



**HIDROLISIS TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT OLEH  
*Aspergillus niger* DAN *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA  
TUMBUH PROTEIN SEL TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

**SKRIPSI**

Oleh:

**LAILATUL IKHRIMAH  
NIM 121810401025**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**HIDROLISIS TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT OLEH  
*Aspergillus niger* DAN *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA  
TUMBUH PROTEIN SEL TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

**SKRIPSI**

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

oleh

**LAILATUL IKHRIMAH  
NIM 121810401025**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. orang tua tercinta yaitu Ayahanda H. Zuhdi dan Ibunda Hj. Zubaidah atas setiap do'a, perhatian, dukungan, motivasi serta kasih sayang yang tiada henti dan tiada duanya;
2. kakakku Siti Umi Hanik yang terkasih;
3. bapak Kahar Muzakhar yang telah memberikan kepercayaan untuk melaksanakan penelitian dan memberikan bimbingan;
4. semua pahlawan tanpa tanda jasa yang dengan ikhlas telah mendidik dan mengajarkan berbagai ilmu pengetahuan baik secara formal maupun informal;
5. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

**MOTO**

Ya Allah, sesungguhnya aku mohon kepada-Mu ilmu yang bermanfaat, rezeki yang halal, dan amal yang diterima.

(Terjemahan HR. Ibnu Majah (No.925)<sup>1</sup>)



---

<sup>1</sup> Jawas, Yazid bin Abdul Qadir. 2005. Dzikir Pagi dan Petang dan Sesudah Shalat Fardhu Menurut Al-Qura'an dan As-Sunnah yang Shahih. Bogor: Pustaka Imam As-Syafi'i

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Lailatul Ikhrimah

NIM : 121810401025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* Sebagai Media Tumbuh Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*” adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

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

Jember, 27 Desember 2016  
yang menyatakan

Lailatul Ikhrimah  
Nim. 121810401025

**SKRIPSI**

**HIDROLISIS TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT OLEH *Aspergillus niger* DAN *Trichoderma viride* SEBAGAI MEDIA TUMBUH  
PROTEIN SEL TUNGGAL *Saccharomyces cereviceae***

Oleh

LAILATUL IKHRIMAH  
NIM 121810401025

Pembimbing

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

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* Sebagai Media Tumbuh Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

Hari, Tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas  
Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si  
NIP. 196805031994011001

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes  
NIP. 196008161989021001

Anggota II,

Anggota III,

Drs. Siswanto, M.Si  
NIP. 196012161993021001

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini,  
S.Si., M.Si  
NIP. 197209132000032001

Mengesahkan  
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.  
NIP. 196102041987111001



## RINGKASAN

**Tandan Kosong Kelapa Sawit Oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* Sebagai Media Tumbuh Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae*;** Lailatul Ikhrimah, 121810401025; 2016; 36 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah padat yang dihasilkan pada industri pengolahan kelapa sawit. Setiap produksi minyak kelapa sawit akan dihasilkan TKKS sebesar 23%. TKKS mengandung 70-80% sumber karbon, yaitu selulosa 41,3%-46,5%, hemiselulosa 25,3%-32,5% dan lignin 27,6%-32,5% biasa disebut dengan istilah lignoselulosa. Tingginya kandungan lignoselulosa serta rasio C/N menyebabkan TKKS sulit untuk diuraikan dan dimanfaatkan. Kandungan dalam TKKS berpotensi dijadikan produk bermanfaat seperti gula melalui proses hidrolisis enzimatik dari mikroba.

*Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* merupakan jenis mikrob yang termasuk golongan kapang. Kedua spesies ini menghasilkan enzim-enzim pendegradasi turunan dari karbohidrat seperti  $\alpha$ - dan  $\beta$ -galaktosidase,  $\alpha$ - dan  $\beta$ -glukosidase, glukonase, xylanase, endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Penambahan kedua kapang tersebut dalam proses hidrolisis akan menjadi semakin efektif daripada hanya menggunakan salah satu dari keduanya, karena *T. viride* kuat dalam memproduksi enzim selulolitik yaitu endoglukanase dan eksoglukanase yang mana produk utama hidrolisisnya berupa selobiosa bukan glukosa. Sedangkan *A. niger* kuat dalam memproduksi  $\beta$ -glukosidase yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi unit gula sederhana.

Produk hidrolisis ini dapat digunakan sebagai media pertumbuhan Protein Sel Tunggal (PST) yang merupakan sumber protein tinggi yang berasal dari biomassa mikroorganisme dan dapat digunakan sebagai suplemen dalam makanan manusia atau pakan ternak. Salah satu jenis PST yang sedang dikembangkan yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dengan kandungan protein 50%-52% dari berat keringnya. *S. cerevisiae* mampu tumbuh dalam sumber karbon glukosa dan



fruktosa, yang merupakan sumber energi utama dalam metabolisemenya. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan gula reduksi yang dihasilkan dalam proses hidrolisis menggunakan inokulum campuran sehingga hasil hidrolisis mampu digunakan sebagai media pertumbuhan *S. cerevisiae*.

Penelitian ini dilakukan dengan (i) menghidrolisis TKKS menggunakan 4 perlakuan yaitu (1) *A.niger*, (2) *T.viride*, (3) *A.niger* + *T.viride*, dan (4) *T.viride* + *A.niger*, hasil gula reduksi tertinggi digunakan sebagai (ii) media pertumbuhan *S.cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan waktu kemudian dilakukan (iii) penentuan konsumsi gula reduksi dalam media hidrolisat TKKS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gula reduksi tertinggi didapatkan pada perlakuan *T. viride* + *A. niger* yang menghasilkan rata-rata gula reduksi tertinggi yaitu 61.89 µg/ml dibandingkan perlakuan lainnya. Hidrolisis dengan rata-rata gula reduksi tertinggi ini kemudian dipilih sebagai media pertumbuhan *S. cerevisiae*. PST ini mampu tumbuh pada media hidrolisat TKKS dengan pertumbuhan optimum terjadi pada konsentrasi 2x pengenceran yaitu jumlah sel sebesar  $5,8 \times 10^7$  sel/ml selama waktu inkubasi 42 jam. Peningkatan populasi *S. cerevisiae* juga diiringi oleh penurunan jumlah gula reduksi sebesar 60%, hal ini membuktikan bahwa PST *S. cerevisiae* mampu menggunakan gula reduksi dalam media TKKS hasil hidrolisis *A. niger* dan *T. viride*.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* Sebagai Media Tumbuh Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata satu (S1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam;
2. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi atas kemudahan-kemudahan yang telah diberikan;
3. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang dengan ikhlas dan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan, bantuan, dan nasihat kepada penulis sampai skripsi ini terselesaikan;
4. Drs. Siswanto, M.Si., dan Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat konstruktif demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Ayahanda H. Zuhdi, Ibunda Hj. Zubaidah, Kakak Siti Umi Hanik serta seluruh anggota keluarga atas segala dukungan baik moral maupun materiil;
6. rekan kerja di Laboratorium Mikrobiologi Lt.1, Nurul, Ifa, Nenny, Lisa, Putri, Vivta, Reza, Putri Yulia, Kharisna, Antin, Kakak Niar, Kakak Hilma, Kakak Susy, Kakak Anis, Kakak Putri, Kakak Eriani, Kakak Retna dan Kakak Syafiq yang tak pernah henti dan bosan memberikan masukan, kritik, bantuan dan semangat selama melakukan penelitian;

7. sahabat-sahabat Shohibul Masjid Ika, Kiky, Nenny, Lisa, Suvia, Iim, dan Muslimatin. Penghuni “Kost Putri Letter U” Arofah, Farin, Ratih, Yasmin dan Kania. Keluarga “KKN 145” Ilma, Tyas, Jeni, Sabrina, Ayu, Yuri, Kakak Pisky, Fairus dan Kakak Rere. Sahabat Karib Debby, Imam, dan Annisa serta Akang Ja’far. Terima kasih tiada batas atas segala bantuan, do’a, dukungan, semangat yang tak ternilai harganya, tanpa kalian aku bukanlah apa-apa;
8. teknisi Laboratorium Mikrobiologi Ibu Endang yang mengajarkan kesabaran selama penelitian, masukan serta nasehat beliau akan selalu saya ingat.
9. teman-teman Biozva 2012 atas kebersamaan dan seluruh keceriaan selama menimba ilmu bersama di Biologi FMIPA UNEJ;
10. semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis berusaha sebaik mungkin dalam penyusunan naskah skripsi ini, tetapi tidak dapat terlepas dari berbagai kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat konstruktif demi perbaikan naskah ini. Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jember, 27 Desember 2016

