

**SKRINING DAN IDENTIFIKASI KAPANG SELULOLITIK PADA PROSES
VERMIKOMPOSTING TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)**

SKRIPSI

Oleh

**Widya Yuniar
NIM 081810401012**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**SKRINING DAN IDENTIFIKASI KAPANG SELULOLITIK PADA PROSES
VERMIKOMPOSTING TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)**

SKRIPSI

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

Oleh

Widya Yuniar
NIM 081810401012

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur, cinta, dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah Swt, tempat ku berlindung dan berserah diri;
2. Ayahku Edy Ashari, Ibu ku Siti Maisyaroh, kakek dan nenekku, beserta keluarga besar atas do'a dan dukungannya;
3. guru-guru dari taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi yang telah banyak memberikan ilmu bermanfaat;
4. Almamater tercinta, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Dan kamu tidak dapat menghendaki (menempuh jalan itu) kecuali apabila dikehendaki Allah Swt, Rabb semesta alam.
(Qs. At-Takwir: 29)*)

Segala sesuatunya tidak ada yang sempurna, namun dengan ketulusan, cinta, dan keikhlasan semua serasa sempurna.
(Rizki Andika)

*⁾ Departemen Urusan Agama Islam, Wakaf, Dakwah dan Irsyad Kerajaan Saudi Arabia.1995. *Al-Qur'an dan terjemahannya dalam Bahasa Indonesia*. Madinah Al-Munawwarah: Komplek Percetakan Alquranul Karim Kepunyaan Raja Fahd.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Widya Yuniar

NIM : 081810401012

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining dan Identifikasi Kapang Selulolitik pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Februari 2013

Yang Menyatakan,

Widya Yuniar
NIM 081810401012

SKRIPSI

SKRINING DAN IDENTIFIKASI KAPANG SELULOLITIK PADA PROSES VERMIKOMPOSTING TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)

Oleh

Widya Yuniar
NIM 081810401012

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Skринing dan Identifikasi Kapang Selulolitik pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)” 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. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP. 196008161989021001

Anggota I,

Anggota II,

Esti Utarti S.P., M.Si.
NIP. 197003031999032001

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP. 196012161993021001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D.
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Skrining dan Identifikasi Kapang Selulolitik pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS); Widya Yuniar, 081810401012; 2013: 33 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah padat pengolahan kelapa sawit yang melimpah. TKKS mempunyai karakteristik berukuran besar, didominasi bahan selulosa dan lignin, dan nilai C/N yang tinggi, sehingga secara alami TKKS sulit didekomposisi. Selulosa yang terdapat dalam TKKS sebesar 45,95 %, hemiselulosa 22,84 %, dan lignin 16,49 %. TKKS selama ini telah digunakan sebagai bahan dasar vermicomposting yang membutuhkan waktu produksi antara 2-3 bulan. Pada vermicomposting terdapat interaksi antara cacing tanah dan mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang berperan pada proses vermicomposting yaitu kapang selulolitik yang dapat menghasilkan selulase untuk mendegradasi kandungan selulosa pada TKKS. Tujuan dari penelitian ini yaitu identifikasi kapang selulolitik yang terdapat dalam proses vermicomposting yang memiliki potensi dalam menghasilkan selulase.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari (i) isolasi kapang dari vermicomposting TKKS yang masih dalam proses, dilanjutkan (ii) skrining kapang selulolitik secara semikuantitatif pada CMC *plate* dan TKKS, kemudian (iii) uji aktivitas enzim selulase pada substrat CMC 0,5 % dan TKKS 0,5 %, dan diakhiri dengan (iv) identifikasi kapang terpilih sampai tingkat genus berdasarkan *Introduction to Food-Borne Fungi* dan *Jurnal Fungal Diversity*.

Sebanyak 13 isolat kapang berhasil diisolasi dari vermicomposting TKKS, 10 isolat diantaranya adalah kapang selulolitik. Sedangkan 3 isolat lainnya dapat tumbuh namun memiliki diameter zona bening yang besarnya sama dengan diameter koloni.

Lima isolat yang memiliki indeks selulolitik tinggi digunakan untuk uji lanjut yaitu VTM1, VTM5, VTM6, VM9, dan VT12.

Kelima isolat tersebut memiliki pola aktivitas selulolitik yang berbeda-beda dalam menghidrolisis masing-masing substrat begitu juga dengan kisaran waktu inkubasi yang dibutuhkan. Isolat VTM5, VTM6, VM9, dan VT12 memiliki kemampuan menghidrolisis substrat lebih tinggi pada CMC untuk menghasilkan gula reduksi dari pada TKKS. Isolat VTM5 menghasilkan gula reduksi maksimalnya pada kisaran inkubasi pada jam ke-48 sebesar 7,72 $\mu\text{g/ml}$, VTM6 pada jam ke-144 sebesar 14,2 $\mu\text{g/ml}$, VM9 pada jam ke-24 sebesar 18,0 $\mu\text{g/ml}$, dan VT12 pada jam ke-72 sebesar 10,1 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan isolat VTM1 sebaliknya gula reduksi yang dihasilkan lebih tinggi pada TKKS dari pada CMC yaitu pada jam ke-24 sebesar 11,4 $\mu\text{g/ml}$. Namun meskipun aktivitas selulase yang dihasilkan lebih tinggi pada CMC, tetapi hasil efisiensi hidrolisis masing-masing substrat oleh selulase lebih efisien pada substrat TKKS dari pada CMC. Adapun tingkat efisiensi masing-masing isolat pada substrat CMC dan TKKS antara lain, VTM5 0,15 %, 0,25 %; VTM6 0,28 %, 0,28 %; VM9 0,36 %, 0,60 %; VT12 0,20 %, 0,41 %; dan VTM1 0,16 %, 1,07 %.

Hasil identifikasi morfologi makroskopis dan mikroskopis isolat VTM1, VTM5, VTM6, dan VT12 merupakan genus *Aspergillus*, sedangkan isolat VM9 merupakan genus *Pestalotiopsis*. Diperlukan uji lebih lanjut untuk mendapatkan aktivitas enzim selulase optimal dengan karakterisasi suhu, pH, dan waktu inkubasi.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Swt. atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Skринing dan Identifikasi Kapang Selulolitik pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian guna memberikan bimbingan demi terselesaikannya skripsi ini;
2. Esti Utarti, S.P. M.Si. dan Drs. Siswanto, M.Si. selaku Dosen Penguji I dan II yang banyak memberikan saran dan masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
3. Drs. Moch Imron Rosyidi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan arahan dan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ir. Endang Susetyaningsih, selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi dan Purnama, selaku teknisi Laboratorium Biologi Dasar Universitas Jember yang banyak membantu selama penelitian;
5. ayah, ibu, kakek dan nenek, serta seluruh keluarga yang telah memberikan motivasi, materi, tenaga, pikiran dan doa;
6. teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi, Azizah, Arif, Dewi, Mada, Ajuz, Imam, Syubbanul, Lutfi, Rinda, Edia, Hidayah, Frengky, Mas Aji, Mas Anandang, Mas Fudhaili, serta semua teman-teman di biologi khususnya 2008, atas segala kebersamaan, semangat dan dukungannya selama ini;

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

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

Jember, Februari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
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 Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan Selulosa	4
2.2 Vermikomposting	6
2.3 Kapang Selulolitik dan Enzim Selulase	8
BAB 3. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Penelitian	10
3.3.1 Pengambilan Sampel	10

3.3.2 Isolasi Kapang	11
3.3.3 Pemurnian Isolat Kapang	12
3.3.4 Skrining Kapang Selulolitik secara Semi Kuantitatif	12
3.3.5 Pembuatan Substrat TKKS.....	13
3.3.6 Skrining Kapang Selulolitik secara Kuantitatif	13
3.3.7 Identifikasi Isolat Kapang Selulolitik	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Skrining Kapang Selulolitik secara Semikuantitatif	16
4.2 Skrining Kapang Selulolitik secara Kuantitatif	18
4.3 Identifikasi Kapang Selulolitik Terpilih	23
BAB 5. PENUTUP	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimiawi TKKS	4
4.1 Indeks aktivitas selulolitik pada media CMC dan substrat TKKS	17
4.2 Tingkat efisiensi selulase dalam menghidrolisis substrat	22
4.3 Ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis 5 isolat terpilih	24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur selulosa (Cole dan Fort, 2007)	5
2.2 Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase	9
4.1 Analisis semikuantitatif isolat VTM1, (a) CMC; (b) substrat TKKS	17
4.2 Produksi gula reduksi isolat terpilih pada substrat CMC dan TKKS	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. ANALISIS SEMIKUANTITATIF PADA CMC DAN TKKS	34
B. KOMPOSISI BAHAN	35
B.1 Komposisi Media PDA	35
B.2 Komposisi Media CMC - <i>Plate</i>	35
B.3 Komposisi Media Alkali Ekstrak TKKS	35
B.4 Komposisi Media Produksi Enzim	35
B.5 Komposisi Buffer Phospat pH 7 1 M	35
B.6 Komposisi Reagen Somogyi	36
B.7 Komposisi Reagen Nelson	36
C. GRAFIK STANDART GLUKOSA	37

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah padat pengolahan kelapa sawit yang melimpah. Setiap pengolahan 1 ton Tandan Buah Segar (TBS) akan dihasilkan sebanyak 22–23% TKKS atau sebanyak 220–230 kg TKKS. Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik oleh sebagian besar pabrik kelapa sawit (PKS) di Indonesia (Isroi, 2008). TKKS mempunyai karakteristik berukuran besar, didominasi bahan selulosa dan lignin, dan nilai C/N yang tinggi, sehingga secara alami TKKS merupakan bahan yang sulit didekomposisi (Sutanto, 2002). Menurut Darnoko (1993), selulosa yang terdapat dalam TKKS sebesar 45,95 %, hemiselulosa 22,84 %, dan lignin 16,49 %.

