

TIDAK DIPINJAMKAN KELUAR

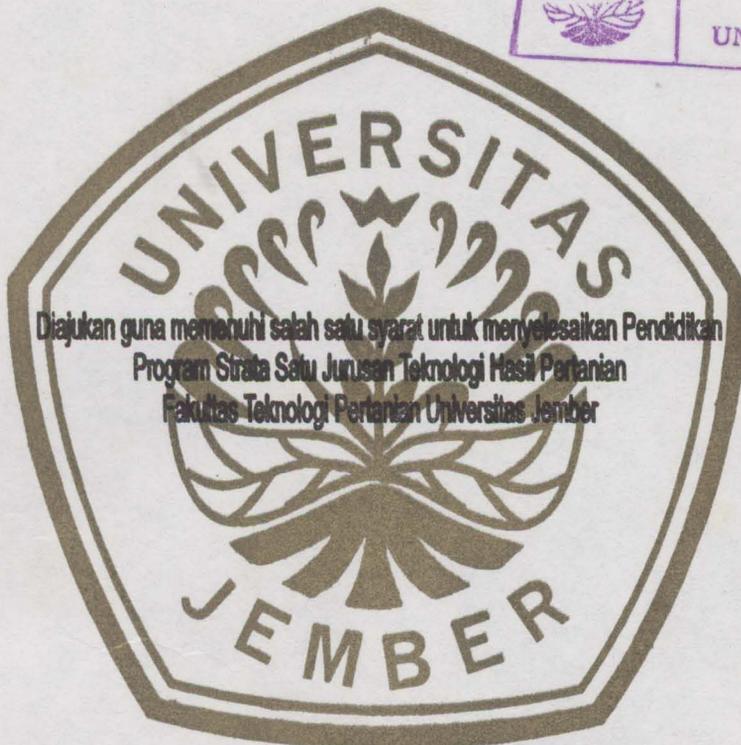
PRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH *Trichoderma viridae*
PADA MEDIUM CAIR WHEAT BRANDAN
WHEAT POLLARD

KARYA ILMIAH TERTULIS

SKRIPSI



MILIK PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JEMBER



Oleh :

Sasmiati

NIM : 961710101087

Asal	: Hadiah	Klass
Terima Tgl:	172 JUN 2000	664.08
No. Induk :	PT.2000.10.2211	1 exp SAS p e.1

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
Mei, 2000

Diterima Oleh :

Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

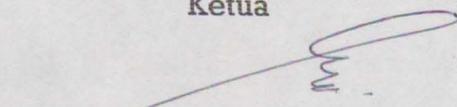
Hari : Selasa

Tanggal : 9 Mei 2000

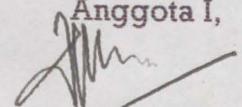
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

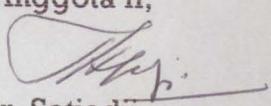
Ketua


Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc.
NIP. 131 832 332

Anggota I,

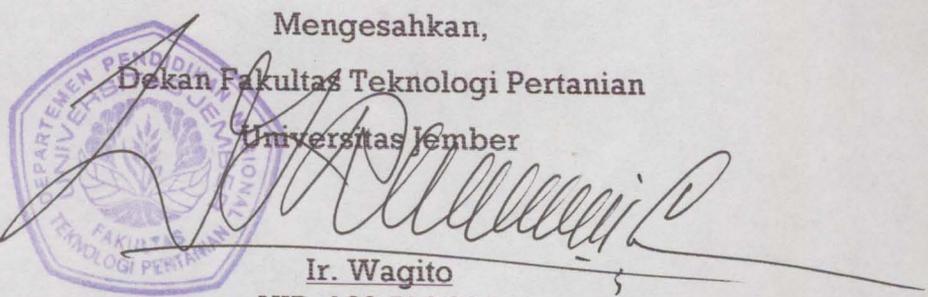

Ir. Yhulia Praptiningsih S., MS
NIP. 130 809 684

Anggota II,


Ir. Setiadji
NIP. 130 531 969

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember


Ir. Wagito
NIP. 130 516 238

DOSEN PEMBIMBING :

Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc. (DPU)

Ir. Yhulia Praptiningsih S., MS (DPA)

MOTTO :

*Aku berpegang teguh pada Kebesaran Allah
karena Dialah yang Maha kuasa dan Maha segalanya
Keyakinanku kepada Allah adalah sumber kekuatan
yang paling besar dalam kehidupanku*

*Dan, aku percaya kepada diri dan kemampuanku
Karena aku tahu bahwa sebutir kepercayaan diri
lebih besar nilainya daripada sekarung bakat yang tertidur
Yakin kepada Allah dan percaya diri
Menciptakan mukjizat di atas dunia*

(Orang bijak)

SKRIPSI ini kupersembahkan boeat :

- ☺ Ibu dan Bapakku atas kasih sayang, pengorbanan, dan do'anya selama ini.
- ☺ Kakak-kakakku (*mbak En..... aku menang lho !!!*) dan adikku Inunk serta keponakan-keponakan kecilku α , β , γ , Deny, Jia, Suntur + Sib, yang telah memberiku semangat dan kasih sayang.
- ☺ Budi "D-mas", keberhasilan ini berkat kepercayaan dan kebersamaanmu sebagai seorang sahabat dan sebagai orang terdekat.
- ☺ Bolo error, puzink, sumpek 'ngluyur : Anies "X-ROR", Windy "II-tèk"
- ☺ Rekan-rekan sebandera *KPA -KHAJUBISITWA*, bersamamulah langkah kakiku aku ayunkan untuk menjelajahi rimba alam kehidupan, bersamamulah jemari tanganku aku tancapkan untuk mencengkeram kendali gelombang alam kehidupan, bersamamulah aku berkenalan dan bercengkrama dengan kata suka dan duka, dan bersamamulah aku merenungi makna "Pantang menyerah"
- ☺ Rekan-rekan angkatan '95, '96, '97 'n '98
- ☺ Almamater tercinta

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) yang berjudul "Produksi Enzim Selulase Oleh *Trichoderma viridae* Pada Medium Cair *Wheat Bran* Dan *Wheat Pollard* " ini dapat terselesaikan dengan baik.

Karya Ilmiah Tertulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan program strata satu pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Sehubungan dengan terselesaikannya penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini, penulis dengan setulus hati menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Ir. Wagito, selaku dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Ir. Susijahadi, MS. , selaku ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.
3. Bapak Dr. Ir. Sony Suwasono, MappSc. Selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan dukungan, bimbingan dan koreksi sampai terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini.
4. Ibu Ir. Yhulia Praptiningsih S.,MS, selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan sekaligus sebagai dosen wali yang telah sabar hati memberikan bimbingan, kritik dan koreksi terselesaikannya Karya Ilmiah tertulis ini.
5. Bapak Ir. Setiadji, selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah menyempurnakan penulisan Karya Ilmiah tertulis ini.

6. PT. Bogasari Flour Mills sebagai sponsor utama penelitian dan juga Mas Huda yang telah memberikan dukungan moril dan materiil.
7. Seluruh staf teknisi Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian :mbak Widi, Mas Adri, mbak sari, mbak Ketut, mbak Wim.
8. Special thaks buat *Dimas chayank* dan *tuax* atas semangat dan kebersamaan kita selama ini.
9. Partner penelitianku : *Anies "X-ROR"* ama *Eny*, juga temenku, *Windy "π-ték"*, *Dilla "Brindil"* dan segenap pihak yang turut membantu penelitianku.
10. Seluruh kru Kabira.Com : mas Agus cs , yang telah banyak membantuku selama penulisan skripsi.
11. *Mr. "G"* , sumber inspirasi, pelepas pusink, sumpek dan jenuhku.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan hanya pada Allah SWT, namun demikian penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat memberikan tambahan pengetahuan dan manfaat bagi seluruh umat manusia, Amin.

Jember, Mei 2000

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
RINGKASAN	xiii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Gandum	6
2.2 Dedak	7
2.3 Selulosa	9
2.4 Enzim Selulase	10
2.5 Sumber Enzim Selulase.....	13

2.6	Medium Pertumbuhan/Fermentasi Untuk Produksi Selulase	16
2.7	Hipotesis.....	19
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN		
3.1	Bahan dan Alat Penelitian	20
3.1.1	Bahan Penelitian	20
3.1.2	Alat Penelitian.....	20
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.3	Metode Penelitian.....	21
3.3.1	Pelaksanaan Penelitian	21
3.3.2	Rancangan Percobaan.....	24
3.4	Pengamatan.....	25
3.5	Prosedur Analisis.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Produksi Enzim Selulase pada Berbagai Jenis Dedak.....	27
4.2	Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai pH.....	39
4.3	Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Suhu.....	40
V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	42
5.2	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN.....		48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Wheat Bran</i> dan <i>Wheat Pollard</i>	9
2. Sidik Ragam Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Bran</i>	27
3. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Bran</i>	28
4. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Lama Fermentasi pada Media <i>Wheat Bran</i>	29
5. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Bran</i> dan Lama Fermentasi	30
6. Sidik Ragam Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Pollard</i>	33
7. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Pollard</i>	34
8. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Lama Fermentasi pada Media <i>Wheat Pollard</i>	35
9. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Pollard</i> dan Lama Fermentasi	36
10. Hasil Uji t Pengaruh Penggunaan Jenis Dedak Gandum	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penampang Melintang Biji Gandum	7
2. Struktur Selulosa	10
3. Diagram Alir Produksi Enzim Selulase Kasar	23
4. Hubungan antara Lama Fermentasi dengan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Bran</i>	31
5. Hubungan antara Lama Fermentasi dengan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi <i>Wheat Pollard</i> .	37
6. Hubungan Antara pH dengan Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Bran</i>	39
7. Hubungan Antara pH dengan Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Pollard</i>	39
8. Hubungan Antara Suhu dengan Aktifitas Enzim Selulase <i>Wheat Bran</i>	40
9. Hubungan Antara Suhu dengan Aktifitas Enzim Selulase <i>Wheat Pollard</i>	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pengamatan Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Bran</i> (unit/ml)	48
2. Hasil Pengamatan Aktifitas Enzim Selulase pada <i>Wheat Pollard</i> (unit/ml).....	49
3. Hasil Pengamatan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai pH (unit/ml).....	50
4. Hasil Pengamatan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Suhu (unit/ml).....	51

" PRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH *Trichoderma viridae* PADA MEDIUM CAIR WHEAT BRANDAN WHEAT POLLARD ", disusun oleh Sasmiasi (961710101087), Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dengan Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc. sebagai Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan Ir. Yhulia Praptiningsih S., MS. sebagai Dosen Pembimbing Anggota (DPA).

RINGKASAN

Penelitian dengan judul Produksi Enzim Selulase oleh *Trichoderma viridae* pada Medium Cair *Wheat Bran* dan *Wheat Pollard*, dilakukan di laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada bulan September 1999 sampai bulan Januari 2000.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi dedak gandum, lama fermentasi, dan jenis dedak gandum terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan, memperoleh kombinasi konsentrasi dedak gandum dan lama fermentasi yang tepat sehingga dihasilkan enzim selulase dengan aktivitas tertinggi serta memperoleh pH dan suhu optimal aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri atas dua faktor dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Faktor pertama adalah faktor A (konsentrasi dedak gandum) yaitu konsentrasi 2,5%, 5,0%, dan 10%. Faktor kedua adalah faktor B (lama fermentasi) yaitu lama fermentasi 2 hari, 3 hari, dan 4 hari. Dedak gandum yang digunakan ada dua macam yaitu *wheat bran* dan *wheat pollard*. Pengamatan yang dilakukan adalah dengan mengukur aktivitas enzim selulase berdasarkan analisis gula reduksi. Satu unit aktivitas enzim selulase setara dengan satu molekul glukosa yang dihasilkan dari

perlakuan enzim selulase terhadap larutan CMC 1% selama 1 menit. Data yang diperoleh diuji dengan uji F, sedangkan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey. Untuk mengetahui perbedaan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* digunakan uji t.