Penulis

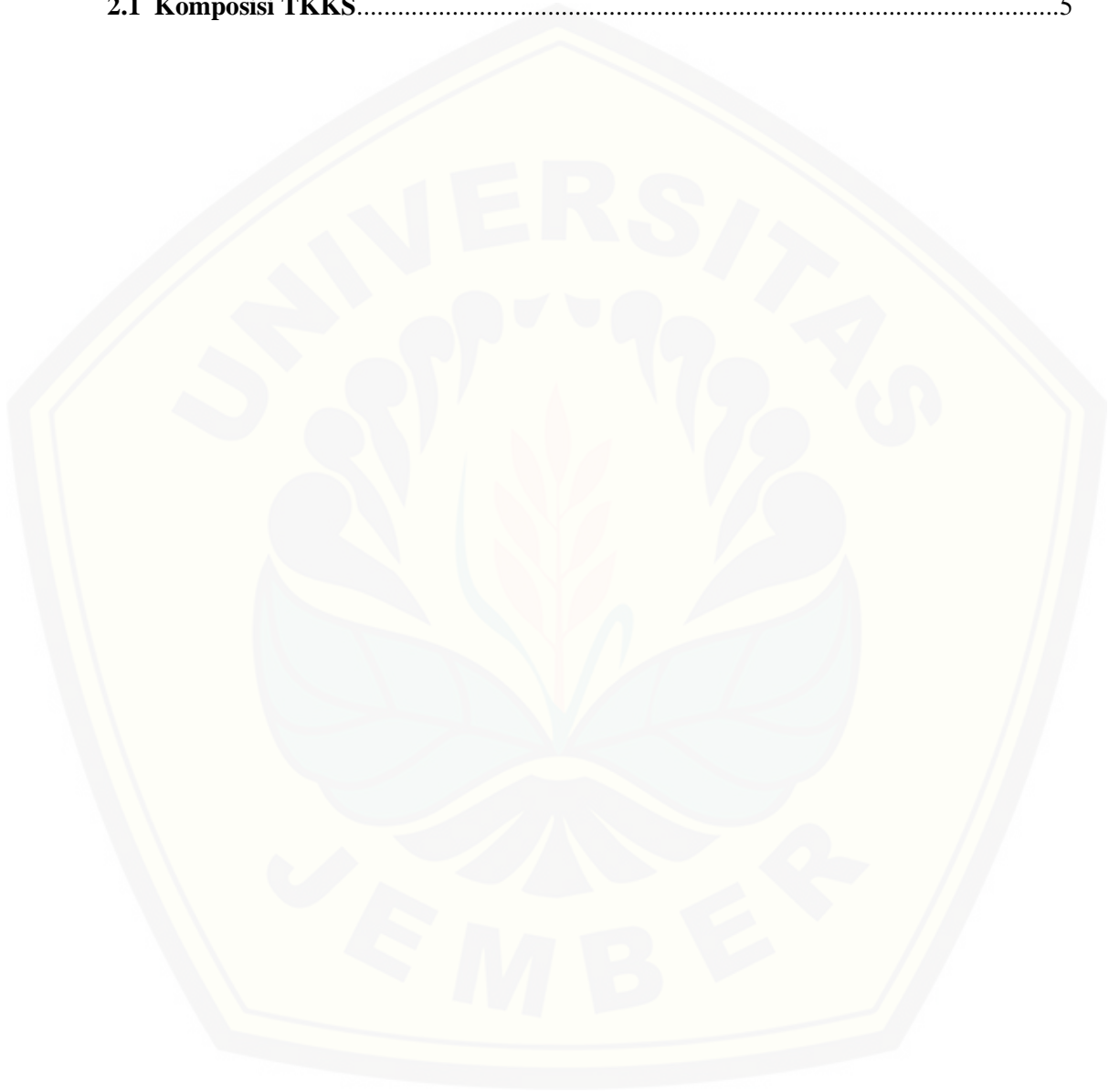
DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PEMBIMBING .....	v
HALAMAN PENGESAHAN .....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Batasan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Tujuan .....</b>	<b>3</b>
<b>1.5 Manfaat .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Hidrolisis Lignoselulosa dan Kapang Selulolitik .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Protein Sel Tunggal <i>Saccharomyces cereviceae</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan .....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>15</b>
3.3.1 Persiapan Penelitian .....	15
3.3.2 Hidrolisis TKKS oleh Kapang <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> .....	17
3.3.3 Pertumbuhan PST <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Media Hasil Hidrolisis TKKS .....	19

3.4 Analisis Data .....	20
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
4.1 Kepadatan Spora <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> .....	21
4.2 Optimasi Hidrolisis TKKS oleh <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> .....	22
4.3 Hidrolisis TKKS oleh <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> .....	23
4.4 Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Pada Media Hirdrolisat TKKS .....	25
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>30</b>
5.1 Kesimpulan .....	30
5.2 Saran .....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>37</b>

**DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
<b>2.1 Komposisi TKKS.....</b>	<b>5</b>





DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
2.1 Tandan Buah Segar dan Tandan Kosong Kelapa Sawit .....	4
2.2 Mekanisme Degradasi Selulosa .....	6
2.3 Makroskopis dan Mikroskopis <i>Aspergillus niger</i> .....	8
2.4 Makroskopis dan Mikroskopis <i>Trichoderma viride</i> .....	9
2.5 Makroskopis dan Mikroskopis <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	11
3.1 Diagram Alir Penelitian .....	14
4.1 Kurva kepadatan spora <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> .....	21
4.2 Kurva Optimasi Hidrolisis TKKS oleh <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> pada media TKKS .....	22
4.3 Grafik rata-rata gula reduksi hidrolisis TKKS inokulum tunggal dan inokulum campuran oleh <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i> . .....	24
4.4 Kurva Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada variasi konsentrasi Hidrolisat TKKS dan Waktu Inkubasi .....	25
4.5 Konsumsi Gula Reduksi oleh <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	27



DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
<b>A. Komposisi Media</b> .....	37
<b>A.1 Komposisi Media PDA</b> .....	37
<b>A.2 Komposisi Media YEPD Agar</b> .....	37
<b>A.3 Komposisi Media YEPD Cair</b> .....	37
<b>B. Komposisi Reagen <i>Somogyi – Nelson</i></b> .....	38
<b>B.1 Reagen <i>Somogyi</i></b> .....	38
<b>B.2 Reagen <i>Nelson</i></b> .....	38
<b>C. Standart Glukosa</b> .....	39
<b>C.1 Tabel Standart Glukosa</b> .....	39
<b>C.2 Kurva Standart Glukosa</b> .....	39
<b>D. Standart Hubungan Populasi Protein Sel Tunggal <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Spektrofotometer dan Haemocytometer</b> .....	40
<b>D.1 Tabel Hubungan Populasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Spektrofotometer dan <i>Haemocytometer</i></b> .....	40
<b>D.2 Kurva Hubungan antara Populasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada Spektrofotometer dan Haemocytometer</b> .....	40
<b>E. Hasil Analisis One Way ANOVA dan Uji Duncan Hidrolisis TKKS oleh <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i></b> .....	41

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah padat yang dihasilkan pada industri pengolahan kelapa sawit. Menurut Ulum & Hariyanto (2014) luas lahan perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2013 yaitu seluas 10,46 juta ha dengan total produksi 27,78 juta ton dan akan terus mengalami peningkatan. Hasil produksi tersebut menghasilkan minyak inti sawit sebesar 45% dan hasil samping produksi yaitu limbah sebesar 55%. Limbah TKKS sendiri menempati urutan terbesar dibandingkan limbah-limbah dari produksi kelapa sawit lainnya sebesar 23% (Elisabeth & Ginting, 2003). Limbah TKKS mengandung 70-80% sumber karbon, yaitu selulosa 41,3%-46,5%, hemiselulosa 25,3%-32,5% dan lignin 27,6%-32,5% yang biasa disebut dengan istilah lignoselulosa (Sunarwan & Juhana, 2013). Tingginya kandungan lignoselulosa serta rasio karbon terhadap nitrogen akan menyebabkan TKKS sulit terurai secara alami dan dimanfaatkan. Saat ini pemanfaatan TKKS masih sebatas penggunaan briket dan mulsa (Adiwirman *et al.*, 2011). Kandungan dalam TKKS berpotensi untuk dijadikan produk bermanfaat seperti gula melalui proses hidrolisis enzimatik dari mikroba (Nguyen, 2010)

*Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* merupakan jenis mikrob yang termasuk golongan kapang (Ingrid & Suharto, 2012). Kedua spesies ini menghasilkan enzim-enzim pendegradasi turunan dari karbohidrat seperti  $\alpha$ - dan  $\beta$ -galaktosidase,  $\alpha$ - dan  $\beta$ -glukosidase, glukukanase, xylanase (Bahl & Agrawal, 1969), endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase (Beldman *et al.*, 1985). Menurut Juliastuti *et al.* (2008) penambahan kedua kapang tersebut dalam proses hidrolisis akan menjadi semakin efektif daripada hanya menggunakan salah satu dari keduanya, karena *T. viride* kuat dalam memproduksi enzim selulolitik yaitu endoglukanase dan eksoglukanase yang mana produk utama hidrolisisnya berupa selobiosa bukan glukosa. Sedangkan *A. niger* kuat dalam memproduksi  $\beta$ -

glukosidase yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi unit-unit gula sederhana (Anwar *et al.*, 2010).

Produk hidrolisis ini dapat digunakan sebagai media pertumbuhan Protein Sel Tunggal (PST) yang merupakan sumber protein tinggi, berasal dari biomassa mikroba dan dapat digunakan sebagai suplemen dalam makanan manusia atau pakan ternak (Nasseri *et al.*, 2011). Mikrob ini meliputi fungi, yeast, bakteri, dan mikroalga. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis PST yang saat ini sedang dikembangkan karena kandungan proteinnya yang tinggi yaitu 50% - 52% dari berat keringnya, PST *S. cerevisiae* juga mengandung nutrisi yang dibutuhkan tubuh antara lain lemak, karbohidrat dan vitamin serta rendahnya kandungan asam nukleat dalam *S. cerevisiae* membuat PST ini mudah dicerna apabila dikonsumsi (Reed & Nagodawithana, 1991). *S. cerevisiae* dalam pertumbuhan dan perkembangbiakannya membutuhkan karbon dalam bentuk fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi utama dalam metabolismenya (Anjarsari & Effendi, 2005) dan juga memerlukan unsur-unsur seperti C, H, O, N, S, P, K dan berbagai mineral seperti Fe, Mg, Na dan Mn (Purwitasari *et al.*, 2004). Oleh karena itu, untuk mengoptimalkan pemanfaatan limbah padat TKKS perlu dilakukan hidrolisis terlebih dahulu oleh *A. niger* dan *T. viride* dan selanjutnya digunakan sebagai media tumbuh bagi PST *S. cerevisiae*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- a. Apakah penggunaan inokulum campuran *A. niger* dan *T. viride* mampu meningkatkan gula reduksi pada proses hidrolisis TKKS dibandingkan dengan inokulum tunggalnya?
- b. Apakah hasil hidrolisis TKKS oleh kapang *A. niger* dan *T. viride* dapat digunakan untuk media tumbuh PST *S. cerevisiae*?