TKKS saat ini banyak dikembangkan sebagai bahan dasar kompos. Untuk mempercepat proses pengomposan banyak dikembangkan teknologi-teknologi pengomposan, salah satunya yang melibatkan cacing tanah atau dikenal dengan vermikomposting (Mashur, 2001). Selama ini Bengkelden telah mengembangkan vermikompos dari TKKS yang membutuhkan waktu produksi antara 2-3 bulan (Sabarudin, 2011). Menurut Djuarnani *et al.* (2006) keunggulan vermikomposting adalah mengandung berbagai unsur hara yang dibutuhkan tanaman, terdapat banyak populasi dan keanekaragaman mikroorganisme, serta waktu pengomposan yang berjalan lebih cepat.

Pada proses vermikomposting terdapat interaksi antara cacing tanah dan mikroorganisme. Mikroorganisme yang berperan dalam vermikomposting tersebut antara lain bakteri, kapang, dan actinomycetes (Suyono, 2000). Mikroorganisme yang terkait dalam proses vermikomposting masing-masing mempunyai fungsi spesifik yang mampu mendegradasi suatu bahan organik, yaitu mikroorganisme lignolitik,

selulolitik, proteolitik, lipolitik, amilolitik dan fiksasi N non simbiotik (Artaji, 2011). Mikroorganisme selulolitik mempunyai peran terbesar dalam mendegradasi TKKS dalam proses vermikomposting, karena komponen utama dalam TKKS adalah selulosa sehingga mikroorganisme selulolitik akan mengeluarkan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa menjadi senyawa C sederhana agar memperoleh energi dan karbon (Alimoeso, 2009). Selulase merupakan enzim yang berperan dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa (Gezhart, 1990), yang spesifik memotong ikatan β -1,4 glikosidik pada selulosa (Meryandini *et al.*, 2009), yaitu melibatkan enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase (Miyamoto, 1997).

Menurut Salma dan Gunarto (2007) apabila dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya kapang merupakan mikroorganisme yang utama sebagai penghasil selulase yang dapat memutuskan ikatan glikosidik β -(1,4) pada selulosa. Kapang merupakan spesies yang mampu tumbuh di lingkungan yang sedikit nutrisi, kelembaban rendah dengan penyebaran yang luas, spora yang dihasilkan melimpah, sehingga dapat menghasilkan enzim yang tinggi (Made *et al.*, 2011). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu diketahui jenis kapang yang berperan dalam proses vermikomposting, sehingga penelitian ini mengkaji identifikasi kapang selulolitik yang berperan dalam proses vermikomposting TKKS.

1.2 Rumusan Masalah

TKKS merupakan limbah pengolahan kelapa sawit yang keberadaannya melimpah. Vermikomposting sebagai alternatif pemanfaatan TKKS dapat dipercepat dengan penambahan mikroorganisme, salah satunya kapang selulolitik. Komponen utama TKKS adalah selulosa, sehingga dengan melakukan skrining dan identifikasi kapang selulolitik diduga akan lebih mengoptimalkan proses vermikomposting TKKS.

1.3 Batasan Masalah

1. Skrining kapang selulolitik dilakukan dengan cara semi kuantitatif dan kuantitatif pada media CMC *plate* dan TKKS.
2. Identifikasi kapang yang dilakukan hanya sampai tingkat genus pada lima isolat kapang dengan aktivitas selulolitik terbaik.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mendapatkan kapang selulolitik yang berpotensi tinggi dalam proses vermikomposting TKKS.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Kapang selulolitik tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai inokulum dalam mempercepat proses vermikomposting.
2. Penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan informasi tambahan dalam memanfaatkan mikroorganisme pada proses vermikomposting TKKS.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan Selulosa

TKKS adalah salah satu produk sampingan berupa padatan dari industri pengolahan kelapa sawit. Ketersediaan TKKS cukup signifikan bila ditinjau berdasarkan rata-rata jumlah produksi TKKS terhadap total jumlah tandan buah segar (TBS) yang diproses (Darnoko, 2002). Setiap pengolahan 1 ton buah segar akan dihasilkan 23 % TKKS dengan kandungan selulosa 45,95 % setiap 230 kg (Darnoko, 1993). Tercatat pada tahun 2004 TKKS merupakan limbah padat yang jumlahnya cukup besar yaitu sekitar 6 juta ton, namun pemanfaatannya masih terbatas (Subdit Pengelolaan Lingkungan, 2006).

Tabel 2.1 Komposisi kimiawi TKKS

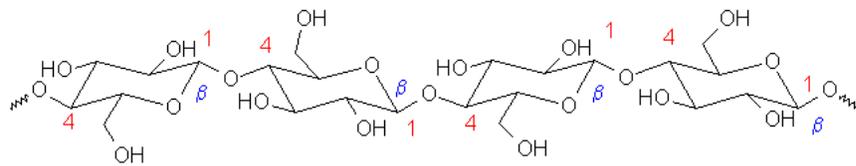
Komponen	% bobot kering
Selulosa	45,95
Hemiselulosa	22,84
Lignin	16,49
Kadar abu	1,23
Kadar air	3,74

(Sumber: Darnoko, 1993)

Tingginya selulosa, hemiselulosa, dan lignin menjadikan TKKS sulit terdekomposisi (Darnoko, 1993). Dua bagian TKKS yang banyak mengandung selulosa adalah bagian pangkal dan bagian ujung TKKS yang agak runcing dan agak keras (Hasibuan, 2010). Apabila dilihat dari stukturanya, TKKS adalah kumpulan jutaan serat organik. Setiap serat mempunyai dimensi panjang 1 mm, lebar 25 μm , dan tebal 3 μm (Muthia, 2011).

Secara rata-rata residu tanaman kelapa sawit di lapangan terdekomposisi selama 12 – 18 bulan. TKKS yang ditumpuk dan dibiarkan sampai membusuk tidak akan menjadi kompos organik yang bermutu karena nilai C/N masih tinggi (IOPRI, 2002).

Sebagian besar bahan selulosa yang ditemukan di alam mengandung tiga komponen utama yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin dengan perbandingan sekitar 4 : 3 : 3, sehingga sering disebut juga dengan istilah lignoselulosa (Tridasma, 2006). Selulosa merupakan polisakarida yang tersusun dari monomer D-glukosa yang mempunyai tiga gugus hidroksil yang dapat disubstitusi, tidak larut dalam air, sifat kristalinitas dan BM yang tinggi (Achmadi, 1989). Selulosa merupakan senyawa organik yang terdapat pada dinding sel tumbuhan bersama lignin berperan dalam mengokohkan struktur tumbuhan. Sekitar 65 % dari selulosa dalam kayu adalah kristalin sehingga air atau pelarut lainnya tidak dapat masuk (Darwis, 1995).



Gambar 2.1 Struktur selulosa (Sumber: Cole dan Fort, 2007)

Terdapat dua jenis ikatan hidrogen pada struktur selulosa, yaitu ikatan hidrogen intramolekuler yang mempertahankan kekakuan rantai selulosa, dan ikatan intermolekuler yang menyebabkan rantai selulosa saling berikatan membentuk suatu mikrofibril (Achmadi, 1989). Beberapa mikrofibril ini kemudian membentuk fibril dan akhirnya menjadi serat selulosa. Daerah yang sangat teratur disebut kristalin dan kurang teratur disebut amorf. Morfologi selulosa mempunyai pengaruh yang besar. Gugus hidroksil dalam daerah amorf sangat mudah dicapai dan bereaksi, sedangkan gugus hidroksil dalam daerah kristalin dengan berkas yang rapat dan ikatan antar rantai yang kuat sulit untuk bereaksi (Sjostrom, 1998). Umumnya selulosa mengandung 15 % bagian amorf dan 85 % bagian kristalin (Safriani, 1995).

Hidrolisis selulosa terjadi dengan memutuskan ikatan silang $\beta(1-4)$ -glikosida antara rantai yang satu dengan yang lainnya sehingga terjadi pemecahan selulosa menjadi rantai selulosa yang lebih pendek sampai akhirnya menjadi monomer glukosa (Diah, 2007). Akan tetapi, proses hidrolisis tersebut dihambat oleh struktur kimianya sendiri dan adanya ikatan alami selulosa dengan hemiselulosa dan lignin, sehingga rendemen gula yang diperoleh umumnya rendah (Hawani, 2008). Keberhasilan hidrolisis selulosa menggunakan enzim atau mikrobia sangat ditentukan oleh derajat kristalin selulosa, komposisi enzim selulase, luas permukaan kontak, rasio antara inokulum dengan substrat, dan kemurnian substrat (Sukadarti *et al.*, 2010). Menurut Sarkar (2004), lignoselulosa dengan derajat kristalin tinggi lebih sulit untuk didegradasi dibandingkan struktur amorf. Penggilingan selulosa dapat menaikkan laju degradasi karena menurunkan derajat kristalin dan memperluas permukaan kontak selulosa–enzim.