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi dedak gandum sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan *wheat pollard*. Lama fermentasi sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan berpengaruh juga pada medium cair *wheat pollard*. Jenis dedak gandum tidak berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan. Aktivitas enzim selulase tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan A_3B_3 , yaitu untuk konsentrasi 10% dengan lama fermentasi 4 hari. Kombinasi perlakuan ini menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas 0,00559 unit/ml untuk *wheat bran* dan 0,00421 unit/ml untuk *wheat pollard*. pH dan suhu optimum untuk produksi enzim selulase oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan *wheat pollard* terjadi pada pH 5,0 dan suhu 40° C.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Butir gandum merupakan sumber nutrisi yang telah digunakan oleh manusia sejak dahulu. Namun demikian, gandum tidak dapat digunakan secara langsung sebagai bahan pangan, tetapi harus melalui tahapan penanganan pendahuluan terlebih dahulu, yaitu proses pemisahan antara bagian yang dapat dikonsumsi langsung (endosperm) dengan bagian yang merupakan hasil samping yaitu berupa dedak dan lembaga. Apabila jumlah produksi tepung terigu cukup besar, maka akan menghasilkan produk samping yang besar pula.

Dedak sebagai hasil samping pengolahan gandum terdapat dalam dua bentuk yang berbeda ukuran dan kandungannya, yaitu *wheat bran* dan *wheat pollard*. Secara umum dedak gandum tersusun atas lapisan aleuron, jaringan-jaringan nusellar, lapisan biji (*testa*), sel-sel silang, hipodermis dan epidermis. Selain selulosa, nutrisi-nutrisi yang terdapat pada bagian dedak adalah niasin, piridoksin, asam pantothenat, riboflavin, thiamin, dan protein. Selulosa merupakan komponen terbesar penyusun dedak.

Dengan kandungan selulosanya yang cukup tinggi, apabila dedak terakumulasi dalam skala besar akan menyebabkan munculnya permasalahan pencemaran lingkungan. Salah satu cara untuk mengurangi pencemaran lingkungan adalah dengan melalui pengolahan limbah. Dengan adanya proses bioteknologi limbah hasil pengolahan dapat digunakan sebagai salah satu pilihan substrat bagi mikroba untuk menghasilkan produk-produk yang bermanfaat. Pemilihan jenis limbah sebagai substrat tersebut tentunya harus disesuaikan dengan kandungan

bahan-bahan yang ada didalamnya sehingga mampu menghasilkan produk secara maksimal.

Limbah pertanian seperti dedak gandum sampai saat ini masih dimanfaatkan dalam bentuk terbatas yaitu sebagai bahan campuran pembuatan pellet/pakan ternak. Dedak gandum yang kandungan selulosanya cukup besar dapat digunakan sebagai substrat untuk produksi enzim selulase. Pemanfaatan limbah selulosa sebagai pengganti selulosa murni yang mahal harganya dapat mengurangi biaya produksi enzim. Limbah selulosa tersedia dalam jumlah yang berlimpah, sehingga baik sekali untuk dimanfaatkan dalam konversi enzimatik menjadi produk-produk yang berguna seperti glukosa, protein sel tunggal, etanol dan lain-lain (Mandels, et al, 1975).

Pada umumnya limbah hasil pertanian mengandung 30 - 40% selulosa dan sampai saat ini selulosa tersebut belum dimanfaatkan secara maksimal. Berbagai hasil pertanian atau limbah pengolahan hasil pertanian yang dapat digunakan sebagai sumber karbon diantaranya jerami, pulp, kakao, onggok, dedak dan pulp tebu serta lainnya (Judoamidjojo, et al., 1990).

Di alam ada beberapa mikroorganisme tanah yang mampu menguraikan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat memberikan nilai tambah baik bagi alam maupun manusia. Salah satu mikroorganisme yang mampu memanfaatkan selulosa untuk pertumbuhannya adalah *Trichoderma viridae*. Kapang ini menghasilkan enzim selulase yang sangat efisien, terutama enzim yang mampu mengkatalisis reaksi hidrolisa kristal selulosa (Kosaric, et al., 1980 dalam Hefni dan Santoso, 1998). Bahkan tingkat keaktifan sifat enzim selulase dari mikroba lain diukur berdasarkan tingkat keaktifan enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma viridae*.

Enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma viridae*, dapat dimanfaatkan untuk merombak polisakarida yang umum terdapat dalam limbah hasil pertanian, baik berupa selulosa maupun hemiselulosa menjadi selobiosa. Menurut Alexander (1977) *Trichoderma sp* merupakan cendawan selulolitik yang sangat kuat dan merupakan agensia pada degradasi selulosa. Suba-Rao (1975) melaporkan bahwa *Trichoderma viridae* selain menguraikan selulosa juga dapat menguraikan lignin, kitin dan bahan organik lain melalui proses aerob.

Selulase dari *Trichoderma viridae* telah digunakan secara luas untuk pengembangan proses terutama oleh Toyama di Jepang, Herr di Jerman Barat dan peneliti-peneliti di Rusia serta untuk analisis protein selulase. Kompleks enzimnya sama dengan selulase dari *Trichoderma reesei* (Mandels, 1982)

Menurut Mangunwidjaja dan Suryani (1994) hal-hal yang harus dipertimbangkan dalam perancangan proses untuk produksi enzim adalah sebagai berikut.

- a. Tingkat kemurnian enzim.
- b. Suhu, pH, kekuatan ion yang dikehendaki selama proses.
- c. Persyaratan suhu dan kelembaban selama penyimpanan.
- d. Sifat mikroorganisme yang digunakan.
- e. Kondisi penanganan selama ekstraksi, purifikasi dan penyimpanan.

Tipe fermentasi untuk media pertumbuhan mikroorganisme juga memegang peranan penting dalam produksi enzim. Pada mulanya enzim yang diproduksi dalam industri menggunakan fermentasi padat dari gandum. Kemudian berkembang penggunaannya menjadi tipe fermentasi cair. Sekarang semakin banyak penggunaan substrat cair untuk produksi enzim. Penggunaan fermentasi cair lebih banyak memberikan keuntungan daripada penggunaan substrat padat. Keuntungan penggunaan substrat

cair untuk produksi enzim antara lain adalah menjamin tingkat homogenitas yang lebih baik, pengendalian parameter proses seperti pH, suhu, komposisi medium mudah dilakukan, biaya produksinya lebih murah, dapat dilakukan secara *batch*/kontinyu serta mudah dikembangkan.

Mengingat hal itu, pemanfaatan dedak gandum sebagai substrat penyedia karbon untuk produksi enzim selulase oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair perlu dilakukan dengan mempertimbangkan faktor-faktor yang berpengaruh seperti jenis dedak gandum, konsentrasi dedak dan lama fermentasi.

1.2 Permasalahan

Kandungan selulosa pada dedak gandum cukup tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai substrat untuk produksi enzim selulase. Permasalahan yang timbul dari penggunaan substrat dedak gandum oleh *Trichoderma viridae* untuk produksi enzim selulase adalah belum diketahui pengaruh konsentrasi dedak gandum, lama fermentasi, dan jenis dedak gandum yang digunakan sebagai sumber karbon terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan. Di samping itu belum diketahui juga pH dan suhu optimum aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan *wheat pollard*.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi dedak gandum terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.
2. Mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

3. Mengetahui pengaruh jenis dedak gandum terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.
4. Memperoleh kombinasi konsentrasi dedak gandum dan lama fermentasi sehingga dihasilkan enzim selulase dengan aktivitas paling tinggi.
5. Memperoleh pH dan suhu optimal aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

1.4 Kegunaan Penelitian

1. Memberikan alternatif pemecahan penggunaan limbah hasil pertanian yang mengandung sumber karbon potensial untuk mengurangi pencemaran lingkungan.
2. Memanfaatkan limbah selulosa dari dedak gandum sebagai media untuk produksi enzim selulase yang bernilai ekonomis tinggi.
3. Memberikan kemungkinan pengembangan lebih lanjut produksi gula sederhana yang dihasilkan untuk keperluan industri pengolahan makanan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

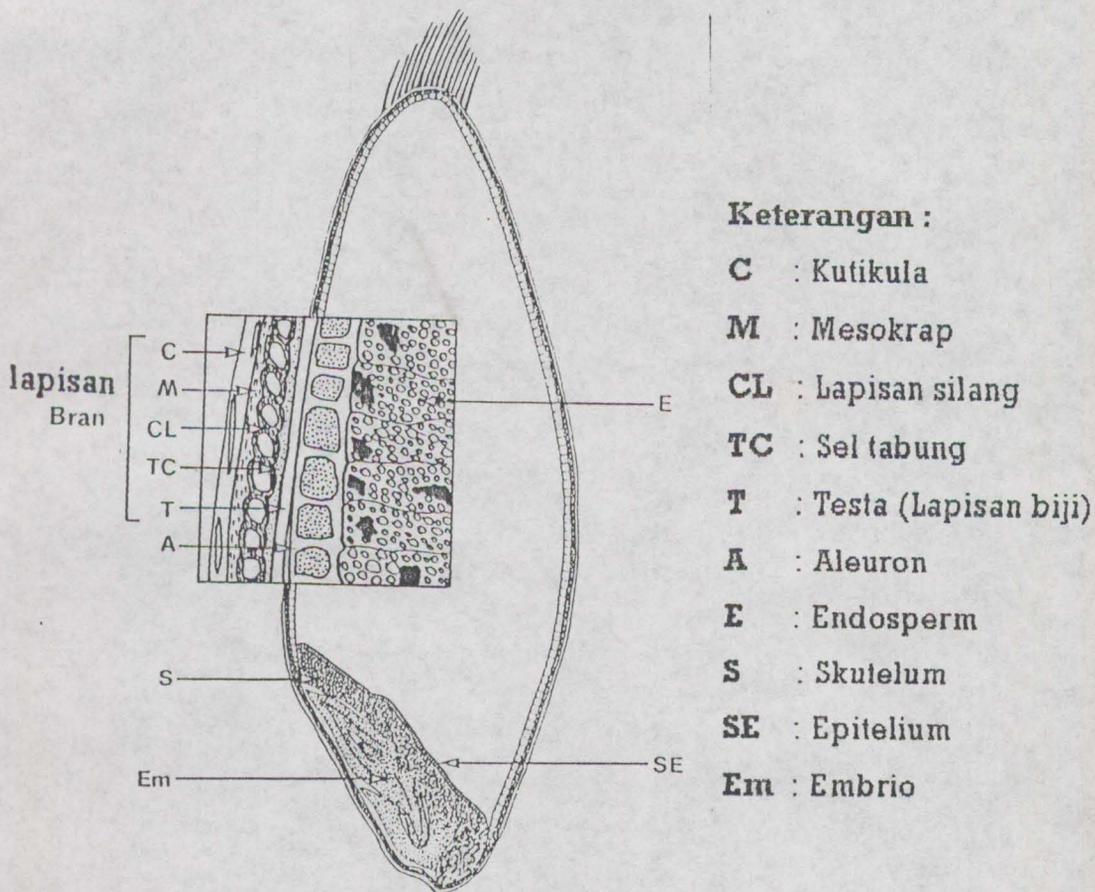
2.1. Gandum

Gandum merupakan rumputan semusim yang penting. Biji-bijian yang masak merupakan suatu lembaga yang terbungkus oleh lapisan pati yang tebal. Lembaga merupakan sumber vitamin, lemak dan protein yang baik. Lembaga dan bahan berpati pembungkusnya dibungkus lagi oleh sekam/kulit luar yang juga merupakan sumber protein dan vitamin yang baik (Desrosier, 1988).

Di dunia dikenal 3 jenis gandum yaitu *Durum wheat*, *Hard wheat* (gandum berbiji keras) dan *Soft wheat* (gandum berbiji lunak). *Durum wheat* terbagi 2 yaitu *amber durum* sebagai bahan baku pembuatan pasta, sedangkan *red durum* biasanya untuk makanan ternak dan jarang sekali dikonsumsi oleh manusia. *Hard wheat* dan *Soft wheat* adalah jenis gandum yang digunakan sebagai bahan baku tepung terigu (Anonim, 1999).