### 1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada hasil hidrolisis TKKS oleh inokulum campuran maupun inokulum tunggal *A.niger* dan *T.viride* yang memiliki gula reduksi tertinggi digunakan sebagai media tumbuh PST *S.cerevisiae* dengan penentuan parameter pertumbuhan meliputi konsentrasi dan waktu optimum.

### 1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- a. Mengetahui kemampuan inokulum campuran *A. niger* dan *T. viride* dalam meningkatkan gula reduksi pada hidrolisis TKKS dibandingann dengan inokulum tunggalnya;
- b. Mengetahui kemampuan pertumbuhan PST *S. cerevisiae* pada media TKKS hasil hidrolisis kapang *A. niger* dan *T. viride*.

### 1.5 Manfaat

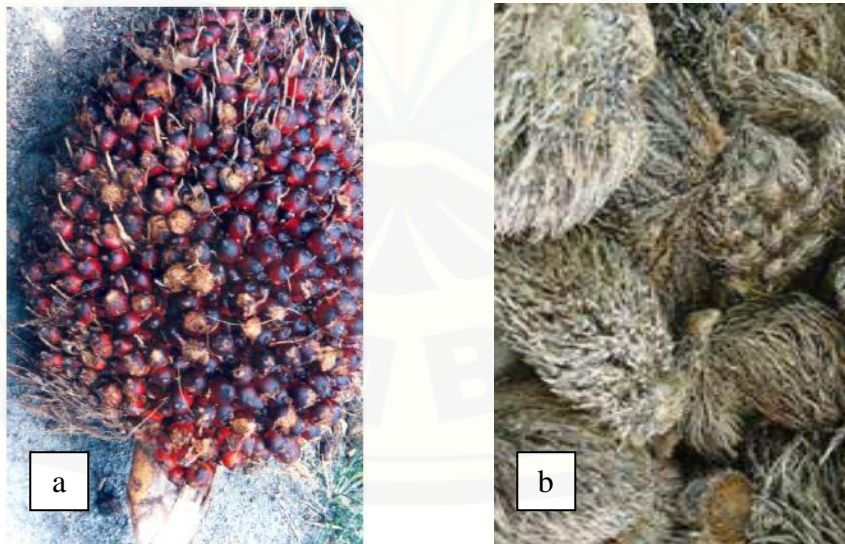
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk meningkatkan nilai guna dari limbah TKKS yaitu sebagai media untuk produksi PST *S. cereviceae*.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Tanaman kelapa sawit merupakan salah satu dari beberapa palmae yang menghasilkan minyak sebagai bahan industri pangan, industri baja dan bahan bakar alternatif. Bagian kelapa sawit yang memiliki nilai ekonomi tinggi ialah buahnya yang tersusun dalam sebuah tandan yang disebut Tandan Buah Segar (TBS) (Frey, 2013). Setelah proses perontokan buah dari tandan, maka akan dihasilkan limbah padat yang disebut Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Setiap produksi 1 ton buah maka akan menghasilkan limbah TKKS sebesar 23% atau 230 kg (Elisabeth & Ginting, 2003). Tercatat pada tahun 2013 total produksi buah kelapa sawit mencapai 27,78 juta ton dan akan menghasilkan limbah TKKS berkisar 6,21 juta ton (Ulum & Hariyanto, 2014), sebuah angka yang tinggi untuk menciptakan masalah lingkungan dengan pemanfaatan yang masih terbatas.



Gambar 2.1 a) Tandan Buah Segar dan b) Tandan Kosong Kelapa Sawit (Law *et al.*, 2007)

TKKS didominasi berbagai macam serat yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin serta memiliki C/N yang tinggi antara 70-100, sehingga secara alami

TKKS merupakan bahan yang sulit untuk terdekomposisi. Rata-rata dekomposisi TKKS dilapangan memerlukan waktu yang cukup lama yaitu antara 6-12 bulan (Wahyuni, 2008). Komposisi TKKS yaitu berupa serat seperti terlihat pada tabel 2.1 (Sunarwan & Juhana, 2013) dan juga mengandung beberapa unsur hara yaitu N, P, K, Mg, Ca, Cl, B, Cu, Zn dan Mn (Loekito, 2002).

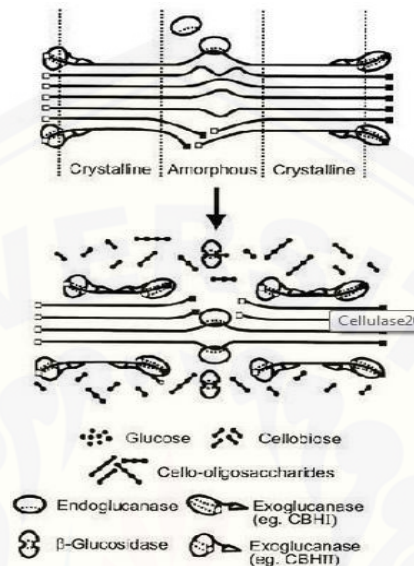
Tabel 2.1 Komposisi TKKS

No.	Komponen	Jumlah (%)
1.	Selulosa	41,3 - 46,5
2.	Hemiselulosa	25,3 – 32,5
3.	Lignin	27,6 – 32,5

(Sunarwan & Juhana, 2013)

Komposisi serat selulosa, hemiselulosa dan lignin yang ditemukan di alam biasa disebut dengan istilah lignoselulosa dengan perbandingan 4:3:3 (Sitorus, 2011). Selulosa yang terdapat dalam tumbuhan berfungsi sebagai pembentuk dinding sel. Selulosa merupakan polimer yang tersusun atas unit monomer D-glukosa dalam rantai lurus dengan jumlah kurang lebih 10000 unit dan berikatan dengan  $\beta$ -1-4-glikosidik yang akan berkonformasi seperti pita panjang (Pérez, *et al.*, 2002). Selulosa memiliki gugus fungsional berupa gugus hidroksil (-OH), yang mana gugus ini dapat berinteraksi dengan gugus lain seperti gugus -O, -N, dan -S yang akan membentuk ikatan hidrogen (Sitorus, 2011). Ikatan hidrogen pada struktur selulosa ini memiliki 2 jenis, yaitu ikatan hidrogen intramolekuler dan ikatan hidrogen intermolekuler yang mana kedua jenis ikatan hidrogen ini memiliki fungsi masing-masing. Ikatan hidrogen intramolekuler berfungsi mempertahankan kekuatan pada rantai selulosa, sedangkan ikatan hidrogen intermolekuler berfungsi agar rantai selulosa saling berikatan membentuk suatu mikrofibril (Nguyen, 2010). Mikrofibril yang terbentuk ini akan sangat terkristal sehingga tersusun secara kuat untuk mencegah penetrasi dari molekul enzim dan molekul yang lebih kecil seperti air. Namun, tidak semua bagian pada struktur selulosa dalam bentuk kristalin, terdapat beberapa bagian

yang strukturnya lebih renggang dan sangat mudah bereaksi disebut dengan amorf (Sitorus, 2011)



Gambar 2.2 Mekanisme degradasi Selulosa (Nguyen, 2010)

Struktur selulosa dapat dihidrolisis menggunakan enzim, yaitu selulase. Enzim ini mengkatalis hidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dari selulosa. Menurut Nguyen (2010) terdapat tiga jenis umum selulase yang berkolaborasi untuk memecah selulosa:

1. Endo- $\beta$ -1,4-glukanase untuk menghidrolisis ikatan 1,4- $\beta$ -D-glikosidik, membentuk glukosa dan selo-oligosakarida pada daerah amorf
2. Ekso- $\beta$ -1,4-glukanase untuk menghidrolisis ikatan 1,4- $\beta$ -D-glikosidik yang mengakses pada ujung daerah kristalin dan memotong dua sampai empat unit untuk membentuk selobiosa
3. B-glukosidase untuk menghidrolisis selobiosa dan menjadikan unit D-glukosa.

Berbeda dengan selulosa, hemiselulosa terdiri dari berbagai unit glukosa yaitu D-xyloza, D-manosa, D-galaktosa, D-glukosa, L-arabinosa, 4-O-metil glukuronat, D-galakturonik dan asam D-glukoronat. Berat molekul polisakarida ini lebih rendah dibandingkan dengan selulosa (Pérez *et al.*, 2002). Hemiselulosa dapat larut dalam alkali tetapi sukar larut dalam asam. Proses hidrolisis



hemiselulosa juga lebih dahulu dibandingkan selulosa dikarenakan rantai molekul hemiselulosa yang lebih pendek dan bercabang (Nurhayati, 2008). Hemiselulosa ini bersatu dengan selulosa dengan mengikat lembaran serat selulosa membentuk mikrofibril yang meningkatkan stabilitas dinding sel. Selain itu hemiselulosa juga berikatan silang dengan lignin membentuk jaringan kompleks dan memberikan struktur yang kuat (Hadrawi, 2014).

Sedangkan lignin pada dasarnya merupakan suatu fenolik yang tersusun atas polimer amorf yang terdiri dari unit-unit fenilpropena dan tidak larut dalam air (Pérez *et al.*, 2002). Tetapi di alam ditemukan sebagai bagian dari dinding sel tanaman bersama selulosa dan hemiselulosa. Kandungan lignin yaitu hidrogen, oksigen dan karbon dengan proporsi karbonnya lebih tinggi dibandingkan karbohidrat sehingga dapat lebih resisten terhadap hidrolisis. Lignin pada tumbuhan berfungsi sebagai pengikat bagi komponen lainnya, sehingga dapat membentuk struktur yang kuat (Hadrawi, 2014).