2.2 Vermikomposting

Vermikomposting adalah proses bioteknologi dalam pengomposan yang sederhana dengan menggunakan spesies cacing untuk meningkatkan proses penguraian limbah yang menghasilkan produk yang lebih baik (Nagavallema *et al.*, 2004). Vermikompos merupakan produk nontermofilik hasil biodegradasi dari limbah organik melalui interaksi antara cacing tanah dan mikroorganisme. Sebagian besar proses penguraian dilakukan mikroorganisme, tetapi kehadiran cacing tanah dapat membantu proses tersebut karena bahan-bahan yang akan diurai oleh mikroorganisme telah diurai lebih dahulu oleh cacing. Sehingga, kerja mikroorganisme lebih efektif dan lebih cepat (Warsana, 2009).

Hasil dari proses vermikomposting ini berupa *casting*. *Casting* ini mengandung partikel-partikel kecil dari bahan organik yang dimakan cacing dan kemudian dikeluarkan lagi. Kandungan *casting* tergantung pada bahan organik dan jenis cacingnya. Penguraian bahan organik dengan cacing tanah 3-5 kali lebih cepat dibandingkan pengomposan secara alami. Jenis cacing tanah yang dimanfaatkan

untuk mempercepat proses pengomposan yaitu *Lumbricus rubellus* dan *Eisenia fetida* (Saraswati, 2003). Penambahan nitrogen berasal dari produk metabolit cacing yang dikembalikan ke tanah melalui kotoran, urin, mukus, dan jaringan yang berasal dari cacing yang telah mati selama vermikomposting berlangsung (Amsath dan Sukumaran, 2008).

Menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (2001), keunggulan dari vermikompos antara lain, mengandung berbagai unsur hara yang dibutuhkan tanaman seperti N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Al, Na, Cu, Zn, Bo dan Mo tergantung pada bahan yang digunakan. Unsur-unsur yang terkandung dalam kompos TKKS cukup lengkap, di antaranya 1,5% N, 0,3% P, 2,00% K, 0,72% Ca, 0,4% Mg, 50% bahan organik, dan kadar air 45-50% (Majalah Trubus, 2008). Aktivitas vermikomposting pada tanah dapat meningkatkan kemampuan tanah untuk menyerap dan menyimpan air, meningkatkan penyerapan nutrisi, memperbaiki struktur tanah dan mengandung mikroorganisme dalam jumlah yang tinggi (Sallaku *et al.*, 2009). Kapang yang dapat ditemukan pada *casting* antara lain *Cylindrocarpum spp.*, *Gliocladium sp.*, *Chrysosporium sp.*, *Trichoderma hamatum*, *Mortierella parvispora*, *Sterile hyaline sp.*, *Mortierella gamsii*, *Paecilomyces spp.*, *Mortierella verticillata*, *Verticillium spp.*, *Myrothecium sp.*, *Gymnoascus spp.*, *Mortierella minutissima*, *Sterile hyaline sp.*, *Trichoderma koningii*, *Penicillium spp.*, *Acremonium spp.*, *Mucor hiemalis*, *Humicola sp.*, *Mucor circinelloides*, *Pseudokoningii*, *Absidia cylindrospora*, *Volutella sp.*, *Sporothrix sp.*, *Sterile dark sp. 2*, *Sterile sp. 3* (Tiunov *et al.*, 2002). Kompos TKKS telah diuji dan berpengaruh baik pada pembibitan kelapa sawit. Pembibitan kompos dengan menggunakan TKKS dan tanah pada perbandingan 1:1 mampu meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah pelepah pembibitan kelapa sawit sebesar 16,81 cm dan 3,17 pelepah (Sutanto *et al.*, 2005).

2.3 Kapang Selulolitik dan Enzim Selulase

Beberapa mikroba terutama dari jenis kapang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui selulase aktivitas yang dimilikinya. Isolasi mikroba selulolitik yang mampu menghasilkan aktivitas selulase yang tinggi menjadi sangat penting untuk tujuan pengomposan limbah organik (Kusnadi *et al.*, 2007). Sebagian besar kapang merupakan mikroorganisme yang dianggap lebih baik dalam menghasilkan enzim ekstraseluler, termasuk selulase (Gianfreda dan Rao, 2004). Kapang bersifat heterotrof yang memerlukan senyawa organik termasuk selulosa sebagai sumber karbon dan energi. Isolasi kapang yang mampu menggunakan selulosa sebagai substrat dapat dilakukan dengan mengisolasi dari bahan yang mengandung selulosa misalnya serat kelapa sawit (Rakhmawati dan Evy, 2010).

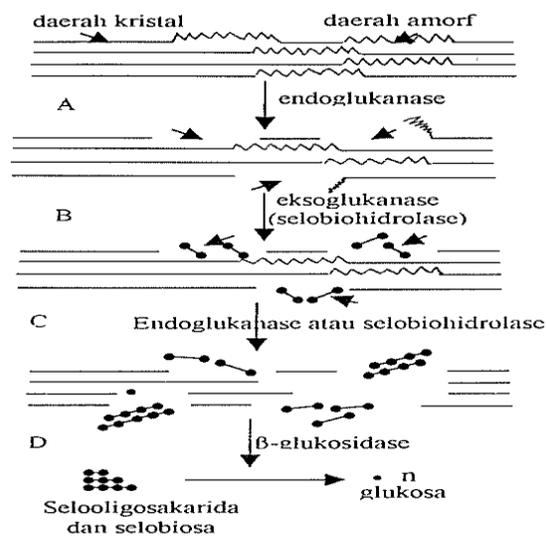
Meskipun banyak mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, hanya beberapa mikroorganisme yang memproduksi selulase dalam jumlah yang signifikan yang mampu menghidrolisis selulosa kristalin. Kapang memiliki kemampuan memproduksi selulase yang mampu menghidrolisis selulosa kristalin yang merupakan komponen utama dalam selulosa alami (Nugraha, 2006). Genus *Aspergillus* merupakan suatu kelompok kapang berfilamen dengan jumlah spesies yang besar. *Aspergillus niger* yang merupakan salah satu kapang dengan aktivitas spesifik selulase tertinggi (Patel *et al.*, 2007), banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas bungkil inti sawit (Supriyati *et al.*, 2010). *Trichoderma viride* telah dimanfaatkan untuk mengisolasi *xylooligosaccharida* dari bronjong sawit (Salina *et al.*, 2008). Selain itu, beberapa kelompok kapang seperti *Trichoderma*, *Penicillium*, *Neurospora*, dan *Fusarium* mempunyai aktivitas selulolitik yang tinggi (Chandel *et al.*, 2007). *Alternaria*, *Chaetomium*, *Coprinus*, *Fomes*, *Myrothecium*, *Polyporus*, *Rhizoctonia*, *Trametes*, *Trichotecium*, *Verticillium*, dan *Zygorynchus* juga dapat menghasilkan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa (Rao, 1994).

Selulase merupakan enzim yang berperan dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa. Selulase adalah enzim kompleks yang memotong secara bertahap rantai selulosa menjadi glukosa (Gerhartz, 1990). Menurut Gilbert dan

Hazlewood (1993), Selulase bekerja secara sinergis satu sama lain, termasuk dalam kelompok enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pada substrat.

Menurut Miyamoto (1997) selulase terdiri dari tiga komponen enzim yang penting yaitu endoglukanase, selobiohidrolase dan β -glukosidase, yaitu :

1. Endoglukanase, berfungsi memotong secara acak ikatan selulosa menjadi selooligosakarida. Enzim ini aktif menyerang pada bagian selulosa yang tersubstitusi seperti CMC.
2. Selobiohidrolase/Eksoglukanase, menyerang ujung rantai selulosa non-pereduksi dan membebaskan selobiosa dari rantai selulosa.
3. β -glukosidase, menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.



Gambar 2.2 Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase

Salah satu mekanisme pengaturan produksi enzim selulase ekstraseluler adalah adanya kontrol represi katabolit glukosa. Pada kondisi glukosa melimpah, akan terjadi represi sintesis enzim selulase. Kondisi ini mengakibatkan transkripsi gen struktural enzim terhenti dan enzim tidak terbentuk (Mursyid *et al.*, 2007).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengeahuan Alam Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Juli 2012 sampai Januari 2013.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari neraca analitik, cawan Petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, labu Erlenmeyer, spatula, gelas ukur, gelas Beaker, autoklaf, *shaker*, sentrifuge, oven, lemari es, pipet mikro, tip, pipet tetes, vortek, penangas air, *laminar air flow*, *hotplate stirrer*, *magnetic stirrer*, inkubator, lampu Bunsen, kapas, korek api, kertas saring, kertas tisu, kertas label, spidol penanda, mikroskop, kamera, dan buku identifikasi kapang *Introduction to Food-Borne Fungi* (Samson dan Hoekstra, 1995).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel vermikompos limbah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) BENGKELDEN AGRIBISNIS Bandung yang masih dalam proses, garam fisiologis (NaCl 0,85%), media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), *Potato Dextrose Agar* (PDA), NaCl 1 %, Natrium azide, reagen Somagyi dan Nelson, akuades, alkohol 70 %, Gram iodin, NaOH.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa kompos hasil vermikomposting yang masih dalam proses dan diambil dari Pabrik Pupuk Bengkelden, Bandung. Pengambilan sampel dilakukan pada dua bagian yaitu bagian tumpukan permukaan atas dan bagian tengah tumpukan

masing-masing pada 4 titik. Sampel vermikomposting yang diperoleh disimpan dalam kantong plastik, kemudian dilakukan pengukuran kondisi awal sampel seperti suhu, dan pH.

a. Pengukuran Suhu

Pengukuran suhu sampel diukur dengan termometer. Sampel yang diukur meliputi dua bagian yaitu bagian permukaan atas dan bagian tengah. Termometer diletakkan pada bagian permukaan atas tumpukan sampel dan dibiarkan selama 5 menit, begitu juga pada bagian tengah sampai suhu pada skala termometer stabil.

b. Pengukuran pH

Pengukuran pH sampel dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sampel vermikomposting dari masing-masing bagian diambil sebanyak 10 gr dilarutkan dalam 50 ml akuades. Pengukuran pH sampel dilakukan dengan mengaduk campuran larutan diatas *hotplate stirrer* menggunakan batang *magnetic stirrer* sampai skala pada pH meter stabil (Rahayu, 2011).