Produk-produk dari gandum merupakan sumber vitamin B, seperti thiamin, niasin dan riboflavin. Nutrisi-nutrisi lainnya adalah mineral, besi, kalsium dan protein. Secara umum struktur gandum terbagi menjadi 3 bagian yaitu endosperm, dedak dan lembaga. Endosperm butir gandum terdiri atas granula-granula pati di dalam matriks protein, dinding sel dari bahan selulosa dan lapisan aleuron yang merupakan bagian dari endosperm, namun terpisah dengan dedak. Bagian ini menyusun $\pm 83\%$ dari seluruh bagian butir gandum dan merupakan sumber tepung putih. Dedak terdiri atas lapisan aleuron, jaringan-jaringan nusellar, lapisan biji (testa), sel-sel tabung, sel-sel silang, hipodermis dan epidermis sebesar $\pm 14,5\%$. Lembaga terdiri atas scutellum, lembaran daun, lembar rudimen, lembar akar dan tudung akar. Bagian ini biasanya dipisahkan selama proses penggilingan karena banyak mengandung lemak yang

dapat mengurangi mutu simpan tepung (Novijanto, 1997). Gambar penampang melintang biji gandum dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penampang Melintang Biji Gandum

2.2 Dedak

Lapisan dedak atau perikarpium merupakan bagian luar dari butir gandum, sebenarnya tersusun atas 3 bagian yaitu epidermis, epikarpium dan endokarpium. Lapisan dedak sebagian besar tersusun atas selulosa, beberapa jenis protein dan mineral dalam jumlah kecil. Bushuk (1986)

melaporkan bahwa dedak gandum terdiri dari senyawa karbohidrat $\pm 70\%$. Dalam hal ini 50% adalah pentosan (hemiselulosa), 40% adalah selulosa dan sisanya sebanyak 10% merupakan senyawa gula dalam berbagai bentuk. Selulosa merupakan komponen utama serat kasar. Dedak yang di hasilkan ternyata tidak mengandung zat tepung. Tetapi untuk dedak komersial biasanya mengandung 10% zat tepung yang berasal dari lapisan aleuron yang melekat pada kulit gandum dan tidak terlepas pada waktu penggilingan. Dari proses penggilingan dihasilkan produk yang berbeda ukuran dan kandungannya yaitu *pollard* dan *Bran*.

Bran (dedak kasar) dan *pollard* (dedak halus) adalah sebenarnya kulit luar biji gandum dari lapisan aleurone. Keduanya terpisah secara otomatis setelah melewati proses penggilingan serta pengayakan biji gandum. Jumlahnya kurang lebih 15% dari total biji gandum. *Bran* dan *pollard* yang sudah tidak dapat digiling lagi menjadi tepung, dipadatkan dan dibentuk seperti pelor yang disebut dengan *pellet* (Anonim, 1991).

a. *Pollard*

Pollard merupakan kulit ari gandum yang halus, yang mempunyai kandungan serat dan protein yang tinggi. *Pollard* berasal dari bagian gandum yang lebih dekat dengan endosperm, mutu proteinnya lebih baik dibandingkan *bran* meskipun jumlahnya lebih kecil dan ukuran granulanya lebih kecil. *Pollard* digunakan untuk meningkatkan kandungan serat pada makanan (terutama pada roti *whole wheat*) dan dapat juga digunakan untuk pakan ternak.

b. *Bran*

Bran merupakan kulit gandum yang memiliki tekstur lebih kasar dan besar dibandingkan dengan *pollard*. *Bran* berukuran lebih besar dari *pollard* dan berkadar protein lebih banyak. *Bran* banyak digunakan

sebagai bahan penambah protein dan serat pada roti *whole wheat* dan sebagai bahan baku produksi pakan ternak (Anonim, 1999). Adapun komposisi kimia yang terdapat dalam *wheat bran* dan *wheat pollard*, ditunjukkan pada Tabel 1.

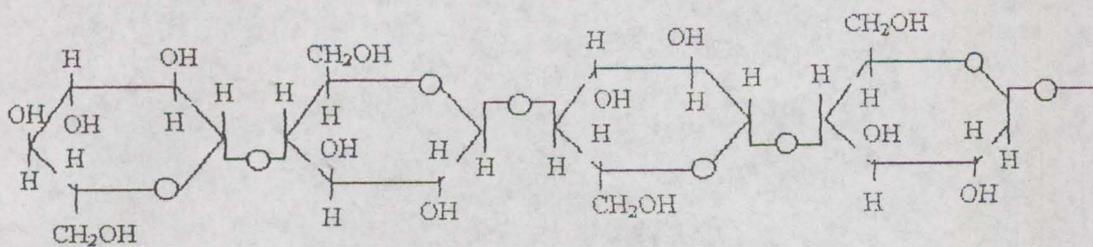
Tabel 1. Komposisi Kimia *Wheat Bran* dan *Wheat Pollard*

Komponen	Jumlah (%)	
	Wheat Bran	Wheat Pollard
Kadar air	maks 14	maks 14
Protein (n x 6,25) (db)	min 14,5	maks 14,5
Kadar abu (db)	maks 6,5	maks 5,5
Pati	maks 20	maks 30
Lemak kasar (db)	maks 4,0	maks 4,0
Serat kasar (db)	min 9,5	min 7,0

Sumber : Anonim, 1999.

2.3. Selulosa

Selulosa merupakan bagian terbesar dari dinding sel tumbuhan, oleh karena itu selulosa merupakan bahan organik alam yang melimpah. Secara kimia, selulosa adalah glukosa, karena tersusun atas satuan D-glukosa dengan ikatan 1,4- β glikosida dan membentuk molekul mirip rantai lurus. Sebuah molekul selulosa dapat digambarkan sebagai tongkat kecil panjang dengan akar alkohol primer pada C-6 dari satuan β -D-Glukosa yang diproyeksikan secara bergantian ke atas atau ke bawah bidang cincin piranosa (Loveless, 1987). Struktur selulosa seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Selulosa (Fessenden dan Fessenden, 1997).

Ikatan 1,4 - β antara unit-unit glukosa pada selulosa membentuk suatu rantai lurus yang mempunyai penyebaran gugus hidroksil yang sama pada sebelah luar masing-masing rantai. Bilamana dua atau lebih rantai selulosa berhubungan, maka gugus hidroksil tadi pada kondisi yang sesuai akan membentuk susunan paralel yang menyebabkan selulosa sangat tidak larut dalam air, kaku dan merupakan serat-serat panjang pada dinding sel tanaman (Solomons, 1980).

Selulosa dapat dihidrolisis dengan menggunakan enzim maupun dengan asam. Enzim yang dapat digunakan untuk memecah ikatan 1,4- β pada selulosa adalah enzim selulase (Winarno, 1995).

2.4 Enzim Selulase

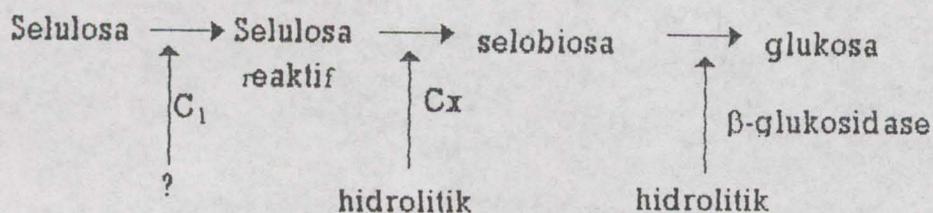
Selulase merupakan nama umum/trivial bagi enzim, sedangkan nama sistimatiknya adalah β -1,4 glukon-4-glukanohidrolase (EC 3.2.1.4). Istilah selulase mula-mula digunakan khusus untuk enzim yang dapat memecah selulosa kapas saja. Kini selulase digunakan dalam arti yang lebih luas yaitu senyawa yang dapat memecahkan ikatan glukosidik β -1,4 (Winarno, 1995).

Selulase merupakan enzim ekstraseluler, yaitu enzim yang diproduksi oleh sel dan dikeluarkan melalui dinding sel ke medium di sekelilingnya dan bekerja di luar sel yaitu memecah komponen-komponen

di dalam medium seperti protein, pati dan lemak. Hasil-hasil pemecahan komponen-komponen tersebut kemudian dapat diabsorpsi melalui dinding sel dan membran semipermeabel ke dalam sel dan digunakan oleh sel (Fardiaz, 1990).

Menurut Winarno (1995) ada 3 jenis selulase yang dikenal, yaitu :

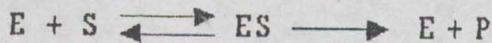
- a. Faktor C₁, yaitu suatu faktor yang masih belum jelas benar peranannya, diperlukan untuk menghancurkan selulosa dalam bentuk kristal dengan tingkat polimerisasi tinggi.
- b. β -glukonase yang terbagi dalam dua jenis, yaitu :
 1. Ekso- β -1,4-glukanase, menyerupai glukoamilase yang menyerang ujung non pereduksi pada rantai polimer selulosa.
 2. Endo- β -1,4-glukanase menghidrolisis molekul selulosa secara acak. Endo- β -1,4-glukosa inilah yang disebut faktor C_x.
- c. glukosidase yaitu enzim yang memiliki afinitas tinggi terhadap molekul kecil.



Menurut Loveless (1987) enzim juga mempunyai sifat khusus yaitu sangat selektif terhadap macam reaksi yang dikatalisisnya, sedangkan sifat-sifat umum dari enzim dalam fungsinya sebagai katalisator pada reaksi adalah sebagai berikut.

- a. Meningkatkan kecepatan reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi. Jadi meningkatkan proporsi molekul yang mempunyai cukup energi untuk bereaksi pada suatu waktu tertentu.

- b. Enzim dapat digunakan terus menerus, karena selama reaksi tidak mengalami perubahan dan akan terbentuk kembali pada akhir reaksi. Mekanisme reaksi secara umum adalah sebagai berikut.



- c. Dalam suatu reaksi diperlukan sejumlah kecil enzim untuk memberi efek yang besar sekali pada reaksi yang dikatalisisnya.

Enzim dapat berupa protein murni atau gabungan antara protein dengan gugusan-gugusan kimiawi lainnya. Seperti halnya semua protein, enzim akan terdenaturasi oleh panas, terendapkan oleh etanol atau garam-garam anorganik berkonsentrasi tinggi seperti amonium sulfat dan tidak dapat melewati membran semipermeabel/membran selektif. Dua ciri yang amat menyolok mengenai enzim adalah efisiensi katalitiknya yang tinggi dan derajat kekhususannya yang tinggi terhadap substrat (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Winarno (1986), aktifitas dan stabilitas kerja enzim sangat dipengaruhi oleh lingkungan yang berupa suhu, pH, kadar air dan aktifitas air.

a. Suhu

Semakin tinggi suhu proses, aktifitas enzim juga semakin meningkat. Pengaruh suhu terhadap aktifitas enzim ternyata cukup kompleks, misalnya suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat rusaknya enzim. Shahib (1992) menyatakan bahwa bila kenaikan suhu jauh diatas suhu optimal maka enzim akan terdenaturasi.

b. pH

Menurut Shahib (1992) kebanyakan enzim bekerja pada pH tertentu, sedangkan bila di atas atau di bawah pH tersebut aktifitasnya akan menurun. Perubahan yang terjadi adalah bila pH lebih rendah atau kadar H^+ meningkat maka gugus yang bermuatan negatif menjadi

terprotonisasi karena itu menetralkan muatan negatif. Sebaliknya bila pH meningkat atau konsentrasi OH^- meningkat maka gugus yang bermuatan positif berdisosiasi sehingga dinetralkan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi aktifitas enzim adalah suhu. Enzim menunjukkan aktifitas maksimal pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum, yang umumnya antara pH 4,5 sampai 8,0.

c. Kadar air dan aktifitas air

Kegiatan enzim dapat terjadi bila molekul air keberadaannya lebih banyak dari absorpsi monomolekuler. Peningkatan kadar air bebas digunakan untuk melancarkan reaksi enzim, dan umumnya hanya terjadi pada aktifitas air sesuai atau di atas Aw untuk absorpsi air.

