

Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat

Zulfatus Sa'adah, Noviana Ika S., Abdullah

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang
Jl. Prof. Sudarto, SH Kampus Tembalang Semarang 50236

Abstract

*Rice straw is the largest agricultural wastes in Indonesia. Cellulose in rice straw can be used as substrate in cellulase production in order to increase the economic value of rice straw. The purpose of this study to produce cellulase and to observe effect of moisture content and fermentation time on cellulase production by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Fermentations were carried out in erlenmeyer flasks containing rice straw substrates with varying moisture content from 75% up to 90%, nutrient salt composed urea 30 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg respectively, initial pH at 5 and incubated at different time of fermentation from 48 hours to 144 hours at 30°C. Protein in crude enzyme and cellulase activity were analyzed by Lowry method and DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) method respectively. The best cellulase activity was obtained in a medium containing rice straw substrates with moisture content of 80%, initial pH of fermentation 5, nutrient salt composed urea 30 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg and incubated for 96 hours at 30°C. Optimal condition was obtained at cellulase activity of 7,29 gram glucose/l.*

*Keywords : cellulase, rice straw, *Aspergillus niger*, solid state fermentation*

Abstrak

*Jerami padi merupakan limbah pertanian terbesar di Indonesia. Potensi selulosa dalam jerami padi yang besar dapat dimanfaatkan sebagai substrat dalam produksi selulase sehingga dapat menambah nilai ekonomi pada jerami padi. Tujuan penelitian ini adalah untuk memproduksi enzim selulase dan mengetahui pengaruh moisture content dan waktu fermentasi terhadap produksi enzim. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah sistem fermentasi padat. Penelitian dilakukan dalam erlenmeyer dengan variabel tetap antara lain nutrisi dalam media (urea 30 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg), pH awal fermentasi 5, dan temperatur fermentasi 30°C. Variabel berubah yang digunakan yaitu variabel moisture content 75%, 80%, 85%, 90% dan variabel waktu 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, 144 jam. Hasil fermentasi diekstrak dan disentrifugasi sehingga dihasilkan enzim selulase. Kemudian enzim selulase yang dihasilkan dianalisa kadar proteinnya dengan metode Lowry dan diuji aktivitasnya dengan metode DNS (3,5-dinitrosalicylic acid). Hasil percobaan menunjukkan bahwa substrat jerami dapat digunakan untuk memproduksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* dengan kadar protein (enzim) tertinggi yang dihasilkan 1,28 g/liter dengan aktivitas enzim tertinggi 7,29 gram glukosa/liter. Aktivitas enzim paling optimum diperoleh pada variabel moisture content 80% dan waktu fermentasi 96 jam.*

*Kata kunci : enzim selulase, jerami, *Aspergillus niger*, sistem fermentasi padat*

I. PENDAHULUAN

Jerami padi merupakan limbah pertanian terbesar di Indonesia. Menurut data BPS tahun 2006, luas sawah di Indonesia adalah 11,9 juta ha. Produksi per hektar sawah bisa mencapai 12-15 ton bahan kering setiap kali panen, tergantung lokasi dan varietas tanaman. Sejauh ini, pemanfaatan jerami padi sebagai pakan ternak baru mencapai 31-39 %, sedangkan yang dibakar atau dimanfaatkan sebagai pupuk 36-62 %, dan sekitar 7-16 % digunakan untuk keperluan industri (safan.wordpress.com, 2008). Jerami mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Kandungan selulosa yang cukup besar, yaitu sekitar 39 % sehingga jerami padi dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim selulase. Penggunaan jerami padi sebagai substrat dalam produksi selulase dapat menambah nilai ekonomi pada jerami padi itu sendiri (safan.wordpress.com, 2008).

Selulase digunakan secara luas dalam industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas. Selulase juga digunakan dalam pengolahan kopi (Frazier dkk, 1988) dan kadang-kadang digunakan dalam industri farmasi sebagai zat untuk membantu sistem pencernaan. Selulase juga dimanfaatkan dalam proses fermentasi dari biomassa menjadi biofuel, seperti bioethanol (en.wikipedia.org/wiki/cellulase). Saat ini, enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa (Zhiliang Fan dkk, 2006).