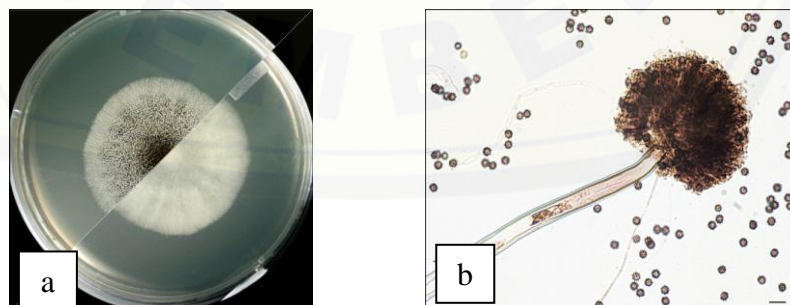
Komponen-komponen dalam TKKS ini berpotensi untuk dijadikan produk bermanfaat seperti gula dari proses fermentasi. Beberapa penelitian tentang TKKS melaporkan bahwa metode yang biasa digunakan yaitu dengan hidrolisis enzimatik dari mikroba. Metode ini mengubah biomassa selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa. Hidrolisis enzimatik memiliki keunggulan yaitu menghindari masalah asam dan daur ulang pelarut dan tidak ada produk degradasi beracun yang dihasilkan. Selain itu, metode ini sangat ramah lingkungan dan dianggap paling menjanjikan (Nguyen, 2010).

## 2.2 Hidrolisis Lignoselulosa dan Kapang Selulolitik

Biomassa lignoselulosa di alam seperti limbah sisa tanaman atau hewan, limbah perkebunan maupun residu pertanian merupakan sumber glukosa yang potensial, salah satunya ialah TKKS. Kandungan lignoselulosa yang cukup tinggi menyebabkan TKKS sulit untuk terurai secara alami. Sehingga diperlukan metode hidrolisis terlebih dahulu pada substrat TKKS. Menurut Richana *et al.* (2015) terdapat tiga macam metode hidrolisis, yaitu secara kimia, fisika dan biologi (enzimatis). Pada penelitian ini menggunakan metode enzimatik dengan kapang

*A. niger* dan *T. viride* melalui fermentasi padat. Fermentasi padat adalah proses pemecahan senyawa organik oleh mikroba tertentu yang terjadi pada substrat berbentuk padat atau tanpa adanya air bebas. Sehingga substrat yang digunakan berfungsi sebagai sumber karbon maupun energi (Pandey *et al.*, 1999). Proses fermentasi padat ini memiliki beberapa keuntungan jika dibandingkan dengan fermentasi cair, yaitu mengurangi kontaminasi karena kelembaban yang rendah, tidak memerlukan tangki pembibitan mikroba dan hanya menggunakan inokulum dari spora mikroba yang diperlukan saja sehingga menjadi lebih sederhana, dan kondisi pertumbuhan mikroba sama dengan kondisi di habitat alami.

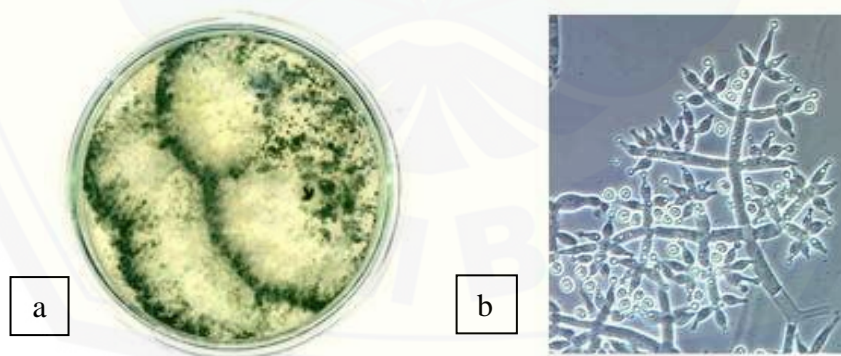
*A. niger* merupakan kapang dari Kelas Ascomycetes (D'Halewyn & Chevalier, 2012) yang memiliki ciri-ciri makroskopis yaitu koloni bermiselia putih tetapi dengan cepat berubah menjadi hitam pada bagian dorsal dan pada bagian ventral berwarna putih pucat kuning serta memiliki garis radial, sedangkan untuk ciri-ciri mikroskopis yaitu memiliki hifa bersekat dan hialin, dengan konidiofor yang panjang, vesikel yang memiliki metulae, phialid, dan konidia yang berbentuk subglobose (Verweij, 2007). Spesies ini salah satu dari genus *Aspergillus* yang kosmopolitan terutama di sampah dan tanah, pertumbuhan optimalnya pada suhu 20-40<sup>0</sup>C sehingga termasuk kedalam golongan mesofilik. *A. niger* merupakan kapang yang bersifat aerobik, sehingga membutuhkan kandungan oksigen yang cukup dalam pertumbuhannya, dan juga aW (Activity Water) yang dipakai spesies ini cukup rendah yaitu 0,77 (D'Halewyn & Chevalier, 2012).



Gambar 2.3 (a). Makroskopis dan (b). Mikroskopis *Aspergillus niger* (D'Halewyn & Chevalier, 2012)

Penelitian-penelitian tentang produksi dan potensi enzim yang dihasilkan oleh *A. niger* sudah banyak dilakukan. Menurut Muchtar (2013) *A. niger* menghasilkan 23 jenis enzim ekstraseluler yang telah teridentifikasi, terutama enzim-enzim pendegradasi turunan dari karbohidrat seperti  $\alpha$ - dan  $\beta$ -galaktosidase,  $\alpha$ - dan  $\beta$ -glukosidase, glukonase, xylosidase, xylanase dan lain-lain (Bahl & Agrawal, 1969). Enzim-enzim ini digunakan untuk memecah molekul kompleks yang berada didalam media atau substrat dari *A. niger* dan selanjutnya dimanfaatkan untuk aktivitas transport molekul, pemeliharaan struktur sel dan mobilitas sel (Muchtar, 2013). Enzim-enzim tersebut telah banyak digunakan dalam perindustrian baik dalam bioteknologi lingkungan maupun makanan.

Sedangkan *T. viride* merupakan kelompok kapang yang termasuk dalam kelas Deutromycetes (Shah *et al.*, 2012). Tingkat pertumbuhan koloni spesies ini sangat cepat dan sangat kompak dengan miselia berwarna putih yang dengan cepat berubah sampai kehijauan (Mehta *et al.*, 2012) bentuk konidia bulat dengan konidiofor tidak teratur, dan phialid cenderung ramping, radius koloni 11 – 33 mm. Pertumbuhan optimum *T. viride* antara suhu 20 – 32 °C dan dengan pH 4,5 – 5,5 (Lieckfeldt *et al.*, 1999). Spesies ini termasuk dalam spesies kosmopolitan, mereka biasa ditemukan di kayu, kertas, dan tanah.



Gambar 2 4 (a). Makroskopis dan (b). Mikroskopis *Trichoderma viride* (Neethu *et al.*, 2012)

*T. viride* juga merupakan salah satu mikroba yang menghasilkan enzim selulase seperti endoglukanase, eksoglukanase, dan  $\beta$ -glukosidase (Neethu *et al.*, 2012). Tetapi selain enzim selulosa, kapang ini juga menghasilkan beberapa enzim lain seperti amilase, selobiase, dan protease (Beldman *et al.*, 1985).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Juliastuti *et al.* (2008) pada TKKS bahwa penambahan *A. niger* dan *T. viride* dapat menurunkan kadar hemiselulosa sebesar 16,209% dan kadar selulosa sebesar 13,328%. Penurunan ini dikarenakan kedua kapang tersebut dapat menguraikan hemiselulosa dan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana contohnya glukosa pada TKKS. *T. viride* kuat dalam memproduksi enzim selulolitik yaitu endoglukanase dan eksoglukanase yang mana produk utama hidrolisisnya berupa selobiosa bukan glukosa (Juliastuti *et al.*, 2008). Sedangkan *A. niger* kuat dalam memproduksi  $\beta$ -glukosidase yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi unit-unit glukosa (Anwar *et al.*, 2010).

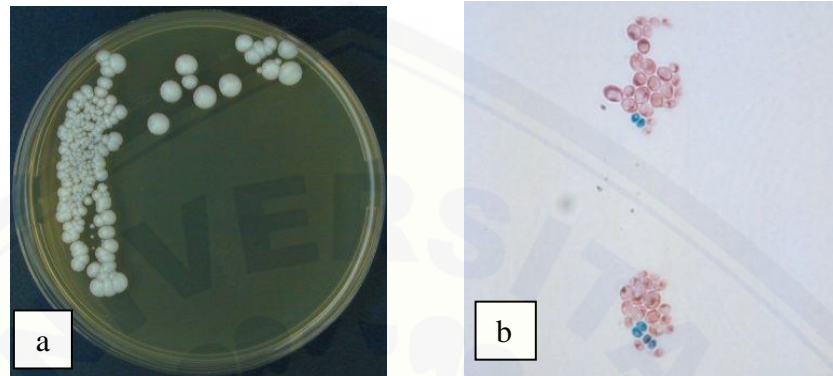
### 2.3 Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cereviceae*

Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari gugus asam amino dengan berat molekul yang tinggi. Meningkatnya defisiensi protein menjadi masalah bagi manusia, karena pentingnya peran dari makromolekul ini untuk metabolisme tubuh. Tahun 1996, ditemukan sumber protein baru yang berasal dari mikrob dengan julukan Protein Sel Tunggal (PST) (Nasseri *et al.*, 2011). Kelompok mikrob tersebut yaitu, yeast, fungi, bakteri, dan mikroalga yang merupakan organisme bersel tunggal. Penggunaan mikrob ini memiliki beberapa kelebihan yaitu, yang pertama pertumbuhan dan produksi yang lebih cepat daripada hewan dan tumbuhan karena tidak tergantung pada pertanian dan musim panen kemudian yang kedua, bahan yang digunakan untuk substrat atau media pertumbuhan lebih luas dan tergantung pada mikroba yang dipilih (Adedayo *et al.*, 2011). Kandungan dalam PST juga tidak hanya protein tertentu, tetapi juga mengandung karbohidrat, lemak, vitamin, mineral dan nutrient lainnya (Purwitasari *et al.*, 2004).