3.3.2 Isolasi Kapang

Isolasi kapang dilakukan dengan mengambil sebanyak 25 gr sampel vermikomposting TKKS dimasukkan dalam 225 ml larutan garam fisiologis (NaCl 0,85 %) steril, kemudian divortek sampai homogen. Selanjutnya diambil 100 μ l dari suspensi dan dimasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis (pengenceran 10^{-2}), dibuat sampai pengenceran 10^{-8} .

Setelah dilakukan pengenceran, sebanyak 100 μ l dari tiap-tiap pengenceran dituang ke dalam cawan Petri yang berisi media PDA yang mengandung streptomisin 0,01 % dengan metode sebaran (*spread plate*), kemudian diinkubasi pada suhu 30° C selama 96 jam. Streptomisin berfungsi mencegah tumbuhnya bakteri pada media PDA.

3.3.3 Pemurnian Isolat Kapang

Koloni yang menunjukkan karakter berbeda dimurnikan menggunakan media yang sama yaitu media PDA. Pemurnian dilakukan dengan mengambil sebanyak satu ose koloni yang memiliki karakter berbeda baik dari bentuk, warna, maupun morfologinya, selanjutnya diinokulasikan pada media PDA miring yang baru sebagai stok isolat dan disimpan pada suhu 30° C.

3.3.4 Skrining Kapang Selulolitik secara Semi Kuantitatif

Skrining kapang selulolitik dilakukan dengan menggunakan media *carboxymethyl cellulose* (CMC). CMC adalah derivat selulosa, sehingga dapat digunakan sebagai media untuk menguji aktivitas selulase (Masfufatun, 2011). Hasil isolasi kapang diinokulasikan dalam media CMC *plate*, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 2-3 hari. Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan menambahkan Gram Iodin. Koloni kapang yang mampu menguraikan CMC ditunjukkan dengan kemampuannya membentuk zona bening di sekeliling koloni setelah diuji dengan Gram Iodin selama 3-5 menit. Perbedaan warna media yang mencolok antara bagian yang terhidrolisis dan tidak terhidrolisis setelah penambahan Gram Iodin pada media dikarenakan Gram Iodin menghasilkan kompleks berwarna hitam kebiruan yang bereaksi dengan selulosa (polisakarida) sehingga zona bening terlihat lebih jelas (Kasana *et al.*, 2008). Indeks aktivitas enzim (IAE) selulolitik dihitung berdasarkan

rumus sebagai berikut:
$$\frac{\text{diameter zona bening (mm)}}{\text{diameter koloni (mm)}}$$

Pengujian selanjutnya dilakukan pada 5 isolat kapang yang memiliki indeks aktivitas selulase tinggi pada CMC *plate*, dengan menginokulasikan pada substrat TKKS.

3.3.5 Pembuatan Substrat TKKS

Bubuk TKKS dibuat dari sampel TKKS yang sudah dicacah, diblender, dan diayak. Selanjutnya, 100 gr bubuk TKKS disuspensikan dan dihidrolisis secara kimiawi dengan 1 M NaOH yg dilarutkan dalam 1000 ml akuades serta di homogenkan dengan shaker selama 24 jam. NaOH berfungsi untuk memotong rantai polisakarida TKKS sehingga lebih sederhana dan dapat larut. Kemudian setelah 24 jam, ditambahkan asam asetat sampai mendapatkan pH 7. Hasil hidrolisis tersebut difiltrasi menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat polisakarida. Proses selanjutnya, filtrat diekstraksi menggunakan ekstraksi etanol dengan perbandingan etanol dan filtrat 6 : 4. Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dan akan menghasilkan endapan polisakarida, kemudian endapan tersebut dikeringkan didalam inkubator pada suhu 50° C sehingga sisa air dari pellet tersebut akan hilang dan didapatkan bubuk yang selanjutnya disebut sebagai substrat hasil dari alkali ekstrak TKKS (Muzakhar, 2011).

3.3.6 Skrining Kapang Selulolitik secara Kuantitatif

a. Persiapan Inokulum

Sebanyak 5 isolat kapang terbaik hasil skrining secara semikuantitatif ditumbuhkan secara merata ke permukaan media TKKS miring untuk dijadikan kultur sumber inokulum. Kultur diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30° C, kemudian ditambahkan 5 ml akuades dan dikerik secara merata dan dituang ke labu Erlenmeyer dan digojok hingga homogen. Sebelumnya dilakukan perhitungan jumlah spora terlebih dahulu untuk menyeragamkan inokulum yang diberikan pada media produksi dengan cara pengenceran sehingga tercapai kepadatan spora $2,5 \times 10^{-6}$ sel/ml.

b. Produksi enzim selulase ekstrak kasar

Produksi enzim dilakukan dengan menginokulasikan inokulum masing-masing 1 ml yang telah diseragamkan jumlah sporanya pada 10 gr TKKS yang mengandung air dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30° C, kemudian dilakukan preparasi dan

ekstraksi enzim selulase pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Preparasi dilakukan dengan menambahkan 1 % NaCl dalam 20 ml akuades dan 0,1 % Natrium azide sebanyak 100 μ l yang bertujuan untuk menjaga enzim dari kontaminasi mikroorganisme, kemudian dishaker selama 12 jam dan difiltrasi dengan menggunakan kertas saring, sehingga dihasilkan enzim ekstrak kasar dan disimpan dalam lemari es (-20° C).

c. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Penentuan standar glukosa diuji menggunakan metode yang sama dengan metode analisa gula reduksi yaitu metode *Somogyi-Nelson*. Masing-masing glukosa 0,05 gr dilarutkan dalam buffer phospat pH 7 sebanyak 50 ml, sehingga konsentrasinya menjadi 1000 μ g/ml (stok) kemudian diambil 10 ml dari stok dan ditambahkan 90 ml akuades sehingga didapatkan konsentrasi menjadi 100 μ g/ml. Pengenceran dilakukan dari konsentrasi 100 μ g/ml sehingga didapatkan konsentrasi glukosa sebanyak 5 μ g/ml, 10 μ g/ml, 15 μ g/ml, 20 μ g/ml, 25 μ g/ml, 50 μ g/ml, dan 75 μ g/ml. Pada masing-masing konsentrasi glukosa ditambahkan reagen Somogyi sebanyak 0,5 ml dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan reagen Nelson sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan akuades sebanyak 2,5 ml. Kadar gula reduksi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dibuat kurva regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan nilai absorbansi larutan sampel.

d. Uji aktivitas selulase pada substrat CMC dan TKKS

Enzim ekstrak kasar yang dihasilkan selanjutnya diuji aktivitas selulase terhadap substrat CMC dan TKKS. Uji aktivitas selulase dilakukan dengan mengukur gula reduksi yang terbentuk menggunakan Somogyi-Nelson. Sebanyak 0,5 % substrat dalam 500 μ l buffer dengan pH 7 50 mM dimasukkan dalam inkubator (37° C) selama 15 menit. Kemudian ditambahkan ekstrak enzim kasar sebanyak 100 μ l dan diinkubasi dalam inkubator selama 2 jam. Pada perlakuan kontrol penambahan enzim dilakukan setelah penambahan reagen Somogyi. Setelah inkubasi 2 jam dikeluarkan

dari inkubator, ditambahkan reagen 0,5 ml Somogyi dan divortek hingga homogen, kemudian dididihkan dalam penangas air selama 15 menit. Reagen Somogyi berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatis (Somogyi, 1952). Kemudian ditambahkan reagen 0,5 ml Nelson dengan 2,5 ml akuades. Kadar gula reduksi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Reagen Nelson berfungsi mengikat gula reduksi hasil hidrolisis substrat sehingga dapat terwarnai dan terbaca nilai absorbansinya (Nelson, 1944). Pengukuran dibuat dengan dua kali pengulangan.

3.3.7 Identifikasi Isolat Kapang Selulolitik

Isolat kapang selulolitik diidentifikasi baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Identifikasi dilakukan berdasarkan Samson dan Hoekstra (1995) dalam bukunya *Introduction to Food-Borne Fungi*.

a. Identifikasi makroskopis

Isolat kapang selulolitik terpilih diidentifikasi secara makroskopis dengan menginokulasikan sebanyak satu ose koloni kapang dengan aktivitas terbaik pada media PDA yang baru secara aseptis. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Kemudian diamati struktur makroskopisnya meliputi bentuk koloni, warna koloni, garis-garis radial dan konsentris, warna balik koloni (*reverse colour*), titik air serta ada/tidaknya eksudat.

b. Identifikasi mikroskopis

Isolat kapang selulolitik tersebut diidentifikasi secara mikroskopis dengan pembuatan preparat. Cawan Petri steril yang berisi tisu yang di atasnya terdapat *object glass*, *cover glass* dan tusuk gigi dengan posisi objek glass berada di atas tisu dan tatanan tusuk gigi. Secara aseptis diletakkan satu ose media PDA pada permukaan *object glass*. Kemudian diambil 1 ose biakan kapang dan diletakkan pada media yang terdapat pada permukaan *object glass*. Selanjutnya *cover glass* diletakkan tepat di atas media dan ditekan hingga merata. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Pertumbuhan miselium dan spora diamati dibawah mikroskop.

