

BAB I

PENDAHULUAN

I. 1. Latar Belakang

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 *Tricoderma*, *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), *Tricoderma viride* (Ikram dkk, 2005), *Tricoderma 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.

I. 2. Perumusan Masalah

Jerami padi yang jumlahnya melimpah dan pemanfaatannya yang kurang baik menjadikan jerami sebagai limbah pertanian terbesar di Indonesia. Sejauh ini, pemanfaatan jerami padi sebagian besar hanya untuk pakan ternak dan pembuatan pupuk. Penelitian terdahulu belum banyak memanfaatkan jerami sebagai substrat dalam produksi enzim selulase dengan *Aspergillus niger*. Dalam penelitian ini digunakan jerami sebagai substrat dengan nutrisi tertentu untuk menghasilkan enzim selulase dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan sistem fermentasi padat. Diharapkan di dalam penelitian ini dapat diproduksi enzim selulase sehingga dapat meningkatkan nilai tambah pada jerami padi.

I. 3. Tujuan Penelitian

1. Memproduksi selulase dengan menggunakan substrat jerami padi oleh *Aspergillus niger* dengan sistem fermentasi padat.
2. Mengkaji pengaruh *moisture content* dan waktu fermentasi terhadap produksi enzim selulase.
3. Menetapkan kondisi optimum produksi selulase.

I. 4 . Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan nilai tambah jerami serta memberikan gambaran yang lebih luas dalam usaha memproduksi enzim selulase yang banyak digunakan dalam industri dengan menggunakan jerami sebagai substrat serta bahan nutrisi dan *Aspergillus niger* sebagai penghasil enzim dengan menggunakan sistem fermentasi padat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1. Jerami padi

Jerami padi merupakan limbah pertanian terbesar di Indonesia. Jumlahnya sekitar 20 juta per tahun. 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).



Gambar 2.1. Jerami padi

Banyaknya jerami padi yang belum dimanfaatkan secara optimal mendorong para peneliti mengembangkan potensi jerami padi menjadi sesuatu yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Berikut ini adalah komponen yang ada dalam jerami padi :

Tabel 2.1. Komponen jerami padi (safan wordpress.com., 2008).

Komponen	Kandungan (%)
Selulosa	39
Hemiselulosa	27
Lignin	12
Abu	11

Selulosa adalah polimer yang tersusun atas unit-unit glukosa melalui ikatan α -1,4-glikosida. Bentuk polimer ini memungkinkan selulosa saling menumpuk/terikat menjadi bentuk serat yang sangat kuat. Panjang molekul selulosa ditentukan oleh jumlah unit

glukan di dalam polimer, disebut dengan derajat polimerisasi. Derajat polimerisasi selulosa tergantung pada jenis tanaman dan umumnya dalam kisaran 200-27.000 unit glukosa. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim (safan.wordpress.com, 2008).

Hemiselulosa mirip dengan selulosa, namun tersusun dari bermacam-macam jenis gula. Monomer gula penyusun hemiselulosa terdiri dari monomer gula berkarbon 5 (C-5) dan 6 (C-6), seperti : xylosa, mannose, glukosa, galaktosa, arabinosa, dan sejumlah kecil rhamnosa, asam glukoroat, asam metal glukoroat, dan asam galaturonat (safan.wordpress.com, 2008).

Sedangkan lignin adalah molekul kompleks yang tersusun dari unit phenylpropane yang terikat di dalam struktur tiga dimensi. Lignin adalah material yang paling kuat dalam biomassa, namun sangat resisten terhadap degradasi, baik secara biologi, enzimatik, maupun kimia. Karena kandungan karbon yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dan hemiselulosa lignin memiliki kandungan energi yang tinggi (safan.wordpress.com, 2008). Secara alami lignin berwarna coklat. Kalau jerami berubah warna menjadi agak putih, berarti ada sebagian lignin yang hilang. Lignin membuat jerami jadi keras dan liat. Kalau jerami menjadi lebih lunak dari jerami aslinya, berarti pelindung ligninnya sudah mulai rusak (Isroi, 2008).