Salah satu mikrob PST yang sedang dikembangkan ialah *S. cerevisiae*, yang termasuk ke dalam Yeast dengan kelompok Ascomycota. Menurut Nasseri *et al.*, (2011) kelompok mikroba Yeast cocok untuk produksi protein sel tunggal karena memiliki rata-rata kualitas gizi yang baik yaitu dengan kandungan protein 45-55%, lemak 2-6%, asam nukleat 6-12%, dan abu 5-10% dalam berat kering. *S. cerevisiae* merupakan organisme eukariotik, karakteristik dari spesies ini yaitu,



berbentuk bulat sampai elips dengan struktur menyerupai blastokonidia berukuran lebar 1-5  $\mu\text{m}$  dan panjang 5-30  $\mu\text{m}$  (Guimarães *et al.*, 2006). Secara makroskopis, *S. cerevisiae* memiliki koloni berbentuk bulat, permukaan berkilau, licin dan berwarna kuning-hijau (Reis *et al.*, 2013).



Gambar 2. 5 (a). Makroskopis dan (b). Mikroskopis *Saccharomyces cerevisiae* (Aalbaek, 2011)

*S. cerevisiae* memiliki persebaran yang luas, di alam spesies ini ditemukan pada buah-buahan, biji-bijian, permukaan tanaman, permukaan tubuh serangga, kulit binatang, dan tanah (Mahreni & Suhenry, 2011). Spesies ini berkembang biak dengan cara berkecambah (budding) dan mampu tumbuh pada kondisi lingkungan asam yaitu pH 3.5 – 5.5 serta pertumbuhan optimum pada suhu 25<sup>0</sup>C - 30<sup>0</sup>C (Pawignya, 2011). PST *S. cerevisiae* banyak dimanfaatkan dalam perindustrian karena memiliki kualitas kandungan protein 50-52% berat kering (Reed & Nagodawithana, 1991), melebihi sumber protein yang umum digunakan yaitu kedelai (35%), kacang (25%), dan biji-bijian (10%) (Habib *et al.*, 2008). Selain itu spesies ini juga mengandung lemak 4-5%, karbohidrat 30-37%, dan mineral 7-8% (Reed & Nagodawithana, 1991) serta mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks (Purwitasari *et al.*, 2004). Rendahnya kandungan asam nukleat dalam *S. cerevisiae* membuat PST ini mudah dicerna apabila dikonsumsi. Berdasarkan kualitas kandungan dan kemampuan dari PST tersebut, telah dilakukan beberapa penelitian untuk memproduksi *S. cerevisiae* dari berbagai media limbah, antara lain menggunakan limbah cair tahu (Widanti & Susilawati, 2008), limbah nanas (Pawignya, 2011), dan limbah kulit singkong (Parida, 2015). *S. cerevisiae* mampu tumbuh dalam sumber karbon glukosa dan

fruktosa, yang merupakan sumber energi utama dalam metabolismenya (Anjarsari & Effendi, 2005). Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Purwitasari *et al.*, 2004) *S. cerevisiae* juga memerlukan unsur-unsur lain seperti H, O, N, S, P, K dan berbagai mineral seperti Fe, Mg, Na dan Mn dalam pertumbuhan dan perkembangbiakannya.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

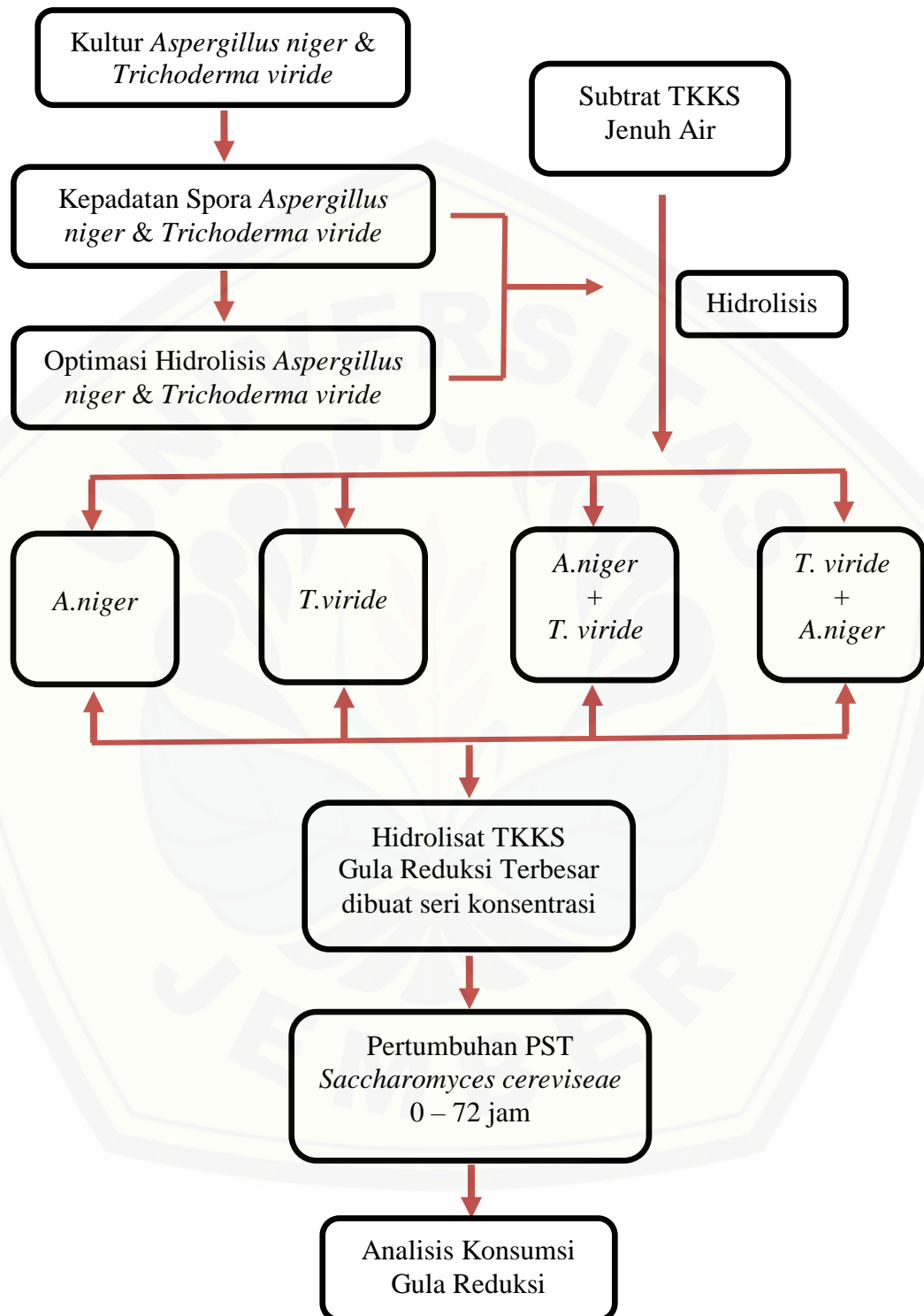
Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Februari sampai November 2016 dan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

### 3.2 Alat dan Bahan

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

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS), akuades, Isolat *A. niger* B10 MCC-00135-1 dan isolat *T. viride* B10 MCC-00136 serta isolat *S. cerevisiae* ATCC-91763 yang diperoleh dari Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Tangerang Selatan, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media YEPD (*Yeast Extract Pepton Dextrose*), Reagen *Somogyi-Nelson*, alkohol 70%, kapas, kertas dorslag, tisu, kertas saring whatman no 1 ukuran 1x6 cm, glukosa *anhidrat*, aquades, dan kertas label.





Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri atas tiga tahapan yaitu, persiapan bahan penelitian, fermentasi padat substrat TKKS oleh *A. niger* dan *T. viride*, dan produksi Protein Sel Tunggal *S. cereviceae*.

#### 3.3.1 Persiapan Penelitian

- a. Peremajaan Isolat *A. niger* B10 MCC-00135-1 dan *T. viride* B10 MCC-00136

Peremajaan *A. niger* dan *T. viride* dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat ke dalam 5 ml media PDA miring, selanjutnya isolat diinkubasi 72 jam 30<sup>0</sup>C yang digunakan sebagai stok isolat kapang.

- b. Peremajaan *S. cerevisiae* ATCC-91763

Peremajaan *S. cerevisiae* dilakukan dengan menginokulasi satu ose isolat kedalam 5 ml media YEPD, selanjutnya isolat diinkubasi 24 jam 30<sup>0</sup>C yang digunakan sebagai stok isolat PST.

- c. Penentuan Kadar Air dan Pembuatan Substrat TKKS Jenuh Air

TKKS kasar ditimbang sebanyak 5 gram yang kemudian dimasukkan kedalam kantong bertali atau kantong teh dan direndam didalam aquades selama 30 menit. Kantong yang berisi TKKS digantung hingga air tidak menetes lagi kemudian ditimbang untuk mengetahui berat basahnya. Selanjutnya TKKS dioven pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 6 jam dan ditimbang, kemudian dioven kembali pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 6 jam dan ditimbang, sampai hasil yang didapatkan konstan untuk mengetahui berat kering. Selisih antara berat basah dan berat kering merupakan kadar air pada TKKS

Setelah diketahui kadar air, maka selanjutnya digunakan untuk membuat substrat TKKS jenuh air dengan cara sebanyak 50 gram substrat TKKS kasar yang telah dicuci, pencucian ini upaya dalam menghilangkan gula reduksi yang ada pada TKKS sebelum dihidrolisis. Selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml yang kemudian ditambahkan air sesuai kadar air yang telah dihitung.