2.5 Sumber Enzim Selulase

Fungi atau cendawan mesofilik yang memiliki kemampuan selulolitik karena menghasilkan selulase yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana antara lain adalah *Trichoderma reesei*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viridae*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus niger*, *Monilia sp* dan lain-lain (Achmad, 1992).

Bakteri mesofilik tidak begitu penting peranannya dalam merombak selulosa dan hemiselulosa. Fungi termofilik tumbuh pada temperatur 40°C sampai 60°C . Fungi termofilik *Hypomyces* seperti *Chaetinium thermophile*, *Humicola insolens*, dan *Sporotrichum thermophilum* adalah beberapa cendawan perombak selulosa kuat (Baki, 1988 dalam Achmad, 1992).

Jain et al (1979) dalam Achmad (1992) mendapatkan satu cendawan termotoleran yang menunjukkan aktifitas selulolitik bila ditumbuhkan pada media jerami gandum yaitu *Aspergillus fumigatus*. Menurut Enari (1983)

fungi yang paling banyak diteliti dan mungkin paling efisien dalam memproduksi enzim selulase adalah *Trichoderma reesei* dan *Trichoderma viridae*. Selulosa dari *Trichoderma viridae* telah digunakan secara luas untuk pengembangan proses terutama oleh Toyama di Jepang, Herr di Jerman Barat dan penelitian-penelitian di Rusia serta untuk analisa protein selulase (Mandels, 1982).

Menurut Alexander (1977) *Trichoderma sp* merupakan cendawan selulolitik yang sangat kuat dan merupakan agensia pada degradasi selulosa. Suba-Rao (1975) melaporkan bahwa *Trichoderma viridae* selain menguraikan selulosa juga dapat menguraikan lignin, kitin, dan bahan organik lain melalui proses aerob.

Menurut Mandels (1982) terdapat keuntungan dan kerugian *Trichoderma* sebagai sumber selulase. Keuntungan-keuntungannya adalah menghasilkan selulase yang lengkap dengan semua komponen yang dibutuhkan untuk hidrolisis total selulosa kristal dan memberikan rendemen protein selulase yang tinggi. Adapun kerugiannya adalah aktifitas spesifik enzim selulasenya rendah dan kandungan beta-glukosidasenya rendah.

Sejumlah kapang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis selulosa tetapi hanya beberapa jenis saja yang dapat menghasilkan enzim selulase bebas dari kapang. Sedangkan sebagian besar lainnya hanya mempunyai aktifitas selulolitik pada waktu pertumbuhannya. Untuk memproduksi enzim selulase dapat digunakan jenis kapang hasil isolasi dari kompos misalnya *Trichoderma viridae* (Rahman, 1986).

Trichoderma viridae merupakan jenis yang paling banyak dijumpai diantara jenis *Trichoderma* yang didapatkan secara berlimpah di alam, serta tidak bersifat patogen bagi tanaman (Umbreit, 1962). Papafijar (1985) menambahkan bahwa *Trichoderma viridae* tersebar luas dan

terdapat dalam semua jenis tanah dan habitat lainnya, terutama yang mengandung bahan organik.

Trichoderma viridae adalah kapang yang diisolasi dari tanah yang aktif dalam proses amonifikasi dan dalam dekomposisi selulosa. Di samping itu *Trichoderma viridae* juga menghasilkan suatu antibiotik yang cukup efektif terhadap beberapa macam spesies kapang lain (Pelczar dan Reid, 1974).

Menurut Fardiaz (1989) *Trichoderma viridae* termasuk famili *Moniliaceae*, ordo *Moniliales*, kelas *Fungi Imperfecti*, sub divisio *Eumycotina*, divisi *Mycota*. Sedangkan menurut Corry (1982) bahwa *Trichoderma viridae* termasuk dalam genus *Hypocrea*, famili *Hypocreaceae* dan ordo *Hypocreales*.

Morfologi *Trichoderma viridae* adalah miselium berseptat, bercabang banyak, konidiosphora berseptat dan cabang yang paling ujung berfungsi sebagai sterigma, konidia yang berwarna hijau cerah bergerombol menjadi satu membentuk seperti bola dan berkas-berkas hifa yang berwarna putih terlihat menonjol jelas diantara konidiosphora (Frazier dan Westhoff, 1981).

Selama pertumbuhan dan untuk memproduksi enzim selulosa, hampir semua kapang *Trichoderma sp* membutuhkan mineral-mineral Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} dan Zn^{2+} , Mn^{2+} . Mineral-mineral Fe^{2+} dan Mn^{2+} dapat berfungsi sebagai penginduksi. (Zhu, et al., 1981). Penambahan kombinasi mineral Fe^{2+} , Mn^{2+} , dengan Zn^{2+} atau Co^{2+} akan meningkatkan aktifitas selulase yang dihasilkan (Mandels dan Andreotti, 1975).

Menurut Papavizas (1985) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan *Trichoderma sp* adalah suhu, lengas nisbi udara, derajat keasaman media tumbuh, kandungan garam dan CO_2 .

a. Suhu

Suhu optimum untuk pertumbuhan linear dari *Trichoderma sp* pada agar dan produksi miselium berkisar antara 20 - 29⁰ C. Pertumbuhan sangat rendah pada 0⁰ C.

b. Lengas nisbi udara

Kelembaban minimum untuk pertumbuhan vegetatif *Trichoderma viridae* adalah 92%, sedangkan untuk sporulasi adalah 93 - 95%.

c. Derajat keasaman media tumbuh

Pertumbuhan *Trichoderma viridae* antara pH 1,5 - 9,0 dalam substrat biakan.

d. Kandungan garam

Kandungan garam yang tinggi dalam media menghambat perkecambahan *Trichoderma viridae* tetapi tidak menghambat pertumbuhan miselium. Pertumbuhan tidak terjadi dalam media yang mengandung NaCl 10%.

e. CO₂

CO₂ adalah komponen yang mudah menguap dan menyebabkan penghambatan pertumbuhan miselium dari *Trichoderma sp*.

2.6 Medium Pertumbuhan/Fermentasi Untuk Produksi Selulase

Jenis medium yang digunakan untuk pertumbuhan organisme dapat memberikan pengaruh besar terhadap ekspresi fenotip terhadap pembentukan produk. Maka komposisi medium dapat mempengaruhi konsentrasi biomassa, kecepatan spesifik dari pembentukan produk, waktu pembentukan produk, kecepatan dekomposisi produk dan stabilitas dari organisme produsen (Smith, 1990).

Menurut jenis mediumnya, proses fermentasi dibagi menjadi 2 golongan yaitu fermentasi medium padat dan fermentasi medium cair.

Fermentasi medium padat adalah proses fermentasi yang substratnya tidak larut dan tidak mengandung air bebas tetapi cukup mengandung air untuk keperluan mikroba. Sebaliknya fermentasi medium cair ialah proses fermentasi yang substratnya larut atau tersuspensi di dalam fase cair (Chalal, 1985).

Fermentasi medium cair secara umum berlangsung pada medium dengan kadar air 70-80%, karena pada keadaan ini medium mengandung air yang cukup untuk pertumbuhan mikroba. Pada hakekatnya kadar air substrat dalam fermentasi medium cair tergantung pada sifat alamiah substrat, jenis organisme dan tipe produk akhir yang di kehendaki (Chalal, 1983).

Media dirancang untuk memenuhi kebutuhan nutrisi organisme penghasil, tujuan proses dan skala operasi. Kebutuhan dasar nutrisi bagi mikroorganisme heterotrofik adalah energi atau sumber karbon, sumber nitrogen dan unsur organik. Beberapa mikroorganisme selain membutuhkan ketiga jenis nutrisi tersebut, juga membutuhkan zat pertumbuhan (faktor pertumbuhan). Bagi sebagian besar proses bioteknologi, sumber karbon dan nitrogen sering diperoleh dari campuran bahan alam atau hasil samping suatu industri. Sedangkan ion logam biasanya terdapat dalam jumlah mencukupi dalam air ledeng atau bahan baku utama (Smith, 1990).

Biasanya mineral makro seperti tembaga, mangan, besi, seng dan molibdenum tidak perlu ditambahkan karena pada bahan baku sumber karbon yang dipakai untuk produksi secara komersial, mineral tersebut sudah terdapat dalam jumlah yang cukup banyak (Judoamidjojo, 1990).

Mineral tambahan banyak dipakai dalam memproduksi enzim selulase, tujuan pemakaiannya adalah untuk pertumbuhan dan meningkatkan aktifitas mikroba dan enzim selulase yang dihasilkan. Berbagai

formulasi mineral yang dipakai oleh berbagai peneliti mengandung komponen-komponen utama seperti amonium sulfat dan urea sebagai sumber nitrogen anorganik (*Trichoderma* tidak mampu menggunakan nitrat). Mineral lainnya seperti komponen yang umumnya terdapat dalam media untuk fungi seperti kalium dihidrogen fosfat dan magnesium sulfat (Sternberg, 1976).

Ketersediaan nutrisi akan memberikan pengontrolan secara fisiologis yang baik terhadap reaksi fermentasi dan pembentukan produk. Optimasi produk sangat dipengaruhi oleh formulasi medium dan ketersediaan nutrisi spesifik selama fermentasi. Jika biomassa atau produk tertentu merupakan tujuan fermentasi, maka formulasi medium harus memberikan potensi pertumbuhan maksimal. Formulasi medium tergantung pada proses yang diteliti. Ada beberapa proses yang memerlukan adanya induser dalam medium, sedangkan proses lainnya mungkin dihambat atau ditekan oleh suatu komponen medium. Hambatan katabolit tertentu merupakan masalah umum pada produksi enzim dan biasanya terjadi pada fermentasi dalam medium yang mengandung glukosa (Smith, 1990).

Pengaturan suhu dan pH media merupakan input yang penting untuk mendapatkan hasil enzim selulase yang baik. Kontrol pH merupakan faktor yang kritis karena bila pH tidak terkontrol maka enzim yang dihasilkan akan menjadi inaktif oleh keadaan lingkungan yang bersifat terlalu asam, sebaliknya pada kondisi pH yang tinggi rendemen selulase akan mengalami penurunan (Chose, 1978).

Suhu merupakan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi mikro-organisme. Suhu dapat mempengaruhi mikroorganisme apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhannya akan dipercepat (Buckle, et al., 1987).

Masing-masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum dan maksimum untuk pertumbuhannya. Di bawah suhu minimum dan di atas suhu maksimum aktifitas enzim akan terhambat, bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan terjadi denaturasi enzim (Fardiaz, 1992).

2.7 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian adalah seperti tersebut di bawah ini.

1. Konsentrasi dedak gandum, lama fermentasi, dan jenis dedak gandum yang digunakan berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan.
2. Pada konsentrasi dedak gandum dan lama fermentasi tertentu akan diperoleh aktifitas enzim selulase tertinggi.
3. Terdapat pH dan suhu optimal aktifitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viridae*.

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian adalah dedak gandum (*wheat bran* dan *wheat pollard*) dan isolat kapang kompos (*Trichoderma viridae*).

Bahan kimia yang digunakan adalah KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, buffer asetat pH 5,0, aquadest, CMC 1%, pereaksi nelson, arseno molibdat, dan glukosa anhidrat.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, spectronic 21, penangas air, water batch, timbangan, shaker, tempat film, termometer, kain saring, autoklaf, ayakan 40 mesh, oven, jarum ose, bunsen dan alat-alat gelas.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, dan dilakukan mulai bulan September 1999 sampai bulan Januari 2000.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan melalui beberapa tahap yaitu persiapan bahan baku media, pembuatan medium cair, persiapan kultur mikroba, inokulasi, inkubasi dan uji aktifitas enzim, uji pengaruh pH dan suhu terhadap aktifitas enzim selulase.

