Kadar Gula Total, dan Kadar Pati. Universitas Padjadjaran.
- Mahajati, R. 2008. *Efektivitas Bungkil Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) yang Difermentasi Berbagai Jenis Kapang Sebagai Pakan Mencit (Mus musculus)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mahreni & Suhenry, S. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Media Tepung Kulit Pisang. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, 1–6.
- Makkar, H. P., Aderibigbe, A., & Bekker, K. 1998. Comparative Evaluation Of Non-Toxic and Toxic Varieties Of *Jatropha curcas* For Chemical Composition, Digestibility, Protein Degradability and Toxic Factors. *Food Chemistry*, 62(2), 207–215.
- Makkar, H. P., Becker, K., Sporer, F., & Wink, M. 1997. Studies On Nutritive Potential and Toxic Constituents Of Different Provenances Of *Jatropha curcas*. *Jurnal Agric. Food Chem*, 45, 3152–3157.
- Makkar, H. P & Becker, K. 1997. *Potential Of J.curcas Seed Meal As A Protein Supplement to Livestock Feed, Constraints to It's Utilisation and Possible Strategies to Overcome Constraints*. University Of Hohenheim.
- Makkar, H. P. S., Francis, G., & Becker, K. 2008. Protein Concentrate from *Jatropha curcas* Screw-Pressed Seed Cake and Toxic and Antinutritional Factors In Protein Concentrate. *Science Of Food and Agriculture*, 88, 1542–1548.

- Marasabessy, A., Moeis, M. R., Sanders, J. P., & Weusthuis, R. A. 2011. Enhancing Jatropha Oil Extraction Yield from The Kernels Assisted by a Xylan-Degrading Bacterium to Preserve Protein Structure. *Appl Microbiol Biotechnol*, 90, 2027–2036.
- Montes, J., Aliciardi, R. M., Chavez, V. J., Guzman, C., & Calandri, E. 2011. Characterization Of Jatropha Curcas L. Seed and Its Oil , From Argentina and Paraguay. *Journal Of The Argentine Chemical Society*, 98, 1–9.
- Oktavianus, F., Sigiro, R. M., & Bustan, M. D. 2013. Pembuatan Bioetanol Dari Batang Jarak Menggunakan Metode Hidrolisa Dengan Katalis Asam Sulfat. *Jurnal Teknik Kimia*, 19(2), 27–32.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., & Soccol, V. T. 2000. Biotechnological Potential Of Agro-industrial Residues. I: Sugarcane Bagasse. *Bioresource Technology*, 74, 69–80.
- Pawignya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia* (pp. 1–5). Yogyakarta.
- Prabhakar, A., Krishnaiah, K., Janaun, J., & Bono, A. 2005. An Overview Of Engineering Aspects Of Solid State Fermentation. *Malaysian Journal Of Microbiology*, 1(2), 10–16.
- Purwitasari, E., Pangastuti, A., & Setyaningsih, R. 2004a. Pengaruh Media Tumbuh terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi*.
- Purwitasari, E., Pangastuti, A., & Setyaningsih, R. 2004b. Pengaruh Media Tumbuh terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi*, 1(2), 37–42.
- Riyanti, E. I. 2009. Biomassa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(3), 101–110.
- Rukmi, W. D., Zubaidah, E., & Maria, M. 2012. Pembuatan Starter Kering Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat dan *Saccharomyces cereviceae* Untuk Proses Fermentasi Produk Sereal Instan. *Jurnal Tek. Pert*, 4(1), 56–69.
- Sanusi, G. O., Belewu, M., & Oduguwa, B. 2013. Changes In Chemical Composition Of Jatropha curcas Kernel Cake After Solid-State Fermentation Using Some Selected Fungi. *Global Journal Of Biology, Agriculture, and Health Sciences*, 2(2), 62–66.

- Saparianti, E., Dewanti, T., & Dhoni, S. 1992. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma viride*. *J. Tek. Pert*, 5(1), 1–10.
- Septiningrum, K & Apriana, C. 2011. Produksi Xilanase Dari Tongkol Jagung Dengan Sistem Bioproses Menggunakan *Bacillus circulans* Untuk Pra-Pemutihan Pulp. *Riset Industri*, V(1), 87–97.
- Sharah, Annisa., Karnila, Rahman., Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi Dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger sp.*). *Jom*, 1–8.
- Thontowi, A. 2007. Produksi β -Glucan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentator. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 8(4), 253–256.
- Ugalde, U & Castrillo, J. 2005. *Single Cell Proteins From Fungi and Yeasts*. Basque Country and Manchester.
- Ul-Haq, I., Javed, M. M., Khan, T. S., & Siddiq, Z. 2005. Cotton Saccharifying Activity Of Cellulases Produced by Co-culture Of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Research Journal Of Agriculture and Biological Science*, 1(3), 241–245.
- Wahono, S. K., Damayanti, E., Rosyida, V. T., & Sadyastuti, E. I. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, (July), 1–6.
- Wignyanto., Suharjo., & Novita. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2(1), 68–77.
- Wijaya, C. 2015. *Degradasi Bungkil Biji Jarak Pagar Oleh Enzim Ekstraseluler Trichoderma viride*. Jember: Universitas Jember.
- Windarwati, S. 2011. *Pemanfaatan Fraksi Aktif Ekstrak Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas Linn.) Sebagai Zat Antimikroba dan Antioksidan dalam Sediaan Kosmetik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wulandari, E., Idiyanti, T., & Sinaga, E. 2012. Limbah Molas : Pemanfaatan sebagai Sumber Karbohidrat untuk Perkembangbiakan Mikroorganisme. *Valensi*, 2(5), 565–572.