Selulase dapat diproduksi oleh fungi, bakteri, dan ruminansia. Produksi enzim secara komersial biasanya menggunakan fungi atau bakteri. Fungi yang bisa menghasilkan selulase antara lain genus *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Jenis fungi yang biasa digunakan dalam produksi selulase adalah *Aspergillus niger* (Usama dkk, 2008; Immanuel dkk, 2006; Ikram dkk, 2005; Omojasola dkk, 2008; Narasimha G dkk, 2006), *Aspergillus fumigates* (Immanuel dkk, 2006), *Aspergillus nidulans* (Usama dkk, 2008), *Neurospora sitophila* (Kurnia dkk, 2002), *Trichoderma viride* (Ikram dkk, 2005), *Trichoderma longibrachiatum*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (Omojasola dkk, 2008). Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, dan *Sporosphytophaga*. Sedangkan untuk pembenihan inokulasi biasanya dilakukan pada medium PDA/*Potato Dextrose Agar* (Omojasola dkk, 2008; Ikram dkk, 2005; Narasimha G dkk, 2006) atau pada medium *Czapek Dox Liquid* (Gokhan Coral dkk, 2002; Narasimha G dkk, 2006).

Jerami mempunyai potensi besar sebagai substrat dalam produksi enzim selulase yang digunakan secara luas dalam industri sehingga penelitian ini penting untuk dilakukan. Dalam penelitian ini, diharapkan dapat memperoleh kondisi optimum dari

variabel yang telah ditentukan sehingga dapat mengurangi biaya produksi enzim selulase dan menambah nilai ekonomi jerami.

Tujuan penelitian ini untuk memproduksi selulase dengan menggunakan substrat jerami padi oleh *Aspergillus niger* dengan sistem fermentasi padat, mengkaji pengaruh *moisture content* dan waktu fermentasi terhadap produksi enzim selulase, dan menetapkan kondisi optimum produksi selulase.

II. METODOLOGI

Untuk memproduksi enzim selulase menggunakan *Aspergillus niger* dengan substrat jerami melalui proses sistem fermentasi padat dilakukan beberapa tahapan sebagai berikut:

1. Penyiapan bahan baku

Bahan baku berupa jerami diambil dari desa Mijen Kec. Kebonagung, Kab. Demak. Sebelum digunakan sebagai medium fermentasi, jerami dicacah agar didapat ukuran yang homogen. *Aspergillus niger* diperoleh dari Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Katolik Soegijapranata (UNIKA) Semarang.

2. Pembenuhan inokulasi

Pembenuhan inokulasi dilakukan pada PDA secara zig-zag dengan menggunakan kawat inokulasi di dalam cawan petri secara aseptik. Mikroba diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 120 jam.

3. Penyiapan inokulum

Penyiapan inokulum dilakukan dalam media cair (sukrosa 12,5%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,25%, KH_2PO_4 0,2%) yang ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam di ruang aseptik.

4. Produksi enzim selulase

Produksi enzim ini dimulai dengan mencampur jerami dengan nutrien yang ada dalam media cair padat. pH fermentasi diatur lalu media disterilkan di dalam autoclave kemudian didinginkan. Suspensi spora ditambahkan dan disebar merata pada media tersebut. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C dengan waktu fermentasi sesuai dengan variabel yang telah ditentukan.

5. Pengambilan enzim

Proses pengambilan enzim dimulai dengan mengekstrak hasil fermentasi dengan aquadest sehingga diperoleh filtrat dan padatan. Kemudian filtrat dan padatan

dipisahkan dengan menggunakan centrifuge kecepatan 4200 rpm selama 14 menit. Filtrat yang diperoleh siap diuji aktivitas enzimnya.

6. Analisa hasil

Analisa pertama yang dilakukan adalah analisa protein dengan metode Lowry untuk menunjukkan kadar enzim dalam sampel dengan menggunakan BSA (bovine serum albumin) sebagai larutan standar. Untuk mengetahui aktivitas enzim yang dihasilkan digunakan kapas 1% yang ditambah dengan ekstrak enzim, kemudian kadar glukosa dianalisa dengan metode DNS (3,5-dinitrosalicylic acid).