1. Tahap persiapan bahan baku media

Dedak gandum yang terdiri dari *wheat bran* dan *wheat pollard* dilakukan perlakuan awal yaitu dengan cara menggiling dedak gandum tersebut kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh.

2. Tahap pembuatan medium cair

- Mencampurkan dedak gandum yang sudah digiling sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan dengan 0,1 gram KH_2PO_4 , 0,005 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 100 ml aquadest.
- Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit.

3. Persiapan kultur mikroba

Kultur mikroba dipersiapkan dengan memperbanyak kultur murni *Trichoderma viridae* pada media PDA dengan teknik perbanyakan menggunakan metode agar miring. Inkubasi perbanyakan dilakukan selama 96 jam pada suhu kamar. Jumlah biakan yang disiapkan sesuai dengan jumlah kebutuhan penelitian.

4. Inokulasi

Setelah lama inkubasi selesai, maka dalam masing-masing tabung biakan diberi 10 ml aquadest steril. Suspensi tersebut dimasukkan menjadi satu ke dalam gelas beker agar menjadi homogen. Selanjutnya dengan menggunakan pipet volum yang steril, suspensi *Trichoderma viridae* tersebut diinokulasikan sebanyak 1 ml ke dalam medium cair yang telah disterilisasi.

5. Inkubasi dan uji aktifitas enzim selulase

Media yang telah diinokulasikan dengan suspensi kultur murni selanjutnya diinkubasi di atas shaker dengan lama fermentasi tertentu sesuai dengan perlakuan. Setelah lama fermentasi selesai kemudian dilakukan penyaringan dan dihasilkan larutan enzim selulase kasar. Enzim selulase kasar yang diperoleh kemudian diuji aktifitasnya.

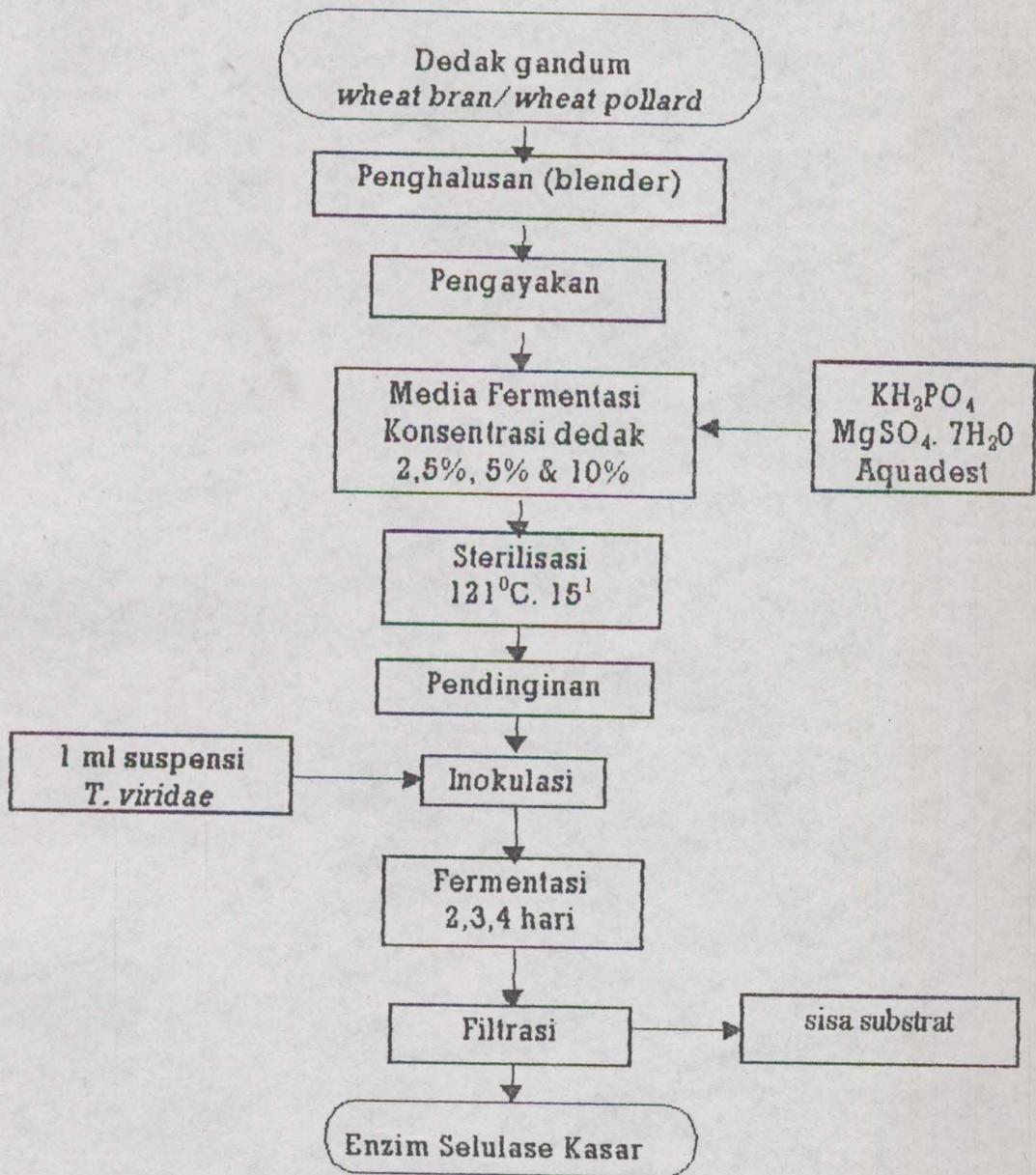
6. Uji pengaruh pH terhadap aktifitas enzim selulase

Pengaruh pH terhadap aktifitas enzim selulase dilakukan dengan cara mengambil sampel yang mempunyai aktifitas terbesar. Sampel tersebut diuji menggunakan variasi pH buffer pada konsentrasi 0,05 M. Buffer asetat untuk pH 4 - 5 dan buffer fosfat untuk pH 6 - 8, pada suhu inkubasi 42°C.

7. Uji pengaruh suhu terhadap aktifitas enzim selulase

Pengaruh suhu terhadap aktifitas enzim selulase ditentukan dengan cara mengambil sampel yang mempunyai aktifitas terbesar. Sampel tersebut diuji pada kisaran suhu 20° sampai 70°C.

Diagram alir produksi enzim selulase kasar ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Produksi Enzim Selulase Kasar

3.3.2 Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 2 faktor untuk jenis dedak *wheat bran* dan *wheat pollard*. Masing-masing faktor terdiri atas 3 level dan 3 kali ulangan.

Faktor pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi dedak (Faktor A)

A_1 : konsentrasi 2,5%

A_2 : konsentrasi 5%

A_3 : konsentrasi 10%

Sedangkan faktor kedua adalah lama fermentasi (faktor B).

B_1 : fermentasi 2 hari

B_2 : fermentasi 3 hari

B_3 : fermentasi 4 hari

Dalam penelitian ini terdapat kombinasi perlakuan sebagai berikut :

$A_1 B_1$ $A_2 B_1$ $A_3 B_1$

$A_1 B_2$ $A_2 B_2$ $A_3 B_2$

$A_1 B_3$ $A_2 B_3$ $A_3 B_3$

Menurut Gaspersz (1991), model linier yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

di mana :

Y_{ijk} = nilai pengamatan dari kelompok ke-k, yang memperoleh taraf ke-i dari faktor A, dan taraf ke-j dari faktor B

μ = nilai rata-rata sesungguhnya

K_k = pengaruh aditif dari kelompok ke-k

A_i = pengaruh aditif dari taraf ke-i faktor A

B_j = pengaruh aditif dari taraf ke-j faktor B

$(AB)_{ij}$ = pengaruh interaksi ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B

ϵ_{ijk} = pengaruh galat percobaan pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i faktor A, taraf ke-j faktor B

Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan digunakan Uji Beda Tukey. Sedangkan untuk mengetahui perbedaan antara *wheat bran* dan *wheat pollard* digunakan uji t.

3.4 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan mengukur aktifitas enzim selulase berdasarkan analisis gula reduksi.

3.5 Prosedur Analisis

Pengujian aktifitas enzim selulase ditentukan dengan mengukur jumlah glukosa hasil hidrolisis selulosa dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji, et al., 1996).

1. Pembuatan Kurva Standart.

- a. Membuat larutan glukosa anhidrat standart (10 mg / 100 ml) dengan cara menimbang glukosa anhidrat sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 10 ml.
- b. Membuat larutan glukosa anhidrat standart 0 mg/ml; 0,1 mg/ml; 0,2 mg/ml; 0,4 mg/ml; 0,6 mg/ml; 0,8 mg/ml ; 1,0 mg/ml.
- c. Menyiapkan 7 tabung reaksi dan masing-masing tabung reaksi diisi dengan 1 ml larutan glukosa anhidrat standart dan ditambahkan 1 ml pereaksi nelson kemudian dipanaskan selama 20 menit.
- d. Kemudian didinginkan dan ditambahkan 1 ml pereaksi arseno molibdat dan aquadest sampai batas 10 ml.
- e. Mengukur absorbansinya pada $\lambda = 540 \text{ nm}$.

2. Pengujian Sampel

- a. Mencampur 0,5 ml CMC 1 % dalam larutan buffer asetat 0,05 M (pH.5,0) dan 0,2 ml larutan enzim selulase kasar.
- b. Inkubasi dalam water bath pada suhu 42^o C selama 10 menit.
- c. Kemudian ditambahkan 1 ml pereaksi nelson dan dididihkan selama 20 menit.
- d. Kemudian didinginkan dan ditambahkan 1 ml pereaksi arseno molibdat dan aquadest sampai batas 10 ml.
- e. Mengukur absorbansinya pada $\lambda = 540$ nm.
- f. Kadar glukosa diukur berdasarkan kurva standart dengan ketentuan satu unit aktifitas selulase setara dengan 1 molekul glukosa yang dihasilkan dari perlakuan enzim selulase terhadap larutan CMC 1% selama 1 menit.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi Enzim Selulase pada Berbagai Jenis Dedak

Jenis dedak gandum yang digunakan dalam produksi enzim selulase oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair ada dua, yaitu *wheat bran* dan *wheat pollard*. Penggunaan jenis dedak gandum untuk produksi enzim selulase tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut.

a. *Wheat Bran*

Hasil Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi dedak dan lama fermentasi terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sidik Ragam Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Bran*

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Blok	2	0.00000008	0.00000004	1.050823 ns	3.63	6.22
Perlakuan	8	0.00006104	0.00000763	202.402049 **	2.59	3.89
Faktor A	2	0.00003338	0.00001669	442.749723 **	3.63	6.22
Faktor B	2	0.00001368	0.00000684	181.373855 **	3.63	6.22
Interaksi AB	4	0.00001399	0.00000350	92.742308 **	2.93	4.58
Galat	16	0.00000060	0.00000004			
Total	26	0.00006173				

Keterangan : ns Berbeda tidak nyata
** Berbeda sangat nyata

Tabel 2 menunjukkan bahwa faktor konsentrasi dedak (A) dan lama fermentasi (B) berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase, dan terdapat interaksi.

Hasil Uji Beda aktifitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi (A) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi Wheat Bran

Konsentrasi (%)	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
A ₁ (2,5)	0,000612	a
A ₂ (5,0)	0,001852	b
A ₃ (10)	0,003332	c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05.

Tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi dedak meningkatkan aktifitas enzim selulase. Aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada konsentrasi 10% (A₃). Hal ini dapat terjadi karena pada konsentrasi 10% sumber nutrisi yang diperlukan oleh *Trichoderma viridae* untuk hidrolisis selulosa lebih banyak tersedia. Pada konsentrasi 10%, substrat banyak menyediakan sumber karbon yang berasal dari dedak gandum tersebut. Sumber karbon tersebut oleh *Trichoderma viridae* digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan biosintesis enzim selulase. Sedangkan pada konsentrasi 2,5% aktifitas enzim selulase rendah. Dengan rendahnya sumber nutrisi tersebut maka kemungkinan sumber nutrisi banyak digunakan untuk pertumbuhan *Trichoderma viridae* dan hanya sedikit digunakan untuk biosintesis enzim selulase.