Selanjutnya dilakukan sterilisasi pada substrat tersebut menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit.

d. Pembuatan Reagen *Somogyi* dan *Nelson*

Reagen *Somogyi* dibuat menggunakan empat jenis larutan, yaitu larutan A, B, C, dan D. Larutan A berisi 24g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  yang dilarutkan dalam 240 ml aquades kemudian ditambahkan 12g  $\text{C}_4\text{H}_4\text{KN}_a\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Sedangkan larutan B berisi  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  10% yang dilarutkan dalam 40 ml aquades kemudian ditambahkan 16g  $\text{NaHCO}_3$ . Kedua larutan tersebut kemudian dicampur dan disebut sebagai larutan C. Kemudian dibuat larutan D yang berisi 180g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  yang dilarutkan sedikit demi sedikit kedalam 300 ml aquades diatas *hote plate* sampai mendidih. Kemudian larutan C dan larutan D dilarutkan hingga homogen dan ditambah aquades hingga volume total 1000 ml. Selanjutnya diinkubasi 7 hari  $37^{\circ}\text{C}$  dalam botol gelap dan disimpan pada suhu ruang.

Sedangkan untuk reagen *Nelson* dilakukan dengan membuat dua jenis larutan yaitu larutan A dan B. Larutan A berisi 500 ml aquades mengandung 10%  $(\text{NH}_4)\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  dan ditambah 46 ml asam sulfuric acid dan Larutan B yaitu, 6g  $\text{NaHASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 25 ml aquades. Kemudian kedua jenis larutan dicampur dan ditambah aquades hingga volume total 1000 ml. Selanjutnya larutan diinkubasi 24 jam  $37^{\circ}\text{C}$  dalam botol ruang dan disimpan pada suhu ruang.

e. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Sebanyak 0.01 g glukosa dilarutkan dalam air hingga 100 ml. Perlakuan ini merupakan larutan standart dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Kurva standart ini menggunakan pengenceran dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , kemudian ditambah 0.5 ml reagen *Somogyi* pada masing-masing tabung dan dipanaskan pada penangas air selama 15 menit. Kemudian didinginkan dan ditambah 0.5 ml reagen *Nelson* dan 2.5 ml aquades. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Kurva standart dibuat dengan membuat grafik hubungan antara kadar glukosa dengan absorbansi gula reduksi hasil hidrolisis.

- f. Pembuatan Kurva Standart Hubungan Jumlah Populasi PST *S. cerevisiae* pada Spektrofotometer dan Haemocytometer

Koloni tunggal *S. cerevisiae* sebanyak 1 ose diinokulasikan pada 20 ml media YEPD cair kemudian dilakukan shaker 120 rpm, 72 jam sampai kultur menjadi keruh. Selanjutnya dari kultur *S. cerevisiae* dilakukan 5 seri pengenceran yaitu 1x, 2x, 3x, 4x, dan 5x yang kemudian setiap seri pengenceran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm dengan 3 kali ulangan dan dilanjutkan menghitung populasi *S. cerevisiae* dengan menggunakan *haemocytometer*. Perhitungan populasi PST pada *haemocytometer* dilakukan dengan menghitung sel pada 25 kotak sedang dengan 3 kali ulangan.

### 3.3.2 Hidrolisis TKKS oleh Kapang *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*

- a. Penentuan Kepadatan Spora *A. niger* dan *T. viride*

Sebanyak 1 ose isolat kapang berumur 3 hari diinokulasikan pada 7 tabung media PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C. Perhitungan kepadatan spora dilakukan setiap 24 jam selama 7 hari dengan cara isolat yang ditumbuhkan ditambah 1 ml aquades steril kemudian dikerik secara merata. Kemudian suspensi spora ditambahkan 9 ml aquades steril (pengenceran 10 kali), dan dihitung jumlah spora menggunakan *haemocytometer*. Perhitungan kepadatan spora ini bertujuan untuk mengetahui jumlah spora dan waktu terbaik yang akan digunakan sebagai inokulum dalam menghidrolisis substrat berlignoselulitik. Menurut (Ibrahim *et al.*, 2012) umumnya jumlah inokulum yang baik dalam menghidrolisis yaitu 10<sup>6</sup> – 10<sup>8</sup> sel/ml.

- b. Optimasi Hidrolisis TKKS oleh Kapang *A. niger* dan *T. viride*

Optimasi hidrolisis ini dilakukan guna mengetahui waktu terbaik yang dibutuhkan kapang dalam menghasilkan gula reduksi. Optimasi ini dilakukan dengan menginokulasikan 1 ml suspeni *A. niger* dan *T. viride* yang telah diinkubasi sesuai dengan waktu inkubasi kepadatan spora pada 10 gr substrat TKKS. Kemudian diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 7 hari dengan pemanenan gula reduksi setiap hari mulai hari ke-1 sampai hari ke-6. Hidrolisat yang

didapatkan kemudian dianalisis gula reduksi menggunakan *Somogyi-Nelson*. Kemudian hasil gula reduksi yang diperoleh dibandingkan dengan kurva standart glukosa yang telah dibuat sebelumnya.

c. Hidrolisis TKKS oleh kapang *A. niger* dan *T. viride*

Sebanyak 50 gram substrat TKKS jenuh air steril diinokulasi dengan masing-masing perlakuan kapang yaitu (1) *A. niger*, (2) *T. viride*, (3) *A. niger* + *T. viride*, dan (4) *T. viride* + *A. niger* yang selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi terbaik yang telah dilakukan sebelumnya pada optimasi hidrolisis TKKS. Perlakuan ke-3 dan ke-4 yaitu perlakuan dengan dua isolat ini tidak dilakukan penambahan kapang secara bersamaan, tetapi satu persatu yaitu inokulasikan kapang pertama kemudian diinkubasi pada waktu inkubasi terbaik selanjutnya substrat disterilisasi menggunakan *autoclave*, selanjutnya diinokulasikan dengan kapang kedua kemudian diinkubasi pada waktu inkubasi terbaik. Setelah itu dilakukan pemanenan hidrolisat hasil hidrolisis. Fungsi dari sterilisasi pada perlakuan dua isolat yaitu untuk membunuh isolat yang sebelumnya telah diinokulasikan, karena *T. viride* digunakan sebagai agen pengendali hayati dan kapang ini mampu menghambat pertumbuhan dari *A. niger* indigenous pada akar kacang tanah (Gajera *et al.*, 2011).

d. Pemanenan Hidrolisat Hasil Hidrolisis TKKS

Pemanenan dilakukan menggunakan penambahan aquades kedalam hidrolisat dengan perbandingan 1:4. Kemudian, dilakukan shaker selama 6 jam untuk menghomogenkan. Selanjutnya difiltrasi menggunakan kaca Buchner filter corong hingga diperoleh hidrolisat hasil fermentasi TKKS. Hidrolisat tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan filtrat dari pelet yang masih tersisa, kemudian difilter menggunakan pore filter.

e. Penentuan Gula Reduksi Hidrolisat TKKS

Sebanyak 0.5 ml hidrolisat ditambah 0,5 ml reagen *Somogyi* yang berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik dan kemudian dididihkan pada penangas air selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan 0,5 ml reagen *Nelson* yang berfungsi untuk mengikat gula reduksi hasil hidrolisis substrat. Selanjutnya



ditambahkan 2,5 ml aquades dan diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm. Data absorbansi diplot pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standart glukosa yang nantinya dibandingkan dengan larutan standar glukosa.

### 3.3.3 Pertumbuhan PST *Saccharomyces cerevisiae* pada Media Hasil Hidrolisis TKKS

#### a. Penentuan Konsentrasi Hidrolisat TKKS dan Waktu Optimum Pertumbuhan PST *S. cerevisiae*

Koloni tunggal *S. cerevisiae* sebanyak 1 ose diinokulasikan pada 20 ml media YEPD cair kemudian diinkubasi shaker 120 rpm, 72 jam sampai kultur menjadi keruh. Selanjutnya sebanyak 100 µl dari kultur diinokulasikan pada hidrolisat TKKS ditambahkan pepton sebesar 0.25% dengan variasi konsentrasi yaitu 0x dan 2x pengenceran dengan 2 kali ulangan, menurut penelitian (Barokah, 2016) pertumbuhan *S. cerevisiae* tertinggi terdapat pada konsentrasi 0x pengenceran dan 2x pengenceran pada hidrolisat bungkil biji jarak pagar. Kultur *S. cerevisiae* pada hidrolisat TKKS diinkubasi shaker 120 rpm, 72 jam dan setiap interval waktu 6 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 500 µl yang akan digunakan untuk pengukuran jumlah sel dan konsumsi dari gula reduksi yang dimiliki oleh hidrolisat.

#### b. Perhitungan Jumlah Populasi *S. cerevisiae* pada Hidrolisat TKKS

Sampel kultur *S. cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan interval jam diambil sebanyak 100 µl kemudian ditambahkan aquades 900 µl (pengenceran 10 kali). Selanjutnya perhitungan populasi dilakukan menggunakan spektrofotometri yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Hasil absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan kedalam persamaan dari kurva standart hubungan jumlah populasi *S. cerevisiae* pada spektrofotometer dan *haemocytometer*.

#### c. Penentuan Konsumsi Gula Reduksi Hidrolisat TKKS

Sampel kultur *S. cerevisiae* pada variasi konsentrasi dan interval jam disentrifugasi 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan filtrat dari sel.

Kemudian 50 µl filtrat ditambah aquades 450 µl kemudian ditambahkan 0,5 ml reagen *somogyi* yang berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik dan kemudian dididihkan pada penangas air selama 15 menit. Setelah dingin, ditambahkan reagen *nelson* 0,5 ml yang berfungsi mengikat gula reduksi hasil hidrolisis substrat. Kemudian ditambahkan aquades 2,5 ml dan diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Data absorbansi diplot pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standart glukosa yang nantinya dibandingkan dengan larutan standar glukosa.