BAB. 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Skrining Kapang Selulolitik secara Semikuantitatif

Hasil isolasi yang dilanjutkan dengan pemurnian diperoleh sebanyak 13 isolat kapang dengan ciri morfologi yang berbeda satu sama lainnya (Lampiran 1). Uji aktivitas selulase terhadap 13 isolat menggunakan *Carboxymethyl cellulose* (CMC) 1 % menunjukkan bahwa tidak semua isolat mampu tumbuh dan membentuk zona bening pada media tersebut. Hanya 10 isolat yang menghasilkan enzim selulase ekstraseluler sehingga mampu memanfaatkan sumber karbon dari CMC, sedangkan 3 isolat lainnya tumbuh namun memiliki diameter zona bening yang sama dengan koloni. Sepuluh isolat-isolat tersebut menghasilkan enzim selulase ekstraseluler secara semi kuantitatif dapat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening, hal ini terjadi karena adanya proses hidrolisis CMC oleh enzim selulase. Zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa tidak terjadi ikatan kompleks iodine dengan polisakarida CMC karena telah terjadi proses hidrolisis oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh sepuluh isolat tersebut.

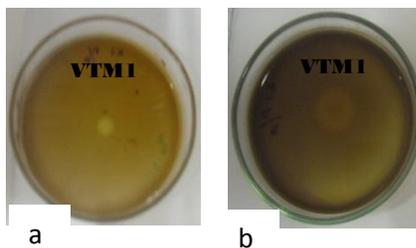
Selanjutnya, 5 isolat yang secara semi kuantitatif mampu menghasilkan enzim selulase tinggi, yang ditunjukkan dengan nilai indeks aktivitas selulase dipilih untuk pengujian lanjut menggunakan substrat TKKS. Kelima isolat tersebut adalah VTM1, VTM5, VTM6, VM9, dan VT12 (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Indeks aktivitas selulolitik pada media CMC dan substrat TKKS

No.	Kode Isolat	Indeks Aktivitas Selulase	
		CMC 1 %	Alkali Ekstrak 0,5 %
1.	VTM1	3,12	3,65
2.	VTM2	1,0	-
3.	VTM3	1,08	-
4.	VTM4	1	-
5.	VTM5	8,7	5,41
6.	VTM6	2,65	5,0
7.	VM7	1	-
8.	VM8	1,0	-
9.	VM9	1,17	1,66
10.	VM10	1,0	-
11.	VT11	1,0	-
12.	VT12	3,5	6,0
13.	VM13	1	-

- : Tidak diuji

Dari hasil perbandingan indeks aktivitas selulase CMC dan substrat TKKS di atas, menunjukkan bahwa ada perbedaan indeks selulase yang dihasilkan dalam menghidrolisis substrat oleh masing-masing isolat yang dapat ditunjukkan seperti pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Analisis semikuantitatif isolat VTM1, (a) CMC; (b) substrat TKKS

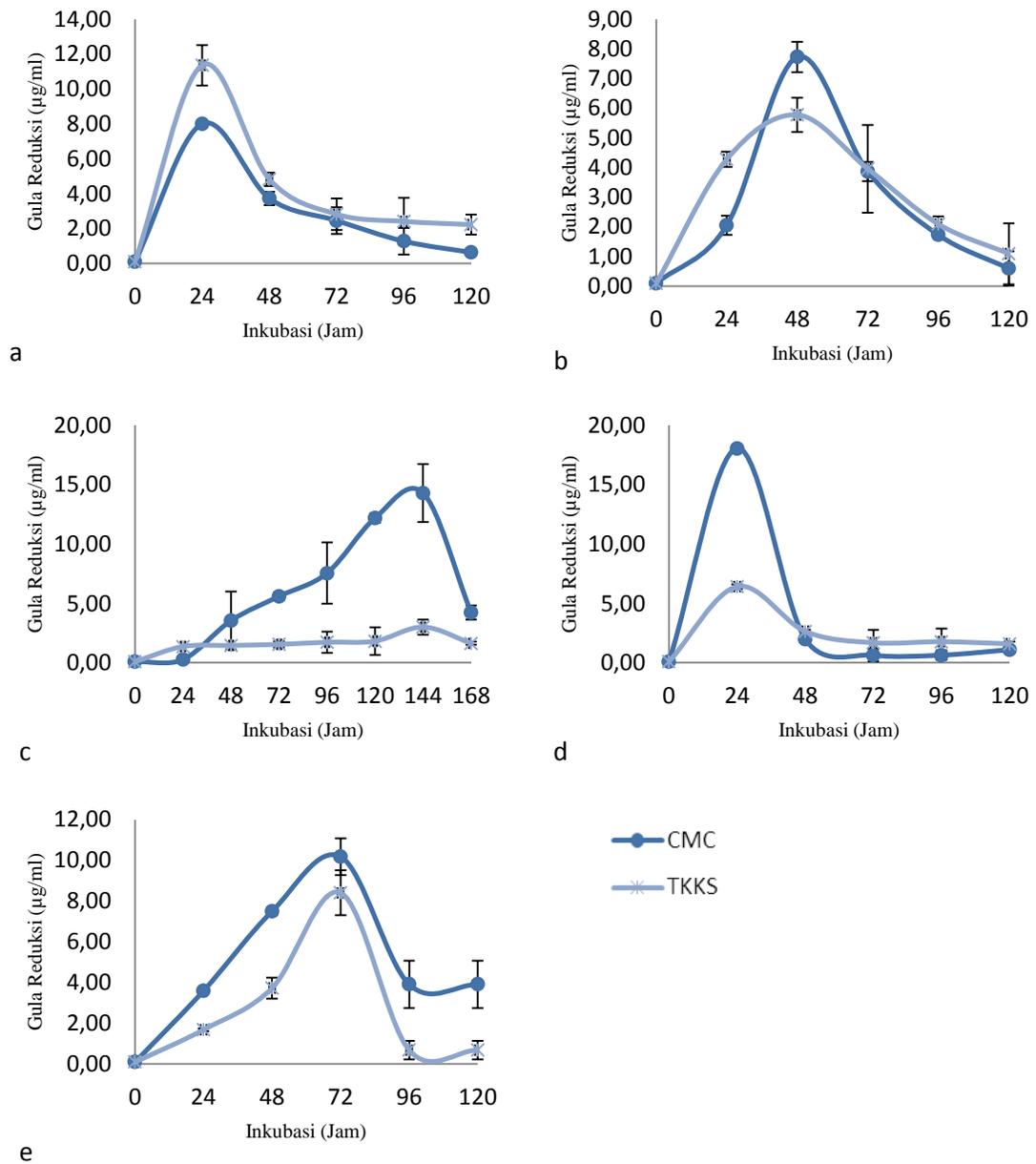
Pada isolat VTM1, VTM6, VM9, dan VT12 indeks selulase yang dihasilkan lebih tinggi pada substrat TKKS bila dibandingkan indeks selulase pada CMC, hal ini karena isolat tersebut mampu menghidrolisis substrat TKKS secara maksimal meskipun selulosa yang terkandung dalam substrat TKKS hanya 46 % (Darnoko,

1993) dan komponen lainnya berupa hemiselulosa dan lignin, sehingga isolat-isolat tersebut tidak hanya memiliki enzim selulase namun memiliki enzim lain seperti hemiselulolitik serta lignolitik yang dapat menghidrolisis komponen lain dari substrat TKKS. Selulase bertindak sinergis dengan hemiselulase dan enzim lainnya dalam mengurai dinding sel tanaman (Ratnakomala, 2010). Sedangkan isolat VTM5 memiliki indeks selulase lebih tinggi pada CMC dibandingkan pada substrat TKKS, hal ini dikarenakan isolat tersebut kurang mampu menghidrolisis substrat TKKS yang tidak hanya terdiri dari selulosa sehingga selulase yang dihasilkan lebih maksimal pada CMC. Setiap mikroorganisme selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan (Meryandini *et al.*, 2009).

4.2 Skrining Kapang Selulolitik secara Kuantitatif

Uji aktivitas selulase secara kuantitatif menggunakan substrat CMC 0,5 % dan TKKS 0,5 %, pH yang digunakan yaitu pH 7 serta pada suhu 37° C. Hasil uji aktivitas enzim dari 5 isolat memiliki aktivitas maksimal yang berbeda-beda dalam menghidrolisis substrat yang dapat dilihat dari kisaran waktu inkubasinya untuk menghasilkan gula reduksi.

Gambar 4.2 menunjukkan aktivitas lima isolat terbaik pada substrat CMC dan TKKS. Kemampuan menghidrolisis substrat isolat VTM1 lebih tinggi pada TKKS dari pada CMC. Sedangkan isolat VTM5, VTM6, VM9 dan VT12 mempunyai aktivitas selulase lebih tinggi dalam menghidrolisis substrat CMC dari pada TKKS.



(a) VTM1; (b) VTM5; (c) VTM6; (d) VM9; (e) VT12

Gambar 4.2 Produksi gula reduksi isolat terpilih pada substrat CMC dan TKKS

Hidrolisis substrat CMC dan TKKS oleh kelima isolat meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu inkubasi sampai tercapai waktu inkubasi optimum dimana dihasilkan gula reduksi tertinggi. Setelah tercapai waktu inkubasi optimum akan terjadi penurunan hidrolisis substrat. Beberapa isolat mempunyai waktu inkubasi optimum yang berbeda dalam menghidrolisis substratnya, yang ditunjukkan dengan produk gula reduksi yang dihasilkannya. Isolat VTM1 menghasilkan gula reduksi tertinggi pada substrat CMC (8,00 $\mu\text{g/ml}$) dan pada substrat TKKS (11,36 $\mu\text{g/ml}$) pada waktu inkubasi 24 jam (Gambar 4.2a). Produk gula reduksi dari hidrolisis substrat TKKS ini lebih tinggi dari pada keempat isolat lainnya. Waktu inkubasi 24 jam ini juga merupakan waktu inkubasi optimum bagi isolat VM9 (Gambar 4.2d) dalam menghidrolisis substrat. Gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis CMC dan TKKS oleh isolat VM9 masing-masing sebesar 18,05 $\mu\text{g/ml}$ dan 6,41 $\mu\text{g/ml}$.