Pada penelitian digunakan variabel moisture content dan waktu fermentasi. Adapun rancangan percobaan disajikan pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Rancangan percobaan

Run	Variabel	
	Moisture content (%)	Waktu fermentasi (jam)
1	75	48
2	75	72
3	75	96
4	75	120
5	75	144
6	80	48
7	80	72
8	80	96
9	80	120
10	80	144
11	85	48
12	85	72
13	85	96
14	85	120
15	85	144
16	90	48
17	90	72
18	90	96
19	90	120
20	90	144

Adapun kondisi yang dipertahankan tetap adalah :

- Komposisi nutrisi dalam media :
 - Urea : 30 mg
 - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 5 mg
 - KH_2PO_4 : 2,3 mg

- Suhu fermentasi : $\pm 30^{\circ}\text{C}$
- pH fermentasi : 5

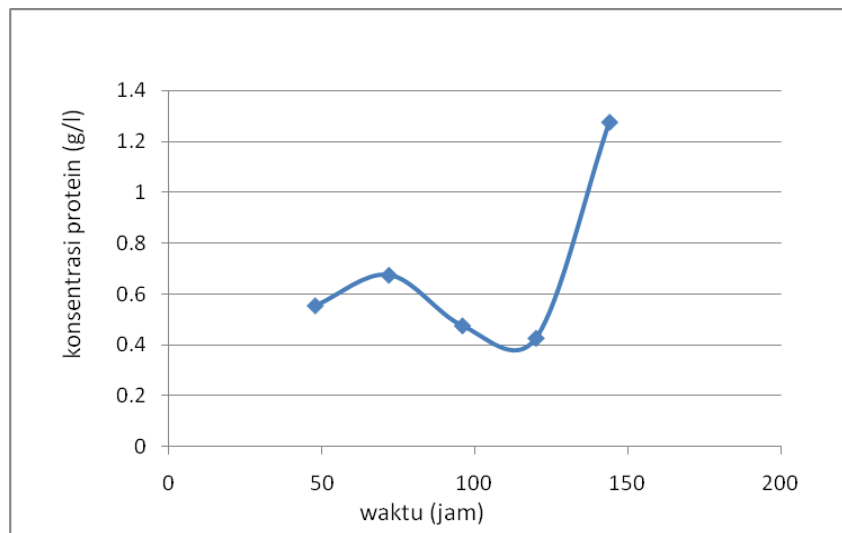
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hubungan antara waktu terhadap konsentrasi protein

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap moisture content 90%, nutrisi dalam media (urea 30 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg), pH awal fermentasi 5, dan temperatur fermentasi 30°C . Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Hasil analisa kadar protein dengan menggunakan metode Lowry disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Hasil analisa kadar protein pada berbagai variabel

Kadar air	Kadar protein (gram/liter)				
	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam	144 jam
0,75	0,24	0,36	0,40	0,47	0,77
0,8	0,42	0,50	0,53	0,48	0,41
0,85	0,42	0,82	0,53	0,60	0,49
0,9	0,55	0,67	0,48	0,43	1,28