### 3.4 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap yaitu hidrolisis yang dilakukan oleh masing-masing perlakuan yaitu (1) *A. niger*, (2) *T. viride*, (3) *A. niger* + *T. viride*, dan (4) *T. viride* + *A. niger*. Data yang telah diperoleh akan dianalisis dengan anova. Jika hasilnya signifikan maka akan dilanjutkan dengan analisis Duncan's Multiple Range Test (DMRT) untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan. Analisis data ini menggunakan program SPSS 15.0 for Windows.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Hidrolisis yang dilakukan oleh *A. niger* dan *T. viride* mampu meningkatkan gula reduksi pada substrat TKKS. Gula reduksi tertinggi terdapat pada perlakuan inokulum campuran yaitu *T. viride* + *A. niger* sebesar 61.89 µg/ml yang digunakan sebagai media pertumbuhan *S. cerevisiae*. PST *S. cerevisiae* mampu tumbuh pada media hidrolisat TKKS dengan pertumbuhan optimum terjadi pada konsentrasi 2x pengenceran yaitu jumlah sel sebesar  $5,8 \times 10^7$  sel/ml selama waktu inkubasi 42 jam. Peningkatan populasi PST *S. cerevisiae* juga diiringi oleh penurunan jumlah gula reduksi sebesar 60%, hal ini membuktikan bahwa PST *S. cerevisiae* mampu menggunakan gula reduksi dalam media TKKS hasil hidrolisis *A. niger* dan *T. viride*.

### 5.2 Saran

Penelitian ini merupakan langkah awal mengkaji pemanfaatan hasil hidrolisis TKKS sebagai salah satu alternatif media pertumbuhan Protein Sel Tunggal *S. cerevisiae*, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut seperti nutrisi lain yang terkandung dalam hidrolisat TKKS serta parameter yang lebih banyak berupa suhu, pH dan lain-lain untuk mengetahui pertumbuhan optimum dari Protein Sel Tunggal *S. cerevisiae*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aalbaek, B. (2011). *Veterinary Bacteriology and Mycology: Fungal Morphology. Denmark: Faculty of Health and Medical Science University of Copenhagen.* <http://atlas.sund.ku.dk/microatlas/food/fungus/>. [Diakses pada 15 Desember 2015]
- Adedayo, Ajiboye, Akintunde, & Odaibo. 2011. Single Cell Proteins : As Nutritional Enhancer. *Jurnal Pelagia Research Library.* 2(5): 396–406.
- Adiwirman, Puspita, Edwina, & Manurung. 2011. Peningkatan Produktivitas Usaha Perkebunan Kelapa Sawit Rakyat Melalui Teknologi Biotrikom Berbasis Limbah Padat Kelapa Sawit Di Kabupaten Rokan Hilir Provinsi Riau. *Laporan Penelitian.* Pekanbaru: Lembaga Penelitian Universitas Riau.
- Anjarsari, B., & Effendi, H. 2005. Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Cair Pulp Kakao oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Infomatek.* 7: 93–105.
- Anwar, N., Widjaja, A., & Winardi, S. 2010. Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Makara, Sains.* 14(2): 113–116.
- Archer, D., & Peberdy, J. 1997. The Molecular Biology of Secreted Enzyme Production by Fungi. *Critical Reviews in Biotechnology.* 17(4): 273–306.
- Bahl, O., & Agrawal, K. 1969. Glycosidases of *Aspergillus niger*. *The Journal of Biological Chemistry.* 224(11): 2970–2978.
- Barokah, A. (2016). Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* pada Hidrolisat Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) yang Difermentasi *Aspergillus niger*. *Skripsi.* Jember: Universitas Jember.
- Beldman., Leeuwen, Rombouts, & Voragen. 1985. The Cellulase of *Trichoderma viride*: Purification, Characterization and Comparison of All Detectable Endoglucanases, Exoglucanases and  $\beta$ -glucosidases. *Eur. J. Biochem.* 146: 301–308.
- Chu, Hartig, Freese, & Freese. 1981. Adaptation of Glucose-grown *Saccharomyces cerevisiae* to Gluconeogenic Growth and Sporulation. *Journal of General Microbiology.* 125: 421–430.

- D'Halewyn, M.-A., & Chevalier. 2012. *Aspergillus niger*. *Publie Sur INSPQ - Institut National de Sante Publique Du Quebec - Site Dev.* <https://www.inspq.qc.ca/en/print/moulds/fact-sheets/aspergillus-niger>. [10 Mei 2015]
- Elevri, P., & Putra, S. (2006). Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Diamobilisasi dengan Agar Batang. *Akta Kimindo*. 1(2): 105–114.
- Elisabeth, J., & Ginting, S. P. 2003. Pemanfaatan Hasil Samping Industri Kelapa Sawit Sebagai Bahan Pakan Ternak Sapi Potong. *Lokakarya Sistem Integrasi Kelapa Sawit-Sapi*, 110–119.
- Frey, R. 2013. Budidaya Kelapa Sawit Ramah Lingkungan Untuk Petani Kecil. Aceh: Penerbit Universitas Syah Kuala. *Cordaid Dan Biodiversity Agriculture Commodities Program (BACP) of International Finance Corporation*, 1–35.
- Ferguson, J. 2013. *Determination of Reducing Sugar Content: Clinitest, Benedict's Solution and the Rebelein Titration*. Canberra: Sirromet Wines Pty Ltd.
- Gajera, H., Rakholiya, K., & Vakharia, D. 2011. Bioefficacy of *Trichoderma* Isolates Against *Aspergillus niger* Van Tieghem Inciting Collar Rot in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Plant Protection Research*. 51(3).
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., & Oetari, A. 2006. *MIKOLOGI Dasar dan Terapan* (1st ed.). Jakarta: Yayasan Obor Indonesia Anggota IKAPI DKI Jakarta.
- Guimarães, Moriel, Machado, Picheth, & Bonfim. 2006. Isolation and Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* Strains of Winery Interest. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 42(1): 119–126.
- Habib, Parvin, Huntington, & Hasan. 2008. *A Review On Culture, Production and Use of Spirulina As Food For Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish*. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations. (Vol. 1034, pp. 1–33)
- Hadrawi, J. 2014. Kandungan Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa Limbah Baglog Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) dengan Masa Inkubasi yang Berbeda sebagai Bahan Pakan Ternak. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
- Ibrahim, Puspitaloka, Rahim, & Hong. 2012. Characterization of Solid State Fermentation Culture Conditions for Growth and Mananase Production by

- Aspergillus niger* USM F4 on Rice Husk in Tray System. *British Biotechnology Journal*. 2(3): 133–145.
- Ijaz, Anwar, Zafar, Hussain, Muhammad, Irshad, & Mehmood. 2011. Optimization of Cellulase Enzyme Production from Corn Cobs Using *Alternaria alternata* by Solid State Fermentation. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 9(2): 51–56.
- Inggrid, M., & Suharto, I. 2012. Fermentasi Glukosa Oleh *Aspergillus niger* Menjadi Asam Glukonat. *Laporan Penelitian*. Bandung: Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahayangan.
- Ingledeew, W., Thomas, K., & Hynes, S. 2002. Influence of Medium Buffering Capacity on Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* Growth by Acetic and Lactic Acids. *American Society for Microbiology*. 68(4): 1616–1623.
- Juliastuti, Aldino, Fanandy, Nuniek & Sumarno. 2008. Penurunan Kadar Lignin dari Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan Pemecahan Material Selulosa untuk Pembentukan Glukosa dengan Proses Fungal Treatment. *jurnal Institut Teknologi Sepuluh Nopember*. 1–6.
- Juwaied, A., Al-amiry, A., & Abdumuniem, Z. 2011. Optimization of Cellulase Production by *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* Using Sugar Cane Waste. *Jurnal of Yeast and Fungal Research*. 2(2): 19–23.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi Biology and Applications*. Irlandia: John Wiley & Sons Ltd.,
- Law, K., Daud, W., & Arniza, G. 2007. Morphological and Chemical Nature of Fiber Strands of Oil Palm Empty-Fruit-Bunch (OPEFB). *BioResources*. 2(3): 351–362.
- Lieckfeldt, Samuels, Nirenberg, & Petrini. 1999. A Morphological and Molecular Perspective of *Trichoderma viride* : Is It One or Two Species?. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(6): 2418–2428.
- Loekito, H. 2002. Teknologi Pengelolaan Limbah Industri Kelapa Sawit. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 3(3): 242–250.
- Machida, Tanaka, Yano, Otani, & Taniguchi. 1999. Farnesol-Induced Growth Inhibition in *Saccharomyces cerevisiae* by a Cell Cycle Mechanism. *Microbiology*. 14: 293–299.
- Mahreni, & Suhenry, S. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces cerevisiae* dalam Media Tepung Kulit Pisang. *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. 26 Juli 2011. 1–6.



- Mehta, Khandelwal, Datta, Naruka, Makhijani, Sharma, Chandra. 2012. Isolation , Characterization & Biomass Production of *Trichoderma viride* using Various Agro Products- A Biocontrol Agent. *Pelagia Research Library*, 3(6), 3950–3955.
- Mojsov, K. 2010. Experimental Investigations of Submerged Fermentation and Synthesis of Pectinolytic Enzymes by *Aspergillus niger* : Effect of Inoculum Size and Age of Spores. *ATI - Applied Technologies & Innovations*. 2(2): 40–45.
- Muchtar, M. 2013. Pemanfaatan Kulit Buah Kakao Sebagai Media Padat untuk Memproduksi Enzim Amilase *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
- Nasseri, Rasoul-Amini, Morowvat, & Ghasemi. 2011. Single Cell Protein: Productin and Process. *American Journal of Food Technology*. 6(2): 103–116.
- Neethu, Rubeena, Sajith, Sreedevi, Priji,, Unni, Benjamin. 2012. A novel strain of *Trichoderma viride* shows complete lignocellulolytic activities. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. (3): 1160–1166.
- Nguyen, C. 2010. Enzymatic Conversion of Cellulosic Biomass to Cellulosic Ethanol - A Riview. *Cheminfo2010*. 1–6.
- Nurhayati, E. 2008. Pretreatment Tandan Kosong Sawit Sebagai Bahan Baku Untuk Produksi Bioetanol. *Skripsi*. Pekanbaru: Fakultas Teknik Universitas Riau.
- Pandey, Selvakumar, Soccol, & Nigam. 1999. Solid State Fermentation for The Production of Industrial Enzymes. *Current Science*. 77(1): 149–162.
- Parida, Y. 2015. Penentuan Kadar Karbohidrat, Air, dan HCN Hasil Fermentasi Kulit Singkong Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Skripsi* Palembang: Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Pawignya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”*. 22 Februari 2011. 1–5.
- Pérez, Munoz-Dorado, Rubia, & Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology : The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*. 5(2),:53–63.