Waktu inkubasi optimum isolat VTM5 dalam menghidrolisis CMC dan TKKS tercapai pada jam ke-48 dengan produksi gula reduksi masing-masing sebesar 7,72 $\mu\text{g/ml}$ dan 5,57 $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.2b). Sedangkan waktu inkubasi optimum isolat VT12 dalam menghidrolisis CMC dan TKKS tercapai pada jam ke-72 dengan produksi gula reduksi masing-masing sebesar 10,18 $\mu\text{g/ml}$ dan 8,41 $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.2e).

Isolat VTM6 membutuhkan waktu inkubasi optimum terlama dalam menghidrolisis CMC dan TKKS yaitu pada jam ke-144. Gula reduksi yang dihasilkan oleh isolat VTM6 dari hidrolisis CMC dan TKKS tersebut masing-masing sebesar 14,7 $\mu\text{g/ml}$ dan 3,00 $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4.2c). Hal ini diduga karena isolat tersebut membutuhkan waktu adaptasi yang lebih lama untuk dapat tumbuh pada media produksi. Setiap kapang mempunyai fase pertumbuhannya berbeda-beda. Apabila kapang tersebut berada pada fase pertumbuhan optimalnya maka jumlah enzim yang akan dihasilkan juga akan optimal. Menurut Fardiaz (1992) kapang yang diinokulasikan ke dalam suatu media, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk

menyesuaikan diri dengan media dan kondisi lingkungan sekitarnya. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim belum disintesis.

Secara umum isolat VTM5, VTM6, VM9, dan VT12 menghasilkan gula reduksi lebih tinggi dalam substrat CMC, yang berasal dari aktivitas selulase, bila dibandingkan substrat TKKS. Hal ini terjadi karena struktur penyusun selulosa pada CMC berbeda dengan struktur penyusun selulosa pada TKKS. CMC merupakan selulosa murni yang memiliki struktur amorf mudah larut dalam air sehingga mudah terurai. Keempat isolat tersebut lebih maksimal dalam menghidrolisis CMC yang terdiri dari selulosa murni. Kompleks enzim yang dominan pada isolat-isolat tersebut diduga endo- β -1,4-glukanase yang memotong secara acak pada daerah amorf rantai selulosa (Lynd *et al.*, 2004). Berbeda halnya dengan ke empat isolat di atas, hanya isolat VTM1 yang memiliki aktivitas selulase lebih tinggi pada TKKS dibandingkan CMC.

Isolat VTM1 menghasilkan gula reduksi lebih tinggi pada TKKS dari pada CMC, hal ini dikarenakan aktivitas selulase yang dihasilkan isolat VTM1 mampu menghidrolisis secara maksimal komponen yang terkandung dalam TKKS. Selain itu diduga isolat tersebut tidak hanya menghasilkan enzim selulase saja, tetapi juga menghasilkan enzim-enzim lain yang dapat menghidrolisis komponen hemiselulosa serta lignin dalam TKKS menghasilkan gula reduksi (Lynd *et al.*, 2004).

Penurunan aktivitas selulase yang terjadi setelah aktivitas maksimal yang dihasilkan oleh masing-masing isolat, dimungkinkan pada jam tersebut isolat kapang berada pada kondisi stasioner yang mana kecepatan pembelahan sel sama dengan kecepatan kematian sel dan lisis sel sehingga pada fase ini selain enzim selulase, enzim protease juga dihasilkan. Hal ini menyebabkan turunnya aktivitas enzim selulase (Meryandini *et al.*, 2009). Penurunan aktivitas selulase terjadi karena represi katabolit akibat akumulasi glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis masing-masing substrat (Funnington *et al.*, 1984).

Aktivitas enzim selulase menyatakan seberapa besar kemampuan enzim tersebut dalam menguraikan atau mengkonversi selulosa menjadi produknya yaitu

gula reduksi. Dari hasil uji aktivitas selulase kuantitatif di atas, dapat diketahui efisiensi selulase dalam menghidrolisis masing-masing substrat yang dapat ditunjukkan dalam Tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2 Tingkat efisiensi selulase dalam menghidrolisis substrat

Isolat	Gula Reduksi		Efisiensi Selulase (%)	
	CMC (µg/ml)	Alkali Ekstrak (µg/ml)	CMC	Alkali Ekstrak *)
VTM1	8,00	11,4	0,16	1,07
VTM5	7,72	5,77	0,15	0,25
VTM6	14,2	3,00	0,28	0,28
VM9	18,0	6,40	0,36	0,60
VT12	10,1	4,40	0,20	0,41

*) : Asumsi kandungan selulosa 46 % sesuai dengan pustaka (Darnoko, 1993)

Tabel 4.2 di atas menunjukkan tingkat efisiensi selulase dalam menghidrolisis masing-masing substrat untuk menghasilkan gula reduksi. Hasil penentuan efisiensi selulase menunjukkan bahwa tingkat efisiensi hidrolisis selulase lebih tinggi pada substrat TKKS yang telah dikonversikan dari pada CMC. Pengonversian ini berdasarkan kandungan selulosa pada TKKS yang diasumsikan hanya 46 %. Menurut Darnoko (1993), komposisi selulosa pada TKKS 46 % dan sisanya berupa hemiselulosa 23 %, dan lignin 16,5 %. Sehingga apabila kandungan selulosa pada kedua substrat tersebut sama maka aktivitas selulase yang dihasilkan akan lebih efisien pada TKKS. Hal ini dapat dilihat dalam tabel 4.2, meskipun jumlah gula reduksi yang dihasilkan lebih tinggi pada CMC namun tingkat efisiensi selulase dari 5 isolat dalam menghidrolisis substrat lebih tinggi pada TKKS.

Sebuah *review* tentang selulase yang ditulis oleh Bhat dan Bhat (1977) menjelaskan proses pembentukan selulase dan *inducer* untuk aktivitas selulase. Semua mikroorganisme penghasil selulase tinggi, memproduksi selulase dengan baik

jika ditumbuhkan pada selulosa. Penggunaan sumber karbon yang larut seperti laktosa, selobiosa dan hidrolisat selulosa untuk produksi selulase memungkinkan produktivitas yang tinggi tetapi aktivitas enzimnya kurang, sedangkan sumber karbon yang sukar dirombak, produktivitasnya rendah tetapi aktivitas enzimnya tinggi (Chen dan Wayman, 1992). Tingginya kemampuan hidrolisis yang ditunjukkan terhadap substrat lignoselulosa menunjukkan bahwa ekstrak kasar tersebut mengandung berbagai aktivitas enzim yang bermacam-macam (Waeonukul, 2007).

Efisiensi ini juga dipengaruhi oleh konsentrasi media yang digunakan, semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi pula tingkat aktivitas suatu reaksi enzimatisnya. Dalam suatu reaksi enzimatis, enzim akan mengikat substrat membentuk kompleks enzim-substrat, kemudian kompleks ini akan terurai menjadi enzim dan produk. Makin banyak kompleks enzim substrat terbentuk makin cepat reaksi berlangsung sampai batas kejenuhan. Pada konsentrasi substrat melampaui batas kejenuhan kecepatan reaksi akan konstan (Bintang, 2010).

4.3 Identifikasi Kapang Selulolitik Terpilih

Identifikasi 5 isolat terbaik dalam menghasilkan selulase baik pada media CMC maupun TKKS dilakukan dengan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis diamati pada media PDA dalam cawan Petri, sedangkan untuk pengamatan mikroskopis dilakukan dengan membuat slide culture.

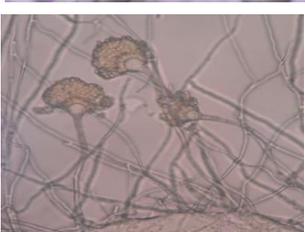
Ciri-ciri dari 5 isolat yang telah di uji aktivitas selulolitik baik secara semikuantitatif maupun kuantitatif dapat dilihat pada Tabel 4.3. Menurut Samson dan Hoekstra dalam bukunya *Introduction to Food-Borne Fungi*, hanya 4 isolat yang dapat teridentifikasi. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat VTM1, VTM5, VTM6, dan VT12 semuanya termasuk dalam genus *Aspergillus*. *Aspergillus* merupakan anggota dari kelas Deutoromycetes yang banyak ditemukan di tanah, air, maupun tumbuhan yang membusuk. *Aspergillus* memiliki kelebihan dibandingkan dengan jenis kapang lainnya yaitu mudah dalam penanganannya dan mampu menghasilkan selulase dalam jumlah yang tinggi (Soeka

TABEL 4.3 HASIL IDENTIFIKASI

dan Sastraatmadja, 1992). Selain enzim selulase, enzim ekstraseluler yang dihasilkan *Aspergillus niger* diantaranya, enzim kitinase, α -amilase, β -amilase, glukoamilase, katalase, pektinase, lipase, laktase, invertase, asam protease (Rat ledge, 1994; Hardjo *et al.*, 1989). Dengan adanya bermacam-macam enzim ekstraseluler yang dihasilkan tersebut memungkinkan genus tersebut dapat menghidrolisis substrat yang memiliki kandungan karbon selain selulosa seperti halnya pada TKKS.