Hasil Uji Beda aktifitas enzim selulase pada berbagai lama fermentasi (B) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Lama Fermentasi pada Media *Wheat Bran*

Lama Fermentasi (hari)	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
B ₁ (2)	0,001184	a
B ₂ (3)	0,001722	b
B ₃ (4)	0,002889	c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05.

Tabel 4 menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh pada aktifitas enzim selulase. Aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada lama fermentasi 4 hari (B₃). Semakin lama fermentasi maka aktifitas enzim selulase yang diproduksi semakin tinggi. Hal itu dapat terjadi karena semakin lama fermentasi maka memberikan kesempatan lebih banyak *Trichoderma viridae* melakukan kontak dengan substrat, sehingga lebih banyak enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viridae* untuk merombak selulosa menjadi glukosa.

Hasil Uji Beda aktifitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi (A) dan lama fermentasi (B) dapat dilihat pada Tabel 5.

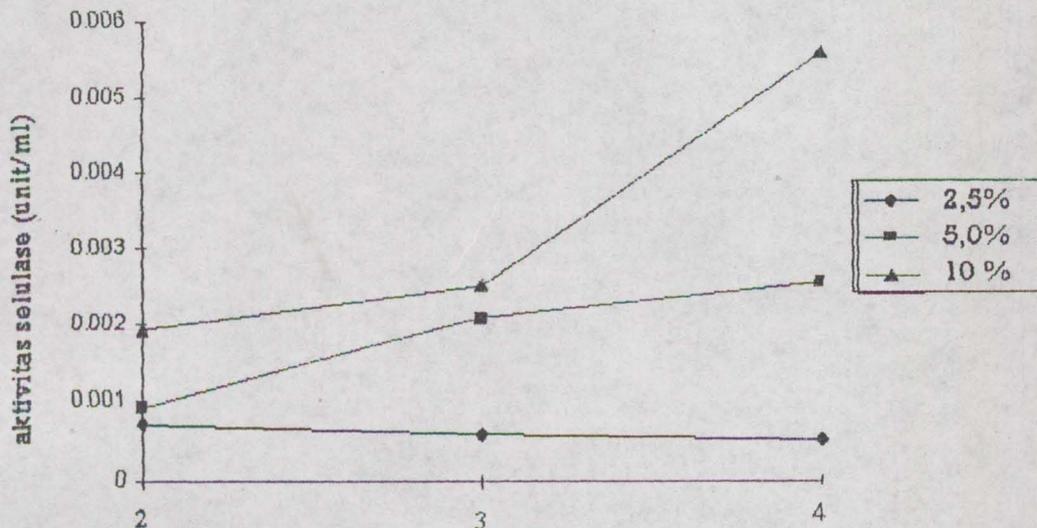
Tabel 5. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi *Wheat Bran* dan Lama Fermentasi.

Perlakuan	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
A ₁ B ₁	0,00071	a
A ₁ B ₂	0,00060	a
A ₁ B ₃	0,00053	a
A ₂ B ₁	0,00093	a
A ₂ B ₂	0,00208	bc
A ₂ B ₃	0,00255	c
A ₃ B ₁	0,00191	b
A ₃ B ₂	0,00249	c
A ₃ B ₃	0,00559	d

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05

Tabel 5 menunjukkan bahwa aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada kombinasi perlakuan A₃B₃ (konsentrasi 10% dan lama fermentasi 4 hari) yaitu sebesar 0,00559 unit/ml. Sedangkan aktifitas terendah terjadi pada kombinasi perlakuan A₁B₃ (konsentrasi 2,5% dan lama fermentasi 4 hari) yaitu sebesar 0,00053 unit/ml.

Hubungan antara lama fermentasi (B) dengan aktifitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi *wheat bran* dapat dilihat pada Gambar 4.



Lama fermentasi (hari)

Gambar 4. Hubungan antara Lama Fermentasi dengan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi *Wheat Bran*.

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi dan semakin lama fermentasi maka aktifitas enzim selulase yang dihasilkan semakin meningkat. Hal itu terlihat pada konsentrasi 5% dan 10% dengan fermentasi yang semakin lama aktifitasnya semakin meningkat. Semakin lama fermentasi dan semakin besar nutrisi yang tersedia maka memberikan kesempatan lebih banyak *Trichoderma viridae* melakukan kontak dengan substrat sehingga aktifitas enzim selulase yang dihasilkan semakin besar. Sedangkan untuk perlakuan konsentrasi 2,5% dengan lama fermentasi yang semakin lama maka aktifitas enzim selulase semakin menurun. Hal ini dapat terjadi karena semakin lama fermentasi maka

sumber nutrisi yang dipakai oleh *Trichoderma viridae* untuk hidrolisisnya semakin habis sehingga aktifitasnya semakin menurun.

Berdasarkan Gambar 4 tersebut, apabila fermentasi terus dilanjutkan kemungkinan pada konsentrasi dedak gandum 10% aktifitas enzim selulase akan terus meningkat dan kemudian mengalami penurunan pada lama fermentasi tertentu. Hal itu dapat terjadi karena dengan semakin lama fermentasi dan semakin besar nutrisi yang tersedia maka memberikan kesempatan pada *Trichoderma viridae* melakukan kontak dengan substrat sehingga aktifitas enzim selulase yang dihasilkan semakin meningkat dan pada lama fermentasi tertentu akan mengalami penurunan karena substrat sebagai sumber nutrisi yang ada semakin lama semakin habis. Pada konsentrasi 5%, apabila fermentasi dilanjutkan maka kemungkinan aktifitas enzim selulase yang dihasilkan mengalami peningkatan secara perlahan dan pada lama fermentasi tertentu terjadi penurunan. Apabila dibandingkan dengan konsentrasi gandum 10% aktifitasnya lebih kecil karena sumber nutrisi pada konsentrasi gandum 10% lebih banyak dibandingkan dengan 5%, sehingga nutrisi yang ada lebih banyak digunakan untuk pertumbuhan *Trichoderma viridae* dan sedikit digunakan untuk biosintesis enzim selulase.

b. Wheat Pollard

Hasil Analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi dedak dan lama fermentasi terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Pollard*

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Blok	2	0.0000008	0.0000004	1.449447 ns	3.63	6.22
Perlakuan	8	0.0000433	0.0000054	20.548980 **	2.59	3.89
Faktor A	2	0.0000376	0.0000188	71.297633 **	3.63	6.22
Faktor B	2	0.0000025	0.0000012	4.743187 *	3.63	6.22
Interaksi AB	4	0.0000032	0.0000008	3.077550 *	2.93	4.58
Galat	16	0.0000042	0.0000003			
Total	26	0.0000483				

Keterangan : ns Berbeda tidak nyata
 * Berbeda nyata
 ** Berbeda sangat nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa faktor lama fermentasi (B) berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan. Sedangkan besarnya konsentrasi (A) sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase dan terdapat interaksi.

Hasil Uji Beda aktifitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi (A) dapat ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi *Wheat Pollard*

Konsentrasi (%)	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
A ₁ (2,5)	0,000838	a
A ₂ (5,0)	0,001576	b
A ₃ (10)	0,003626	c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05

Tabel 7 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula aktifitas enzim selulase yang dihasilkan. Aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada konsentrasi 10% (A₃), sedangkan aktifitas terendah pada konsentrasi 2,5% (A₁). Hal ini terjadi karena sumber nutrisi yang diperlukan oleh *Trichoderma viridae* untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa masih tersedia. Semakin banyak nutrisi yang tersedia maka semakin banyak selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa.

Hasil Uji Beda aktifitas enzim selulase pada berbagai lama fermentasi (B) dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Lama Fermentasi pada Media *Wheat Pollard*

Lama Fermentasi (hari)	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
B ₁ (2)	0,001584	a
B ₂ (3)	0,002256	b
B ₃ (4)	0,002200	ab

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05

Tabel 8 menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi aktifitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viridae* semakin meningkat sampai pada batas maksimal dan kemudian terjadi penurunan. Hal itu terlihat pada lama fermentasi dua hari (B₁) aktifitas meningkat sampai pada aktifitas tertinggi terjadi pada lama fermentasi tiga hari (B₂) dan kemudian aktifitasnya menurun setelah lama fermentasi tiga hari. Hal itu dapat terjadi karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak sel-sel *Trichoderma viridae* yang tumbuh sehingga semakin besar pula nutrisi yang diperlukan. Padahal jumlah nutrisi yang tersedia semakin berkurang sehingga terjadi kompetisi antar sel, dan kemungkinan banyak sel-sel *Trichoderma viridae* yang mati sehingga enzim selulase yang diproduksi semakin sedikit karena selulosa yang dihirolisis sudah habis.

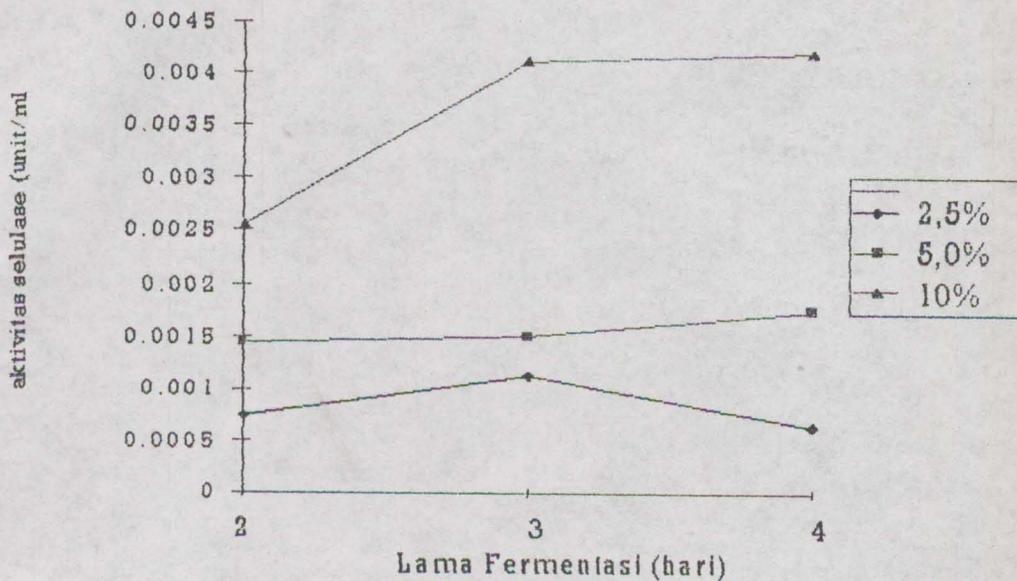
Hasil Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada berbagai konsentrasi (A) dan lama fermentasi (B) dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji Beda Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi *Wheat Pollard* dan Lama Fermentasi.

Perlakuan	Aktifitas Enzim (Unit/ml)	Notasi
A ₁ B ₁	0,00075	a
A ₁ B ₂	0,00113	a
A ₁ B ₃	0,00064	a
A ₂ B ₁	0,00145	ab
A ₂ B ₂	0,00152	ab
A ₂ B ₃	0,00176	ab
A ₃ B ₁	0,00255	b
A ₃ B ₂	0,00412	c
A ₃ B ₃	0,00421	c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji Tukey taraf 0,05.