- Purwitasari, E., Pangastuti, A., & Setyaningsih, R. 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. *Bioteknologi*. 1(2): 37–42.
- Purwoko, T. (2009). *Fisiologi Mikroba*. Edisi 1st pp. 33–35. Jakarta: Bumi Aksara.
- Rahim, D. 2009. Produksi Etanol Oleh *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus* dari Sirup Dekstrin Pati Sagu (*Metroxylon sp.*) Menggunakan Metode Aerasi Penuh dan Aerasi Dihentikan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Reed, G., & Nagodawithana, T. 1991. *Yeast Technology* (Second). New York: Van Nostrand Reinhold.
- Reis, Bassi, Silva, & Ceccato-Antonini. 2013. Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts Exhibiting Rough Colonies and Pseudohyphal Morphology with Respect to Alcoholic Fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44(4): 1121–1131.
- Richana, Winarti, Hidayat, & Prastowo. 2015. Hydrolysis of Empty Fruit Bunches of Palm Oil (*Elaeis Guineensis* Jacq.) by Chemical, Physical, and Enzymatic Methods for Bioethanol Production. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 6(6): 422–426.
- Sethi, R., Padmavathi, T., & Sullia, S. 2013. Lignocellulose Biomass Degradation by Marine Microorganisms. *European Journal of Experimental Biology*. 3(2): 129–138.
- Shah, S., Nasreen, S., & Sheikh, P. 2012. Cultural and Morphological Characterization of *Trichoderma* spp. Associated with Green Mold Disease of *Pleurotus* spp. in Kashmir". *Research Journal of Microbiology*. 7(2): 139–144.
- Sitorus, R. 2011. Pretreatment dan Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dengan Metode Steaming dan Enzimatik. *Skripsi*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Sumardjo, D. (2006). *Pengantar Kimia: Buku Panduan Mahasiswa Kedokteran dan Program Sastra I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sunarwan, B., & Juhana, R. 2013. Pemanfaatan Limbah Sawit Untuk Bahan Bakar Energi Baru dan Terbarukan (EBT). *Jurnal Tekno Insentif Kopwil4*. 7(2): 1–14.

- Ulum, M., & Hariyanto. 2014. *Statistik Kelapa Sawit Indonesia Indonesian Oil Palm Statistics 2014. Statistik Kelapa Sawit 2014* (pp. 1–96). Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Verweij. 2007. 0704-3 *Aspergillus niger* (Invasive Type). *Journal Clinical Microbiology Proficiency Testing*.
- Wahoho, Damayanti, Rosyida, & Sadyastuti. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. 26 Juli 2011. 1–6.
- Wahyuni, M. 2008. Laju Dekomposisi Aerob dan Mutu Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Penambahan Mikroorganisme Selulolitik, Amandemen dan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Thesis*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Werner-washburne, Braun, Johnston, & Singer. 1993. Stationary Phase in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *American Society for Microbiology*. 57(2): 383–401.
- Widanti, A., & Susilawati, L. 2008. Optimasi Waktu Pertumbuhan Yeast *Saccharomyces cerevisiae* 3005 pada Subtrat Limbah Cair Tahu (Kajian Awal Potensinya dalam Memproduksi Protein Sel Tunggal). *Prosiding Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi*. 478–480.

**LAMPIRAN**

**A. Komposisi Media**

**A. 1 Komposisi Media PDA**

No	Komposisi	Jumlah
1	Kentang	20 g
2	Dextrose	1 g
3	Agar	1.7 g
4	Aquades	100 ml

**A. 2 Komposisi Media YEPD Agar**

No	Komposisi	Jumlah
1	Yeast Ekstrak	0.1 g
2	Pepton	0.5 g
3	Dextrose	1 g
4	Agar	1.5 g
5	Aquades	100 ml

**A. 3 Komposisi Media YEPD Cair**

No	Komposisi	Jumlah
1	Yeast Ekstrak	0.25 g
2	Pepton	0.5 g
3	Dextrose	0.18 g
4	Aquades	100 ml

**B. Komposisi Reagen Somogyi – Nelson****B. 1 Reagen Somogyi**

No	Bahan	Jumlah
1	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	24 g
2	$\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12 g
3	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	4 g
4	$\text{NaHCO}_3$	16 g
5	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	180 g
6	Aquades	1000 ml

**B. 2 Reagen Nelson**

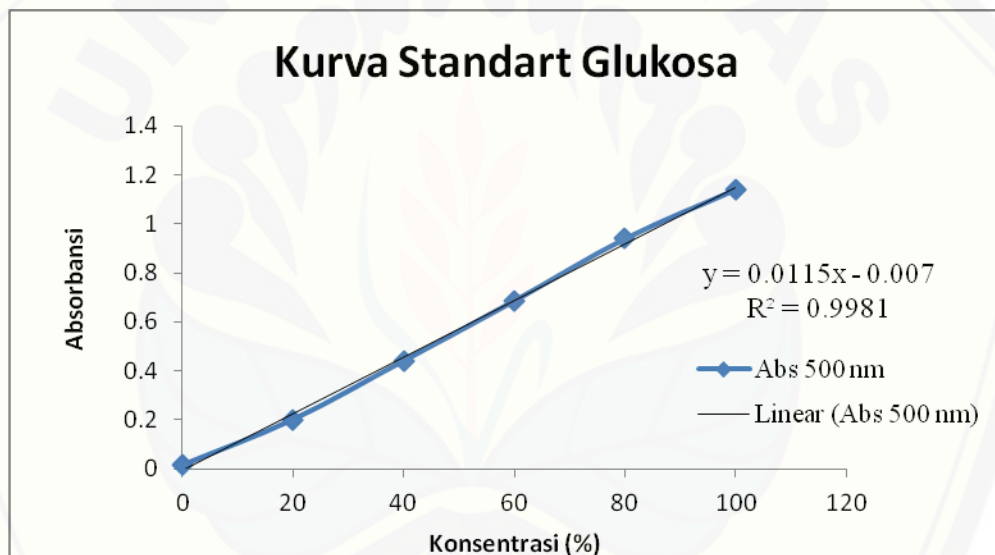
No	Bahan	Jumlah
1	$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50 g
2	$\text{NASNa}_2\text{O}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6 g
3	$\text{H}_2\text{SO}_4$	46 ml
4	Aquades	1000 ml

## C. Standart Glukosa

### C.1 Tabel Standart Glukosa

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbansi (500 nm)
0	0.015
20	0.201
40	0.441
60	0.685
80	0.939
100	1.139

### C.2 Kurva Standart Glukosa



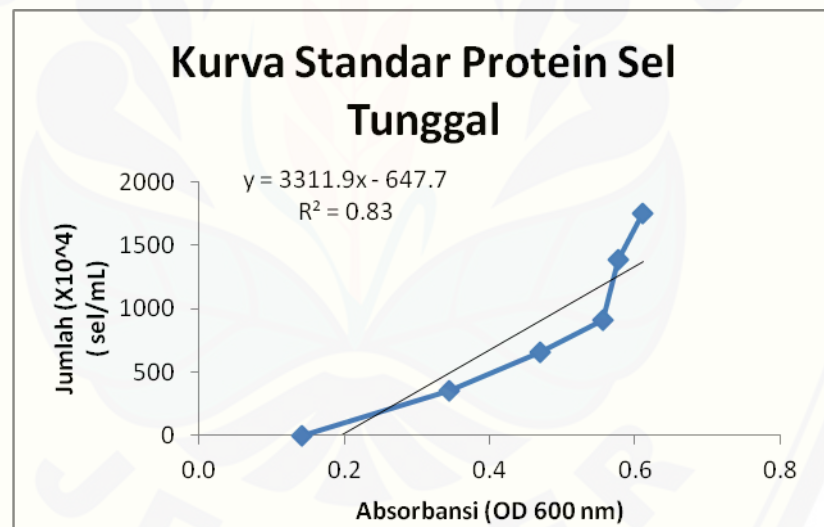


**D. Standart Hubungan Populasi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* pada Spektrofotometer dan Haemocytometer**

**D.1 Tabel Hubungan Populasi *Saccharomyces cerevisiae* pada Spektrofotometer dan Haemocytometer**

Perlakuan	Absorbansi (600 nm)	Jumlah Sel/ml ( $10^4$ )
Kontrol	0.141	0
5X	0.345	355
4X	0.470	653
3X	0.556	905.667
2X	0.577	1387
0X	0.611	1755.333

**D.2 Kurva Hubungan antara Populasi *Saccharomyces cerevisiae* pada Spektrofotometer dan Haemocytometer**



**E. Hasil Analisis One Way ANOVA dan Uji Duncan Hidrolisis TKKS oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride***

**Descriptives**

**Presentase Perlakuan Hidrolisis TKKS**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	5	27.00880	.486206	.217438	26.40509	27.61251	26.522	27.565
A	5	36.62600	2.105068	.941415	34.01221	39.23979	32.870	37.652
B	5	32.34780	3.046828	1.362583	28.56466	36.13094	27.217	34.870
A+B	5	58.71320	.277558	.124128	58.36857	59.05783	58.348	59.043
B+A	5	61.89540	3.807591	1.702807	57.16765	66.62315	55.130	64.174
Total	25	43.31824	14.691768	2.938354	37.25378	49.38270	26.522	64.174

**ANOVA**

**Presentase Perlakuan Hidrolisis TKKS**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5066.251	4	1266.563	222.004	.000
Within Groups	114.103	20	5.705		
Total	5180.353	24			

**Presentase Perlakuan Hidrolisis TKKS**

**Duncan**

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol	5	27.00880				
B	5		32.34780			
A	5			36.62600		
A+B	5				58.71320	
B+A	5					61.89540
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Keterangan**

A: *Aspergillus niger*

B: *Trichoderma viride*