Isolat VM9 tidak dapat diidentifikasi menggunakan buku Samson dan Hoekstra, namun menurut Sajeewa *et al.* (2011) dalam jurnal *Fungal Diversity* isolat tersebut tergolong genus *Pestalotiopsis*. Kapang dari genus ini merupakan kapang yang bersifat endofitik atau parasitik pada tumbuhan tinggi. Kapang kelas Coelomycetes adalah kapang tipikal yang banyak ditemukan pada sampel serasah daun. Namun, kelompok kapang tersebut banyak yang tidak bersporulasi ketika dilakukan proses pengkulturan (Itazaki *et al.*, 1992). Banyak isolat kapang Coelomycetes yang menghasilkan spora seksual (fase teleomorf) maupun aseksual (fase anamorf) di habitat (tumbuhan inang) alaminya tetapi steril atau gagal bersporulasi dalam media kultur (Paulus *et al.*, 2003). Meskipun masih belum banyak diketahui kemampuan dari genus ini dalam menghasilkan enzim selulase, namun pada penelitian ini membuktikan bahwa salah satu spesies dari genus *Pestalotiopsis* ini dapat menghasilkan enzim selulase yang memiliki aktivitas tinggi, baik pada CMC yang merupakan selulosa murni serta TKKS yang terdiri dari bermacam komponen seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin.

Tabel 4.3 Ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis 5 isolat terpilih

Kode Isolat	Makroskopis							Mikroskopis		
	Warna	Permukaan	Bentuk	Tepi	Reserve	Eksudat	Garis Radial/Konsentris	Hifa	Konidia	Gambar Mikroskopis
VTM1	Kuning kehijauan	Seperti Tepung/bubuk	Terpecah-pecah	Tidak rata/berserat	Putih	Tidak ada	Konsentris	Septa	Bulat	
VTM5	Hijau cerah	Seperti Tepung/bubuk	Terpecah-pecah	Tidak rata/berserat	Hijau keputihan	Tidak ada	Tidak ada	Septa	Oval	
VTM6	Hijau gelap	Menggunung	Padat/kompak	Rata	Hijau kehitaman	Tidak ada	Radial	Septa	Bulat	
VM9	Putih	Bergelombang	Padat/kompak	Tidak rata	Putih	Tidak ada	Konsentris	Septa	Lonjong terdapat 3-5 septa, ujungnya terdapat bulu cambuk	
VT12	Coklat	Seperti Tepung/bubuk	Terpecah-pecah	Rata	Kuning	Kuning	Tidak ada	Septa	Bulat	

DAFTAR PUSTAKA

Buku

- Achmadi, S. S. 1989. *Kimia Kayu*. Diklat PAU Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga Medical Series.
- Djuarnani, N., Kristian, dan Budi Susilo. 2006. *Cara Cepat Membuat Kompos*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Hardjo, S., Indrasti., dan Bantacut. 1989. *Biokonversi. Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- IOPRI [Indonesian Oil Palm Research Institute]. 2002. *Biopolymer and Selected Speciality Chemicals Base on Oil Palm Feedstock*. Medan: Indonesian Oil Palm Research Institute.
- Ratledge, C. 1994. *Biochemistry of Microbial Degradation*. London: Kluwer Academic Publishers.
- Rao, N. S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Edisi Kedua*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Samson dan Hoekstra. 1995. *Introduction to Food-Borne Fungi . 4th Revised Edition*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Barrn: The Netherlands.
- Sjostrom, E. 1998. *Kimia Kayu. Dasar-dasar dan Penggunaan*. Penerjemah Hardjono Sastrohamidjojo. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Sutanto, R. 2002. *Penerapan Pertanian organik: Pemasyarakatan dan Pengembangannya*. Kanius: Jogja.

Tidak Diterbitkan

- Alimoeso, S. 2009. Pengembangan Industri Pupuk Organik. *Seminar Nasional*. Jakarta.
- Diah, N. M. 2007. Studi Aktivitas Spesifik Selulase dari *Lactobacillus collinoides* yang Dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Hasibuan, R. S. 2010. Kualitas Serat dari Limbah Batang Kelapa Sawit sebagai Bahan Baku Papan Serat. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hawani, E. L. 2008. Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa Sawit menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Kusnadi, S. dan Astri. 2007. Keanekaragaman Jamur Selulolitik dan Amilolitik Pengurai Sampah Organik dari Berbagai Substrat. Makalah. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Muthia, R. 2011. Peningkatan Kualitas Bio-Oil dari Tandan Kosong Kelapa Sawit menggunakan Metode Fast Pyrolysis dengan Katalis Zeolit. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Nugraha, R. 2006. Produksi Enzim Selulase oleh *Penicillium nalgiovense* SS240 pada Substrat Tandan Sawit. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Rakhmawati, A dan Evy Y. 2010. Uji Aktivitas Selulolitik *Aspergillus spp* yang di Isolasi dari Serat Kelapa Sawit. *Seminar Nasional*. Lembaga Penelitian Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ratnakomala, S. 2010. Produksi Enzim Selulase dari *Trichoderma* dan *Streptomyces* Indonesia menggunakan Biomasa Lignosellulosa untuk Produksi Bioetanol. Riset Terapan. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.
- Safriani. 1995. Kajian Kondisi Fermentasi pada Produksi Selulase dari Limbah Kelapa Sawit (Tandan Kosong dan Sabut) oleh *Neurospora sitophila*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Salina, F.H., Fazilah, M.N., Azemi., dan Norziah. 2008. Enzymatic hydrolysis and isolation of oil palm frond derived xylooligosaccharides by xylanase

Trichoderma viride. *International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT 2008)*. Malaysia.

Soeka, S. Y dan Dudi D. 1992. Pengaruh Penambahan Sumber-Sumber Nitrogen terhadap Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Terseleksi pada Media Dedak. *Pros. Seminar Hasil Litbang SDH*. Lipi-Bogor.

Supriyati, T. H., Budiarsana., dan Utama. 2010. Fermentasi Jerami Padi menggunakan *Trichoderma viride* (Fermentation of rice straw using *Tricoderma viride*). *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2010*.

Tridasma, E. R. 2006. Produksi Selo-Oligosakarida dari Fraksi Selulosa Tongkol Jagung oleh Selulase *Trichoderma viride*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.

Terbitan Berkala

Amsath, K.M. dan M. Sukumaran. 2008. Vermicomposting of Vegetable Wastes Using Cow Dung. *E-Journal of Chemistry*. Vol. 5 (4): 810-813.

Bhat, M.K., dan Bhat, S. 1977. Cellulose Degrading Enzymes And Their Potential Industrial Applications. *Biotechnology Advances*. Vol. 15. No (3/4): 583-620.

Chandel, A.K., Chan., Rudravaram, Narasu, L.V., Rao, dan Ravindra. 2007. Economics and Environmental impact of Bioetanol Production Technologies : An Appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. Vol. 2 (1): 14-32.

Chen, S. dan Wayman 1992. Novel Inducers Derived from Starch for Cellulase Production by *Trichoderma reesei*. *Process Biochemistry*. Vol. 27. 327-334.

Darnoko. 1993. Pembuatan pupuk organik dari tandan kosong kelapa sawit. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*. Vol. 1 (1): 89-99.

Darwis, A. A., Sailah, Irawadi, dan Safriani. 1995. Kajian Kondisi Fermentasi Produksi Selulase dari Limbah Kelapa Sawit (Tandan Kosong dan Sabut) oleh *Neurospora sitophila*. *J. Teknol. Ind. Pert.* Vol. 5 (3): 199-207.

- Funnington G., Neugbauer D., dan Stutzenberger F. 1984. Cellulase Biosynthesis in a Catabolite Repression-Resistant Mutant of *Thermomonospora curvata*. *Appl Environ Microbiol*. Vol. 47: 201-204.
- Gerhartz, W. 1990. Enzymes in Industry: Production and Applications. *J. of Microbiol*. Vol. 3 (2): 81-82.
- Gianfreda, L., dan Rao. 2004. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils A Review. *Enzyme microb Tech*, 35: 339-354.
- Gilbert, H.J. dan Hazlewood. 1993. Bacterial Cellulases and Xylanases. *J. of General Microb*. Vol. 139: 187-194.
- Itazaki, H., K. Nagashima, Kawamura, Matsumoto, Nakai, dan Terui. 1992. Cinatrin, a novel family of phospholipase A2 inhibitors. Taxonomy and fermentations of the producing culture: Isolation and structure of cinatrin. *Journals of Antibiotics*. Vol. 45: 38-49.
- Kasana, R. C., Richa. S., Hena. D., Som. D., dan Arvind., G. 2008. A Rapid dan Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Curr Microbiol*. 57: 505-507.
- Lynd L. R 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamental and Biotechnology, Review. *Microbiol Mol Bio Rev*. Vol. 66: 506-577.
- Made I, S., Gusti., dan Nyoman. 2011. Uji Antagonisme Beberapa Jenis Jamur Saprofit terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* f. Sp. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Pisang dan Potensinya terhadap Pengurai Serasah. *Jurnal Agroteksos*. Vol. 21 No. 2-3.
- Meryandini, A., Wahyu W., Besty M., Titi C S., Nisa R., dan Hasrul S. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains*. Vol. 13 (1): 33-38.
- Mursyid, A., M. Nur C., Sardjono, Zuprizal, dan Zaenal. 2007. Mutasi *Trichoderma* sp untuk Meningkatkan Ssekresi Selulase. *Media Kedokteran Hewan*. Vol. 23 No (2): 1-6.
- Nagavallema KP., Wani SP., Stephane L., Padmaja VV., Vineela C., Babu R M., dan Sahrawat KL. 2004. Vermicomposting: Recycling wastes into valuable organic fertilizer. *ejournal.icrisat.org* . Vol. 2 (8): 502.