LAMPIRAN

Lampiran A. KOMPOSISI MEDIA

A.1 Komposisi Media Potato Dekstrosa Agar (PDA)

No	Bahan	Jumlah/ Liter
1	Kentang	200 gram
2	Dekstrosa	10 gram
3	Agar	17 gram
4	Akuades	1000 ml

A.2 Komposisi Media *Yeast Ekstract Pepton Dextrose* (YPD)

No	Bahan	Jumlah/ Liter
1	Yeast	0.025 gram
2	Pepton	0.05 gram
3	Dektrosa	0.03 gram
4	Akuades	1000 ml

A.3 Komposisi Media *Yeast Extract Pepton Dextrose Agar* (YPDA)

No	Bahan	Jumlah/Liter
1	Yeast	0.225 gram
2	Pepton	0.45 gram
3	Dektrosa	0.45 gram
4	Agar	0.3375 gram
5	Akuades	1000 ml

Lampiran B. KOMPOSISI REAGEN SOMOGYI-NELSON**B.1 Komposisi Reagen Somogyi**

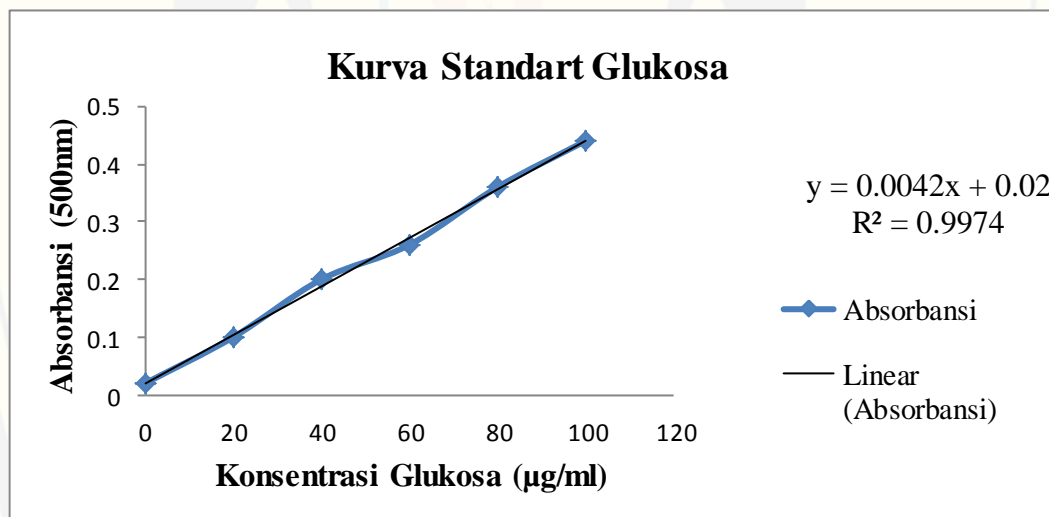
No	Bahan	Jumlah/Liter
1	Na_2CO_3	24 gram
2	$\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6\text{H}_2\text{O}$	12 gram
3	NaHCO_3	16 gram
4	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10 %	40 ml
5	Na_2SO_4	180 gram
6	Akuades	1000 ml

B.2 Komposisi Reagen Nelson

No	Bahan	Jumlah/Liter
1	$(\text{NH}_4)_2\text{MO}_7\text{O}_{24}$	50 gram
2	H_2SO_4	46 gram
3	$\text{NaHSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6 gram
4	Akuades	1000 ml

Lampiran C. KURVA STANDART GLUKOSA**C.1 Tabel Standart Glukosa**

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi (500 nm)
0	0.02
20	0.1
40	0.2
60	0.26
80	0.36
100	0.44

C.2 Kurva Standart Glukosa

Lampiran D. KONSENTRASI GULA REDUKSI**D.1 Konsentrasi Gula Reduksi**

Ulangan	Ulangan	Absorbansi (nm)	Rata-Rata	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
1	1	0.396	0.394	89.0
	2	0.408		
	3	0.377		
2	1	0.499	0.502	114.7
	2	0.517		
	3	0.489		
3	1	0.423	0.426	96.6
	2	0.428		
	3	0.427		
4	1	0.426	0.431	97.8
	2	0.439		
	3	0.427		
5	1	0.516	0.505	115.5
	2	0.494		
	3	0.505		
Rata-rata			0.452	102.8

LAMPIRAN E. KURVA STANDART PST**E.1 Tabel Standart PST**

Pengenceran	Absorbansi (600 nm)	Jumlah Sel/ml
Kontrol	0	0
5X	0.260	1777500
4X	0.306	2150000
3X	0.372	2680000
2X	0.451	3240000
0X	0.534	4015000

E.2 Kurva Standart PST