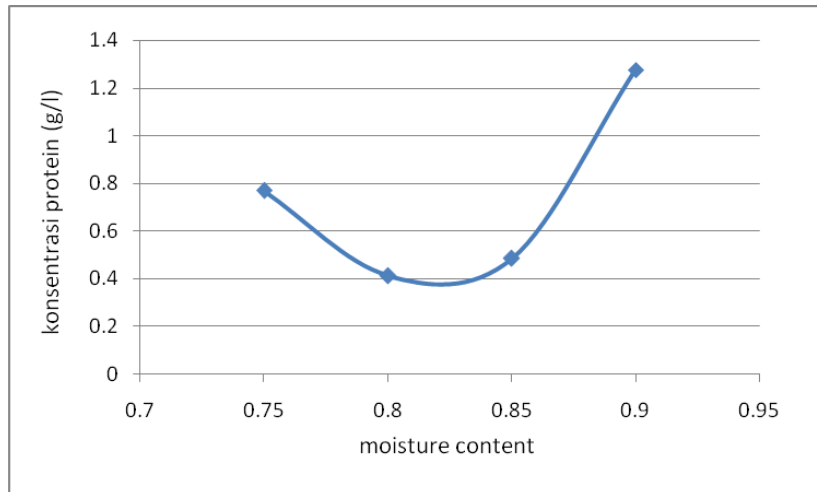


Gambar 1. Grafik hubungan waktu (jam) terhadap konsentrasi protein (mg/l) pada variabel moisture content 90%

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa dengan bertambahnya waktu konsentrasi protein menjadi tinggi. Kadar protein tertinggi dihasilkan pada waktu 144 jam yaitu sebesar 1,28 g/l. Hal ini disebabkan pada waktu tersebut pertumbuhan mikroba telah mencapai maksimal.

B. Hubungan antara moisture content terhadap konsentrasi protein

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap waktu 144 jam, nutrisi dalam media (urea 30 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg), pH awal fermentasi 5, dan temperatur fermentasi 30°C . Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Hasil analisa kadar protein dengan menggunakan metode Lowry disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hubungan moisture content terhadap konsentrasi protein (g/l) pada variabel waktu 144 jam

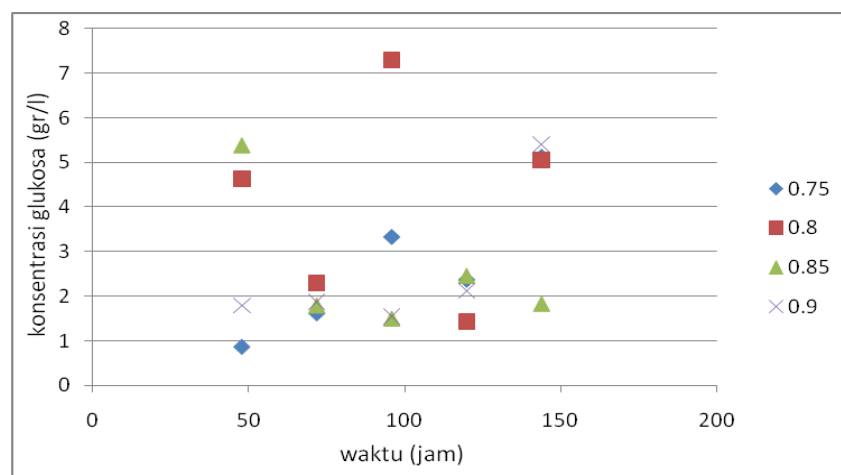
Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar protein pada moisture content 75% lebih tinggi daripada moisture content 80% dan 85%. Hal ini disebabkan pada moisture content 75% porositasnya lebih tinggi sehingga transfer oksigen maksimal. Mulai variabel moisture content 85% terjadi kenaikan kadar protein. Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan kenaikan moisture content porositas semakin menurun, tetapi kelarutan nutrisi dalam media semakin tinggi. Kadar protein tertinggi dihasilkan pada moisture content 90% yaitu sebesar 1,28 g/l. Hal ini disebabkan oleh tingginya kelarutan nutrisi dalam media sehingga suplai nutrisi untuk *Aspergillus niger* tumbuh semakin besar. Moisture yang terlalu tinggi dapat mengurangi porositas padatan sehingga menghalangi transfer oksigen. Moisture yang terlalu rendah menyebabkan berkurangnya kelarutan nutrisi dalam substrat. (Md. Zahangir Alam dkk, 2005; Giselle Maria Maciel dkk, 2008).