- Nelson, N. 1944. A Photometric Adaptation of The Somogy Method for The Determination of Glucose. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 153: 375-380.
- Patel, S. J., Onkarappa, R., dan Shobha KS. 2007. Fungal Pretreatment Studies on Rice Husk and Baggase for Ethanol Production. *Electronic Journal of Enviromental, Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 6 (4): 1921-1926.
- Paulus, B., P. G. dan Hyde K.D. 2003. Estimation of microfungus diversity in tropical rainforest leaf litter using particle filtration: the effect of leaf storage and surface treatment. *Mycological Research*. Vol. 107 (6): 748- 756.
- Sajeewa S. N. M., Liang D., Eka Chai., Ali H., dan Kevin D. 2011. Pestalotiopsis— morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*. 50: 167-187.
- Salma, S., dan Gunarto, L. 1999. Enzim Selulase dari *Trichoderma spp.* *Jurnal Agrobio*. Vol. 1 (2): 2.
- Sallaku, G., Babaj, S. Kaciu., dan A. Balliu. 2009. The Influence of Vermicompost on Plant Growth Characteristics of Cucumber (*Cucumis sativus L*) Seedlings Under Saline Conditions. *Journal of food Agriculture and Enviroment*. Vol. 7 No (3 & 4) : 869-872.
- Sarkar, A. K, dan Etters, J. Nolan. 2004. Enzymatic Hydrolysis of Cotton Fiber: Modeling Using Empirical Equation. *The Journal of Cotton Science*. Vol. 8: 254-260.
- Sukadarti, S., Siti D. K., Heri P., Wasis P. S., dan Tri M. 2010. Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur *Trichoderma reesei*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”. Yogyakarta.
- Somogyi, M. 1952. Notes on Sugar Determination. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 195: 19-23.
- Sutanto, A., Prasetyo, Fahroidayanti., Lubis, dan Dongoran A.P. 2005. Viabilitas Bioaktivator Jamur *Trichoderma koningii* pada Media Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Penelitian Tandan Kelapa Sawit*. Vol. 13 (1): 25-33.
- Suyono, A. D., Dadang A. M., dan Jumsih. 2000. Kandungan Hara N, P, K, Kascing *Lumbricus Rubellus* yang Dibudidayakan dengan Pakan Limbah Organik. *Jurnal SoilRens*. Vol. 1 (1): 24-28.

Tiunov, A.V. dan Dobrovolskaya. 2002. Fungal and Bacterial Communities in *Lumbricus terrestris* Burrow Walls. A Laboratory Experiments. *Pedobiological*. 46 : 595-605.

Waeonukul R, K. KL dan Ratanakhanokchai K. 2007. Multiple Cellulases and Xylanases from *Bacillus circulans* B6 During Growth on Avicel Under An Aerobic Condition. *Thai Journal of Biotechnology*: 27-32.

Media Cetak

Artaji, W. “Agrobisnis Bibit Kompos”. *Artikel Citra Karya Tani*. 2011.

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. “Vermikompos Pupuk Organik Berkualitas dan Ramah Lingkungan”. *Artikel Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian (IPPTP)*. 2001.

Darnoko. “Pabrik Kompos di Pabrik Sawit”. *Tabloid Sinar Tani*. 9 Agustus 2002.

Majalah Trubus. “Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit”. *Majalah Trubus* . Juni 13, 2008.

Miyamoto, K. 1997. “Renewable Biological System For Alternative Sustainable Senergy Production”. *FAO Agricultural Services Bulletin* 128.

Rahayu, N. 2011. “Pengukuran pH Konsep Analisis Kuantitatif”. *Artikel*. Universitas Pasundan Bandung.

Media Elektronik (Internet)

Cole, BJW dan Fort, ROC. 2007. *Http: Chemistry_umeche_maine.edu/Fort/cole-Fort.html*.

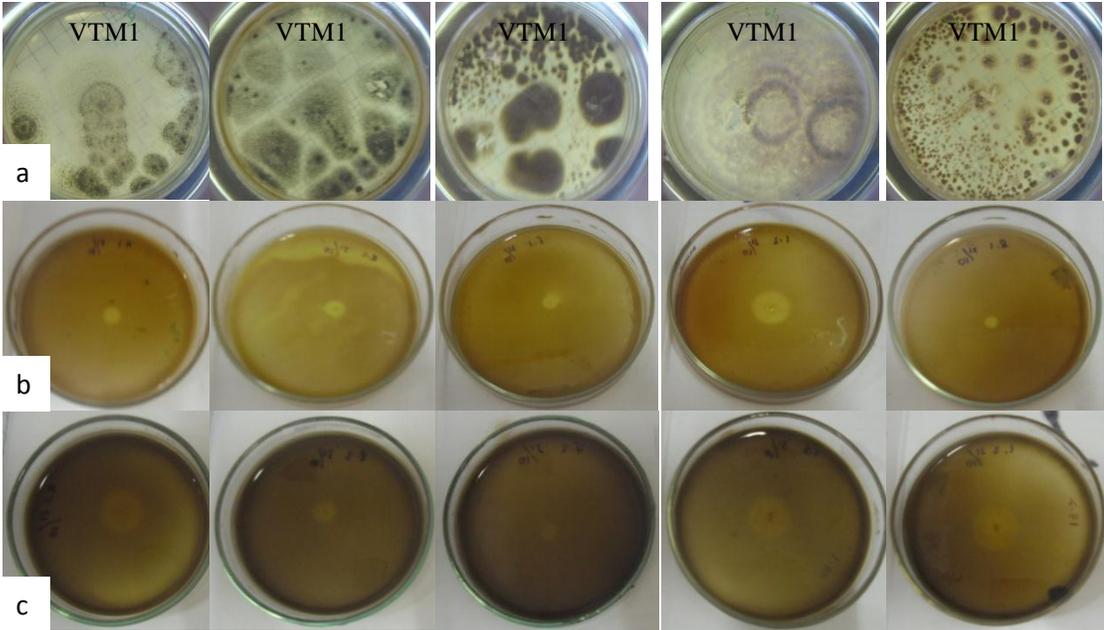
Isroi. 2008. Limbah Pabrik Kelapa Sawit. [On line]. *http://isroi.com/2008/06/19/limbah-pabrik-kelapa-sawit/*. [7 April 2012].

- Mashur. 2001. Vermikompos (Kompos Cacing Tanah) Pupuk Organik Berkualitas dan Ramah Lingkungan. [On line]. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/agritek/ntbr 0102.pdf>. [6 Maret 2012].
- Sabarudin. 2011. Vermikomposting EFB/ TKKS di PIPOC 2011- KLCC Malaysia. [On line]. <file:///J:/TA/google/24212/vermicomposting-efb-tkks-di-pipoc-2011-klcc-malaysia.html>. [7 April 2012].
- Saraswati, Rasti. 2003. Kompos. [On line]. <http://balittanah.litbang.deptan.go.id/pupuk2.pdf>. [4 Maret 2012].
- Subdit Pengelolaan Lingkungan. 2006. [On line]. http://bandatanang.files.wordpress.com/2008/10/pedoman_pengelolaan_limbah_kelapa_sawit1.pdf. [6 Maret 2012].
- Warsana. 2009. Kompos Cacing Tanah (CASTING). [On line]. <http://www.litbang.deptan.go.id/artikel/one/231/pdf>. [13 Maret 2012].

Konsultasi Pribadi

Muzakhar, K. "Substrat Alkali Ekstrak TKKS". Universitas Jember. Jember, 2011.

LAMPIRAN A. ANALISIS SEMIKUANTITATIF PADA CMC DAN TKKS



Keterangan: (a) Morfologi makroskopis isolat terpilih; (b) zona bening pada CMC; (c) zona bening TKKS

LAMPIRAN B. KOMPOSISI BAHAN

B.1 Komposisi Media PDA

Komposisi	Jumlah
Potato Dextrosa Agar	39 gr
Akuades	1000 ml

B.2 Komposisi Media CMC- *Plate*

Komposisi	Jumlah
<i>carboxymethyl cellulose</i> (CMC) 1%	10 gr
Akuades	1000 ml

B.3 Komposisi Media Alkali Ekstrak TKKS

Komposisi	Jumlah
Alkali Ekstrak TKKS 0,5%	5 gr
Akuades	1000 ml

B.4 Komposisi Media Produksi Enzim

Komposisi	Jumlah
Bubuk TKKS	350 gr
Akuades	1000 ml

B.5 Komposisi Buffer Phospat pH 7 1 M

Komposisi	Jumlah
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	70,16 gr
KH_2PO_4	26,19 gr
Akuades	1000 ml

B.6 Komposisi Reagen Somogyi

Komposisi	Jumlah
Na_2CO_3	24 gr
$\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6\text{H}_2\text{O}$ (<i>Potassium Sodium Tartrate Tetrahydrat</i>)	12 gr
NaHCO_3	16 gr
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10 %	40 ml
Na_2SO_4	180 gr
Akuades	1000 ml

B.7 Komposisi Reagen Nelson

Komposisi	Jumlah
$(\text{NH}_4)_2\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50 gr
<i>Sulfuric acid</i>	46 ml
$\text{NaHSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6 gr
Akuades	1000 ml

LAMPIRAN C. GRAFIK STANDAR GLUKOSA