Tabel 9 menunjukkan bahwa aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada kombinasi perlakuan A₃B₃ (konsentrasi 10% dan lama fermentasi 4 hari) yaitu sebesar 0,00421 unit/ml. Sedangkan aktifitas enzim selulase terendah terjadi pada kombinasi perlakuan A₁B₃ (konsentrasi 2,5% dan lama fermentasi 4 hari) yaitu sebesar 0,00064 unit/ml. Hubungan antara lama fermentasi (B) dengan aktifitas enzim selulase pada berbagai konsentrasi *wheat pollard* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan antara Lama Fermentasi dengan Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Konsentrasi *Wheat Pollard*

Gambar 5 menunjukkan bahwa aktifitas enzim selulase tertinggi pada konsentrasi 10% dengan lama fermentasi 4 hari (A_3B_3). Sedangkan aktifitas terendah terjadi pada konsentrasi 2,5% dan lama fermentasi 4 hari (A_1B_3). Hal itu dapat terjadi karena pada konsentrasi 10% menyediakan nutrisi yang lebih banyak untuk pertumbuhan dan biosintesis enzim selulase, sedangkan untuk konsentrasi 2,5% nutrisi yang tersedia sedikit sehingga semakin lama fermentasi maka semakin banyak sel-sel *Trichoderma viridae* yang tumbuh sehingga semakin banyak pula nutrisi yang diperlukan, padahal jumlah nutrisi yang tersedia semakin berkurang dan terjadi kompetisi antar sel sehingga banyak *Trichoderma viridae* yang mati yang menyebabkan aktifitas enzim selulasenya menjadi rendah.

Berdasarkan Gambar 5, apabila fermentasi terus dilanjutkan maka pada konsentrasi dedak gandum 10%, aktifitas enzim selulase akan mengalami penurunan dan untuk konsentrasi dedak gandum 5%, aktifitas enzim selulase akan naik perlahan dan kemudian mengalami penurunan. Hal itu dapat terjadi karena pada *wheat pollard* kandungan patinya lebih besar dibandingkan dengan *wheat bran* sehingga semakin lama fermentasi maka akan terjadi glatinisasi pati yang dapat menghambat aktifitas enzim selulase.

Uji t digunakan untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis dedak gandum yang digunakan. Hasil uji t pengaruh penggunaan jenis dedak gandum dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji t Pengaruh Penggunaan Jenis Dedak Gandum.

	Wheat Bran	Wheat Pollard	t-hitung	t-tabel
Aktifitas selulase (unit/ml)	0,0019322	0,0020144	0,1184073 ns	2,12

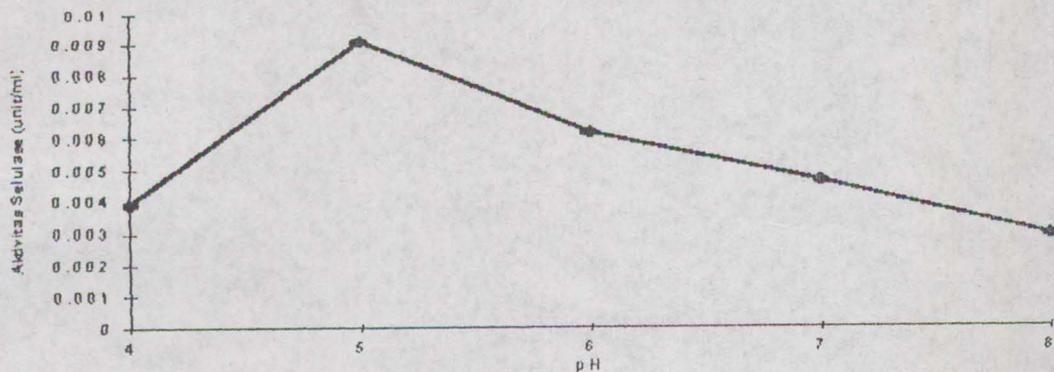
Keterangan : ns berbeda tidak nyata

Berdasarkan Tabel 10 menunjukkan bahwa penggunaan dedak gandum *wheat bran* dan *wheat pollard* tidak berpengaruh pada produksi enzim selulase. Sebenarnya penggunaan dedak gandum *wheat bran* dan *wheat pollard* mempunyai kecenderungan yang sama dalam memproduksi enzim selulase, bedanya hanya pada aktifitas enzim selulasenya. Hal itu dapat terjadi karena *wheat bran* mempunyai kandungan serat kasar yang lebih besar dibandingkan dengan *wheat pollard*. Kandungan serat kasar untuk *wheat bran* minimal 9,5 sedangkan untuk *wheat pollard* minimal 7,0 (Anonim, 1999). Dengan besarnya kandungan serat kasar tersebut maka semakin banyak pula nutrisi yang

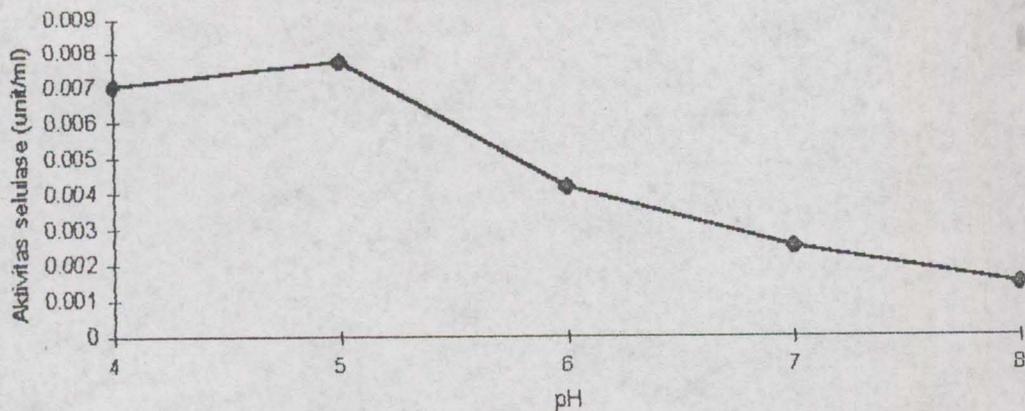
dapat digunakan oleh *Trichoderma viridae* untuk pertumbuhan dan biosintesis enzim selulase. Aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada kombinasi perlakuan A₃B₃. Aktifitas enzim selulase untuk wheat bran 0,00559, unit/ml sedangkan untuk wheat pollard 0,00421 unit/ml.

4.2 Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai pH

Aktifitas enzim selulase pada berbagai pH ditunjukkan pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 6. Hubungan antara pH dengan Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Bran*.



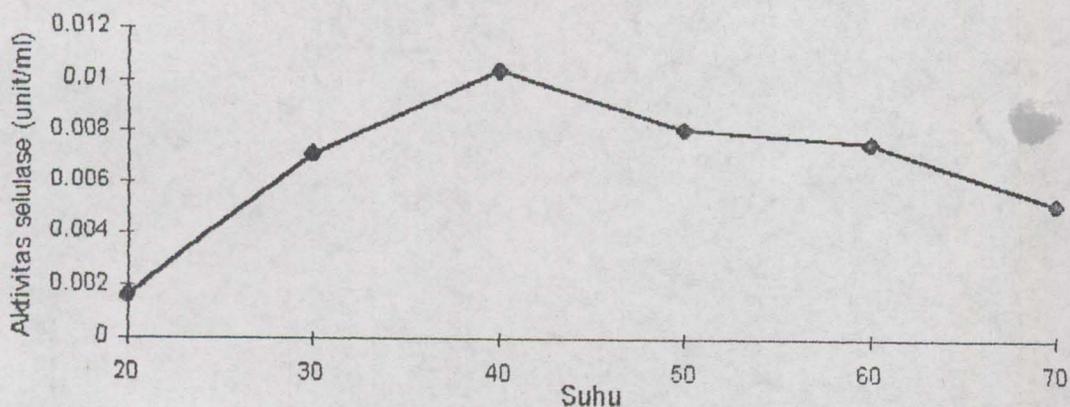
Gambar 7. Hubungan antara pH dengan Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Pollard*.

Gambar 6 dan 7 menunjukkan bahwa pH sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase. Aktifitas enzim selulase tertinggi terjadi pada pH 5 dan pH di atas atau di bawah pH 5, aktifitas enzim selulase akan menurun. Nilai pH berpengaruh pada stabilitas enzim. Komponen utama enzim adalah protein, sifat molekulnya dipengaruhi oleh pH, sehingga perubahan pH dapat mempengaruhi struktur molekul enzim, baik struktur sekunder, tersier maupun kwartener, sehingga otomatis akan mempengaruhi konformasi protein enzim.

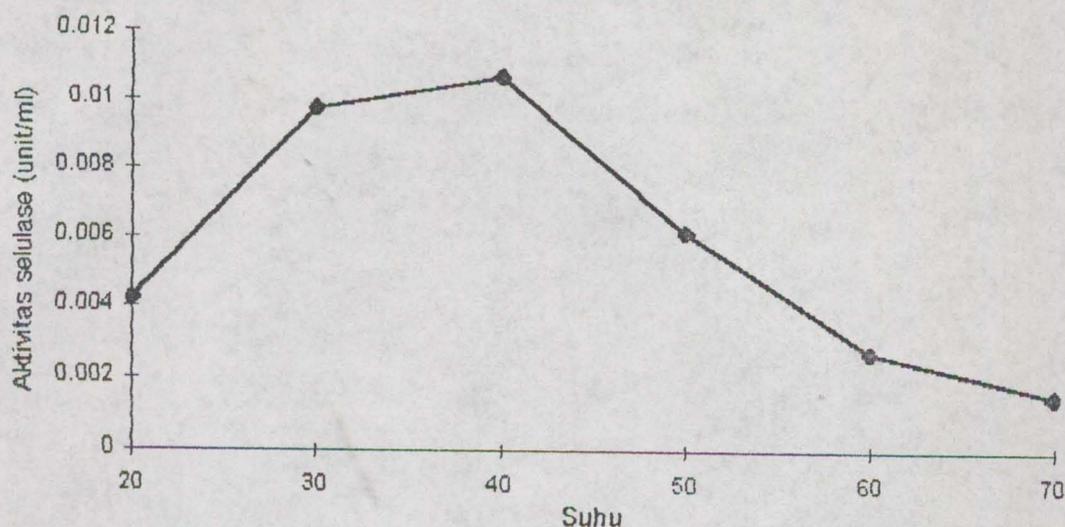
Pada pH optimum dalam hal ini pH 5, kelarutan enzim sangat tinggi sehingga enzim dapat terdistribusi secara merata pada sistem yang dikatalisis sehingga kemungkinan berikatan dengan substrat tinggi. Kebanyakan enzim bekerja pada pH tertentu, sedangkan bila di atas atau di bawah pH tersebut aktifitasnya menurun. Enzim mengalami denaturasi tidak dapat balik dalam larutan yang terlalu asam atau basa.

4.3 Aktifitas Enzim Selulase pada Berbagai Suhu

Aktifitas enzim selulase pada berbagai suhu ditunjukkan pada Gambar 8 dan 9.



Gambar 8. Hubungan antara Suhu dengan Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Bran*



Gambar 9. Hubungan antara Suhu dengan Aktifitas Enzim Selulase pada *Wheat Pollard*.

Berdasarkan Gambar 8 dan 9 menunjukkan bahwa peningkatan suhu sampai suhu 40⁰ C akan meningkatkan aktifitas enzim selulase yang dihasilkan dan menurun pada suhu lebih dari 40⁰ C. Aktifitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viridae* optimum terjadi pada suhu 40⁰ C dan aktifitasnya menurun di atas atau di bawah suhu 40⁰ C.