C. Uji aktivitas enzim selulase

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap nutrisi dalam media (urea 30 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 mg, KH_2PO_4 2,3 mg), pH awal fermentasi 5, dan temperatur fermentasi 30°C. Uji aktivitas enzim ini dilakukan untuk mengetahui banyaknya selulosa yang bisa dihidrolisis secara enzimatik menjadi glukosa. Berikut ini adalah hasil analisa uji aktivitas enzim selulase dengan metode DNS berupa konsentrasi glukosa tereduksi dalam satuan gram/liter yang disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Hasil analisa uji aktivitas enzim pada berbagai variabel

Kadar air	Kadar glukosa (gram/liter)				
	48 jam	72 jam	96 jam	120 jam	144 jam
0,75	0,88	1,63	3,33	2,38	5,13
0,8	4,63	2,29	7,29	1,42	5,04
0,85	5,38	1,79	1,50	2,46	1,83
0,9	1,79	1,88	1,54	2,13	5,42



Gambar 3. Grafik hubungan waktu (jam) terhadap konsentrasi glukosa (gr/l) pada berbagai variabel moisture content

Dari grafik di atas dapat dilihat aktivitas enzim tertinggi dihasilkan pada variabel waktu 96 jam dengan kadar moisture 80 % yaitu sebesar 7,29 gr glukosa/l. Ditinjau dari variabel waktu aktivitas tertinggi dihasilkan pada waktu 96 jam. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. aktivitas enzim yang tinggi diperoleh pada saat pasca eksponensial (stasioner) yaitu setelah hari ke-4 fermentasi (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995).

Ditinjau dari variabel moisture content, aktivitas tertinggi dihasilkan pada moisture 80 %. Namun, kadar protein tertinggi dihasilkan pada variabel moisture content 90%. Hal ini disebabkan adanya kemungkinan terdapat enzim selain enzim selulase yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* sehingga konsentrasi protein pada variabel moisture content 90% selama 144 jam paling tinggi dibandingkan dengan variabel lain. Hal ini sesuai dengan penjelasan Gretty K. Villena (2007) bahwa *Aspergillus niger* dapat memproduksi enzim lignoselulotik seperti enzim selulase dan enzim xylanase. Pada variabel moisture content 80% dan variabel waktu 96 jam dihasilkan aktivitas enzim tertinggi karena *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan baik pada moisture content 80% (Indrawati Gandjar, 2006) dan aktivitas tertinggi diperoleh pada saat pasca eksponensial (stasioner) yaitu setelah hari ke-4 fermentasi (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995).

Apabila ditinjau dari pengaruh variabel moisture content dan waktu fermentasi terhadap kadar protein dan aktivitas enzim yang dihasilkan tampak ada korelasi antara kadar protein yang dihasilkan dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Pada kondisi lingkungan dimana kadar protein yang terukur tinggi maka aktivitas enzim juga tinggi, dan sebaliknya pada kondisi dimana kadar protein yang dihasilkan menurun maka terlihat adanya penurunan aktivitas enzim yang dihasilkan.

IV. KESIMPULAN

Substrat jerami dapat digunakan untuk memproduksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger*. Kadar protein (enzim) tertinggi yang dihasilkan 1,28 g/liter dengan aktivitas enzim tertinggi 7,29 gram glukosa/liter. Aktivitas enzim paling optimum diperoleh pada variabel moisture content 80% dan waktu fermentasi 96 jam.