Suhu berpengaruh terhadap stabilitas enzim yaitu berpengaruh terhadap konformasi molekul enzim. Enzim merupakan protein maka jika suhu terlalu tinggi maka protein akan terdenaturasi. Suhu juga berpengaruh terhadap konversi substrat menjadi produk. Dengan penambahan suhu 10⁰ C akan terjadi peningkatan laju reaksi sapaai pada batas tertentu, karena jika suhu terlalu tinggi maka akan terjadi denaturasi. Menurut Winarno (1986) semakin tinggi suhu proses aktivasi enzim juga semakin meningkat. Suhu yang tinggi dapat mempercepat rusaknya enzim, karena komponen utama enzim adalah protein, sehingga suhu tinggi dapat menyebabkan protein (enzim) terdenaturasi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan "Produksi Enzim Selulase oleh *Trichoderma viridae* pada Medium Cair Wheat Bran dan Wheat Pollard" dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

1. Konsentrasi dedak gandum sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan *wheat pollard*.
2. Lama fermentasi sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang diproduksi oleh *Trichoderma viridae* pada medium cair *wheat bran* dan berpengaruh juga pada medium cair *wheat pollard*.
3. Jenis dedak gandum tidak berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan.
4. Aktifitas enzim selulase tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan A_3B_3 yaitu untuk konsentrasi 10% dengan lama fermentasi 4 hari. Kombinasi perlakuan ini menghasilkan enzim selulase dengan aktifitas 0,00559 unit/ml untuk *wheat bran* dan 0,00421 unit/ml untuk *wheat pollard*.
5. pH dan suhu berpengaruh terhadap aktifitas enzim selulase yang dihasilkan. pH optimum untuk produksi selulase terjadi pada pH 5,0 sedangkan suhu optimum untuk produksi enzim selulase terjadi pada suhu 40^o C.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

1. faktor-faktor yang menghambat aktivitas enzim selulase yang dihasilkan .
2. perpanjangan lama fermentasi sehingga diperoleh aktivitas enzim selulase yang optimal.
3. kandungan protein sebagai dasar untuk mengetahui jumlah enzim selulase yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, 1992. *Cendawan Selulolitik..* Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB, Bogor.
- Alexander, 1977. *Introduction to Soil Microbiology*, 2nd Edition. John Willey & Son's Inc., New York.
- Anonim, 1991. *Warta Bogasari (Pasta) no 15 th II.* Jakarta.
- Anonim, 1999. *Warta Bogasari (Bogasari Baru Menuju Milenium Baru) no. 37 th X/1999.* Jakarta.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton, 1987. *Ilmu Pangan. Terjemahan Hari Purnomo dan Adiono dari Food Science.* Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bushuk, W, 1986. *Wheat: Chemistry and User.* University of Manoitoba Winnipeg, Canada.
- Chalal, D.S., 1983. *Growth Characteristic of Microorganism in Solid State Fermentation for Upgrading of Protein Values of Lignocelluloses and Cellulase Production.* American Chemical Society.
- Chalal, D.S., 1985. *Solid State fermentation with Trichoderma reesei for Cellulase Production.* Appl. environ. Microbiol., New York.
- Corry, 1982. *Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organism.* Academic Press, London.
- Desrosier, N.W., 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan.* Terjemahan Muchji Muljohardjo dari *The Technology of Food Preservation*, third edition. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Enari, T. M., 1983. *Microbial Cellulases, Microbial Enzyme and Biotechnology.* Applied Science Publis., Nem York.
- Fardiaz, S., 1989. *Mikrobiologi Pangan.* Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB, Bogor.

- Fardiaz, S., 1990. *Mikrobiologi Pengolahan Lanjut*. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan I*, Gramedia, Jakarta.
- Fessenden, R. J. dan J. S. Fessenden, 1997. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Terjemahan Sukmariah Maun, Kasmianti Anas dan Tilda S. Sally dari *Fundamentals of Organic Chemistry*. Bina Rupa Aksara, Jakarta.
- Frazier, W.C. dan D.C. Westhoff, 1981. *Food Microbiology*. Tata McGraw Hill Pub. Co. Ltd, New Delhi.
- Gaspersz, V., 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico, Bandung.
- Ghose, T. K., 1978. *Microbial Technology, Advance in Applied Microbiology*. Academic Press, New York.
- Hefni, M. dan A. Santoso, 1998. *Pemanfaatan Onggok sebagai Media Penghasil Enzim Selulase Menggunakan Kapang Trichoderma viridae*. Departemen Kebudayaan Universitas Jember, Jember.
- Judoamidjojo, R. M., 1990. *Teknologi Fermentasi*. CV Rajawali, Jakarta.
- Judoamidjojo, R.M., E. G Said, L. Hartoto, 1990. *Biokonversi*. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Loveless, A.R 1987. *Prinsip-prinsip Biologi Tumbuhan Untuk Daerah Tropik I*. Terjemahan Kuswata Kartawinata, S. Danimiharja, dan U. Soetisna dari *Principles of Plant Biology for The Tropics*. Gramedia, Jakarta.
- Mandels, M., D. Sternberg dan R.E. Andreotti, 1975. *Enzymatic Hidrolysis Cellulose*. SITRA, Helsinki.
- Mandels, M., 1982. *Cellulases*. *Annuals Reports on Fermentation Process* 5 : 34-44.
- Mangunwidjaja, D. dan A. Suryani, 1994. *Teknologi Bioproses*. Penebar Swadaya, Jakarta.

- Novijanto, N., 1997. *Pengetahuan Bahan bagian Serealia*. Fakultas Teknologi Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian UNEJ, Jember.
- Papavijar, 1985. *Mushrooms and Toolfools*. The Macdonald, New York.
- Papavizas, G.C., 1985. *Trichoderma sp and Gliocladium sp Biology, Ecology and Potential for Biocontrol*. Ann. Rev. Phytopathol, 23 : 2454p
- Pelczar, M.L. dan R.D. Reid, 1974. *Microbiology*. Mcgraw Hill Book Co., New York.
- Pelczar dan Chan, 1986. *Element of Microbiology*. Mcgraw Hill Book Co., New York.
- Rahman, A, 1986. *Teknologi fermentasi*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Shahib, M.N., 1992. *Pemahaman Seluk Beluk Biokimia dan Penerapan Enzim*. PT. Citra Aditya Bakti, Bandung.
- Smith, J.E., 1990. *Prinsip Bioteknologi*. Terjemahan Usman F. Sumo, Bambang Sumantri, dan Agung Subono dari *Biotechnology Principles*. Gramedia, Jakarta.
- Sternberg, D., 1976. *Production of Cellulase by Trichoderma*. J. Technology and Applications.
- Solomons, T.W.G. 1980. *Organic Chemistry*. John Wiley and Sons, New York.
- Suba-Rao, N.S., 1975. *Soil Microorganism and Plant growth*. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, p.176-181.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 1996. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogjakarta.
- Umbreit, W.W., 1962. *Modern Microbiology*. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- Winarno, F.G., 1986. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia, Jakarta.

Winarno, F.G., 1995. *Enzim Pangan*. Gramedia, Jakarta.

Lampiran 1. Hasil Pengamatan Aktivitas Enzim Selulase pada *Wheat Bran* (unit/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ B ₁	0.00061	0.00070	0.00082	0.00213	0.00071
A ₁ B ₂	0.00057	0.00058	0.00064	0.00179	0.00060
A ₁ B ₃	0.00047	0.00060	0.00052	0.00159	0.00053
A ₂ B ₁	0.00090	0.00098	0.00091	0.00279	0.00093
A ₂ B ₂	0.00216	0.00238	0.00169	0.00623	0.00208
A ₂ B ₃	0.00263	0.00244	0.00258	0.00765	0.00255
A ₃ B ₁	0.00170	0.00208	0.00196	0.00574	0.00191
A ₃ B ₂	0.00250	0.00240	0.00258	0.00747	0.00249
A ₃ B ₃	0.00516	0.00571	0.00590	0.01677	0.00559
Jumlah	0.01671	0.01785	0.01759	0.05215	
Rata-rata	0.00186	0.00198	0.00195		0.00193

Keterangan: A Konsentrasi dedak
B Lama fermentasi (hari)

Tabel dua arah konsentrasi *wheat bran* dan lama fermentasi

Perlakuan	B ₁	B ₂	B ₃	Jumlah	Rata-rata
A ₁	0.00213	0.00179	0.00159	0.00550	0.00061
A ₂	0.00279	0.00623	0.00765	0.01666	0.00185
A ₃	0.00574	0.00747	0.01677	0.02999	0.00333
Jumlah	0.01066	0.01550	0.02600	0.05215	
Rata-rata	0.00118	0.00172	0.00289		0.00193

Lampiran 2. Hasil Pengamatan Aktivitas Enzim Selulase pada *Wheat Pollard* (unit/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
A ₁ B ₁	0.00074	0.00083	0.00067	0.00224	0.00075
A ₁ B ₂	0.00115	0.00098	0.00126	0.00339	0.00113
A ₁ B ₃	0.00065	0.00078	0.00048	0.00191	0.00064
A ₂ B ₁	0.00177	0.00133	0.00126	0.00435	0.00145
A ₂ B ₂	0.00168	0.00134	0.00154	0.00456	0.00152
A ₂ B ₃	0.00155	0.00211	0.00162	0.00527	0.00176
A ₃ B ₁	0.00311	0.00241	0.00215	0.00766	0.00255
A ₃ B ₂	0.00432	0.00307	0.00497	0.01236	0.00412
A ₃ B ₃	0.00428	0.00314	0.00519	0.01262	0.00421
Jumlah	0.01924	0.01598	0.01914	0.05436	
Rata-rata	0.00214	0.00178	0.00213		0.00201

Keterangan : A Konsentrasi dedak
 B Lama fermentasi (hari)

Tabel dua arah konsentrasi wheat pollard dan lama fermentasi

Perlakuan	B ₁	B ₂	B ₃	Jumlah	Rata-rata
A ₁	0.00224	0.00339	0.00191	0.00754	0.00084
A ₂	0.00435	0.00456	0.00527	0.01419	0.00158
A ₃	0.00766	0.01236	0.01262	0.03264	0.00363
Jumlah	0.01426	0.02031	0.01980	0.05436	
Rata-rata	0.00158	0.00226	0.00220		0.00201

Lampiran 3. Hasil Pengamatan Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai pH (unit/ml)

a. Wheat Bran

pH	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
4	0.0036570	0.0041440	0.0039710	0.0117720	0.0039240
5	0.0080300	0.0097850	0.0094090	0.0272240	0.0090747
6	0.0062120	0.0061020	0.0062430	0.0185570	0.0061857
7	0.0043160	0.0047230	0.0048950	0.0139340	0.0046447
8	0.0028580	0.0022940	0.0036730	0.0088250	0.0029417
Jumlah	0.0250730	0.0270480	0.0281910	0.0803120	
Rata-rata	0.0050146	0.0054096	0.0056382		0.0053541

b. Wheat Pollard

pH	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
4	0.00660	0.00769	0.00675	0.02103	0.00701
5	0.00750	0.00798	0.00764	0.02312	0.00771
6	0.00443	0.00417	0.00388	0.01248	0.00416
7	0.00228	0.00276	0.00245	0.00749	0.00250
8	0.00131	0.00214	0.00095	0.00439	0.00146
Jumlah	0.02211	0.02474	0.02166	0.06851	
Rata-rata	0.00442	0.00495	0.00433		0.00457

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Suhu (unit/ml)

a. Wheat Bran

Suhu(°C)	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
20	0.0018710	0.0010410	0.0019800	0.0048920	0.0016307
30	0.0069640	0.0075590	0.0068390	0.0213620	0.0071207
40	0.0107600	0.0104700	0.0099100	0.0311400	0.0103800
50	0.0072930	0.0085310	0.0084680	0.0242920	0.0080973
60	0.0070740	0.0079040	0.0077000	0.0226780	0.0075593
70	0.0041120	0.0056950	0.0057580	0.0155650	0.0051883
Jumlah	0.0380740	0.0412000	0.0406550	0.1199290	
Rata-rata	0.0063457	0.0068667	0.0067758		0.0066627

b. Wheat Pollard

Suhu(°C)	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
20	0.0044250	0.0046450	0.0036890	0.0127590	0.0042530
30	0.0095190	0.0082300	0.0115000	0.0292490	0.0097497
40	0.0109400	0.0110400	0.0100700	0.0320500	0.0106833
50	0.0062430	0.0060080	0.0061960	0.0184470	0.0061490
60	0.0026080	0.0026390	0.0029520	0.0081990	0.0027330
70	0.0015420	0.0016360	0.0014330	0.0046110	0.0015370
Jumlah	0.0352770	0.0341980	0.0358400	0.1053150	
Rata-rata	0.0058795	0.0056997	0.0059733		0.0058508