Untuk penelitian yang selanjutnya disarankan agar menganalisa kemungkinan adanya berbagai macam enzim yang terdapat dalam sampel selain enzim selulase. Analisa terhadap aktivitas enzim selulase lebih spesifik, seperti uji aktivitas enzim FP-ase dan CMC-ase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Fakultas Teknik Universitas Diponegoro yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Aziz Darwis, Illah Sailah, Tun Tedja Irawadi, Safriani. 1995. Kajian Kondisi Fermentasi pada Produksi Selulase dari Limbah Kelapa Sawit (Tandan Kosong dan Sabut) oleh *Neurospora sitophila*. J. Teknologi Industri Pertanian Vol. 5 (3) 199-207.
- Abdullah, Hanapi bin Mat, and Widayat. 2005. Kinetic Study of The Utilisation of Different Substrate to Lactic Acid Using *Lactobacillus delbrueckii*. Jurnal Teknik Kimia Indonesia Vol. 4 : 153-158.
- Ali, Usama F., Hala S. Saad El-Dein. 2008. Production and Partial Purification of Cellulase Complex by *Aspergillus niger* and *A. nidulans* Grown on Water Hyacinth Blend. Journal of Applied Sciences Research, 4 (7) : 875-891.
- Dewi, Kurnia Herlina. 2002. Hidrolisis Limbah Hasil Pertanian Secara Enzimatik. Akta Agraria Vol. 5 No. 2 hlm. 67-71.
- Fowler M. W. 1988. "Enzyme Technology" in Biotechnology For Engineers, Biological System in Technological Processes, Edited : Scragg, A. H., John Wiley & Sons, New York.
- Gandjar, Indrawati. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.
- Giselle Maria Maciel, Luciana Porto de Souza Vandenberghe, Charles Windson, Isidoro Haminiuk, Ricardo Cancio fendrich, Bianca Elli Della Bianca, Tahiana quintella da Silva Brandalize, Ashok Pandey and Carlos Ricardo soccol.2008. Xylanase Production by *Aspergillus niger* LPB 236 in Solid-State Fermentation Using Statistical Experimental Design. Food Technology, Biotechnology 46(2) 183-189.
- Gokhan Coral, Burhan arikan, M. Nisa Unaldi, Hatice Guvenmez. 2002. Some Properties of Crude Carboxymethyl Cellulase of *Aspergillus niger* Z10 Wild-Type Strain. Turk J Biol 26 (2002) 209-213.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/cellulase>
- <http://en.wikipedia.org/wiki/straw>
- <http://jasmal.blogspot.com>. Teknologi Pengolahan Jerami sebagai Pakan Ternak oleh Jasmal A. Syamsu pada 21 September 2007.
- <http://safan.wordpress.com>. Bioenergi Alternatif dipublikasikan pada 21 Agustus 2008.
- Ikram-ul-haq, Muhammad Mohsin Javed, Tehmina Saleem Khan and Zafar Siddiq. 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. Res. J. Agric & Biol. Sci. 1(3):241-245.
- Lonsane, B.K., N.P. Ghildyal, S. Budiartman dan S.V. Rama Krishna. 1985. Engineering Aspects of Solid State Fermentation. Enzyme Microb. Tech. Vol. 7:258-265.

- M. Saban Tanyildizi, Dursun Özer, Murat Elibol. 2007. Production of bacterial α -amylase by *B. amyloliquefaciens* Under Solid Substrate Fermentation. Biochemical Engineering Journal Volume 37, Issue 3, 15 December 2007, Pages 294-297.
- Md. Zahangir Alam, Nurdina Muhammad, and Mohd Erman Mahmat. 2005. Production of Cellulase from Oil Palm Biomass as Substrate by Solid State Bioconversion. American Journal of Applied Science 2 (2): 569-572.
- Narasimha, G, Sridevi A. Buddolia Viswanath, Subbosh Chandra M., Rajashekar Reddy B. 2006. Nutrien Effects on Production of Cellulolytic Enzymes by *Aspergillus niger*. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (5), pp. 472-476.
- Omojasola, P. Folakemi, Omowumi Priscilla Jilani, S. A. Ibiyemi. 2008. Cellulase Production by some Fungi Cultured on Pineapple Waste. Nature & Science 6 (2), pp. 64-75.
- Prior, B. A., J. C. Du Preez dan P.W. Rein. 1990. Environmental Parameters di dalam Solid State Cultivation. Elsevier, London.
- Suhartono, Maggy T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. PAU IPB, Bogor.
- Villena, Gretty K. and Marcel Gutierrez Correa. 2007. Production of lignocellulolytic enzymes by *Aspergillus niger* biofilms at variable water activities. Electronic Journal of Biotechnology Chile: Vol.10 No.1, pp. 124-140.
- www.istadi.net.
- William C. Frazier, Dennis C. Westhoff. 1988. Food Mikrobiology 4th ed. New York: McGraw-Hill Company.
- Zhiliang Fan, Lee R. Lynd. 2006. Conversion of Paper Sludge to Ethanol, II: Proses Design and Economic Analysis. Bioprocess Biosyst Eng 30: 35-45.