II.2. Enzim

Mikroorganisme, terutama ragi, telah digunakan selama beberapa ribu tahun untuk membuat bir, minuman anggur, dan beberapa produk fermentasi lain. Namun, baru pada tahun 1878, oleh Kuhne, komponen sel ragi yang bertanggung jawab terhadap fermentasi disebut sebagai *enzim* (berasal dari bahasa Yunani yang berarti *di dalam ragi*). Kurang dari dua dasawarsa berikutnya, sifat enzim yang tidak hidup dibuktikan secara jelas dengan menggunakan ekstrak ragi yang bebas sel, ternyata ekstrak tersebut mampu mengkatalisis perubahan glukosa menjadi etanol (Fowler M.W, 1988).

Enzim digunakan dalam sebagian besar sektor industri, terutama industri makanan. Selain itu, enzim juga digunakan dalam industri deterjen, farmasi, dan tekstil. Lebih dari 2000 enzim telah diisolasi, tetapi hanya 14 enzim yang diproduksi secara komersial. Kebanyakan dari enzim ini adalah hidrolase, misalnya amilase, protease, pektinase, dan selulase. Enzim penting lainnya adalah glukosa isomerase dan glukosa oksidase. Alasan digunakannya enzim dalam industri adalah enzim mempunyai kelebihan antara lain :

- Kemampuan katalitik yang tinggi, mencapai 10^9 - 10^{12} kali laju reaksi non-aktivitas enzim
- Spesifikasi substrat yang tinggi
- Reaksi dapat dilakukan pada kondisi yang lunak, yaitu pada tekanan dan temperatur rendah (Fowler M.W, 1988)

Ada tiga sumber enzim, yaitu dari hewan, tumbuhan, dan sel mikroba. Dahulu hewan dan tumbuhan merupakan sumber enzim tradisional, namun dengan berkembangnya ilmu bioteknologi, masa depan terletak pada sistem mikrobial. Tak dapat dipungkiri bahwa sebagian besar sumber enzim dalam skala industri adalah mikroorganisme. Beberapa alasan digunakan mikroba adalah :

- Sistem produksi mikrobial dapat diperoleh di bawah kontrol tertutup
- Level/tingkat enzim, sehingga produktivitas enzim dapat dimanipulasi secara lingkungan dan genetika
- Metode pengayakan untuk sistem mikrobial cukup sederhana

Tabel 2.2. Beberapa enzim yang dihasilkan mikroba dan aplikasinya (Fowler M.W, 1988)

Enzim	Sumber	Aplikasi
Amylase	<i>Bacillus subtilis</i>	tekstil, pelarutan pati,
	<i>Aspergillus oryzae</i>	produksi glukosa
	<i>Penicillium roqueforti</i>	
	<i>Aspergillus niger</i>	
Penicillinase	<i>Bacillus subtilis</i>	Degradasi penisilin
Invertase	<i>Aspergillus oryzae</i>	Industri permen
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
Selulase	<i>Aspergillus niger</i>	Pengurang viskositas,
	<i>Trichoderma sp.</i>	membantu sistem pencernaan
Pektinase	<i>Aspergillus niger</i>	Klarifikasi wine dan jus buah
Protease	<i>Clostridium sp.</i>	Pelunak, membantu sistem pencernaan

Kebanyakan enzim mikroba yang digunakan secara komersial adalah ekstraseluler, dimana enzim diproduksi dalam sel kemudian dikeluarkan atau berdifusi keluar

sehingga memungkinkan untuk direcovery. Seleksi organisme produser adalah kunci dalam pengembangan proses sistem mikrobial. Berikut ini hal-hal yang perlu diperhatikan dalam memilih mikroorganisme :

- Sumber organisme stabil
- Mudah tumbuh dan berkembang sehingga biaya produksi rendah
- Produktivitas enzim tinggi
- Tidak mengeluarkan racun

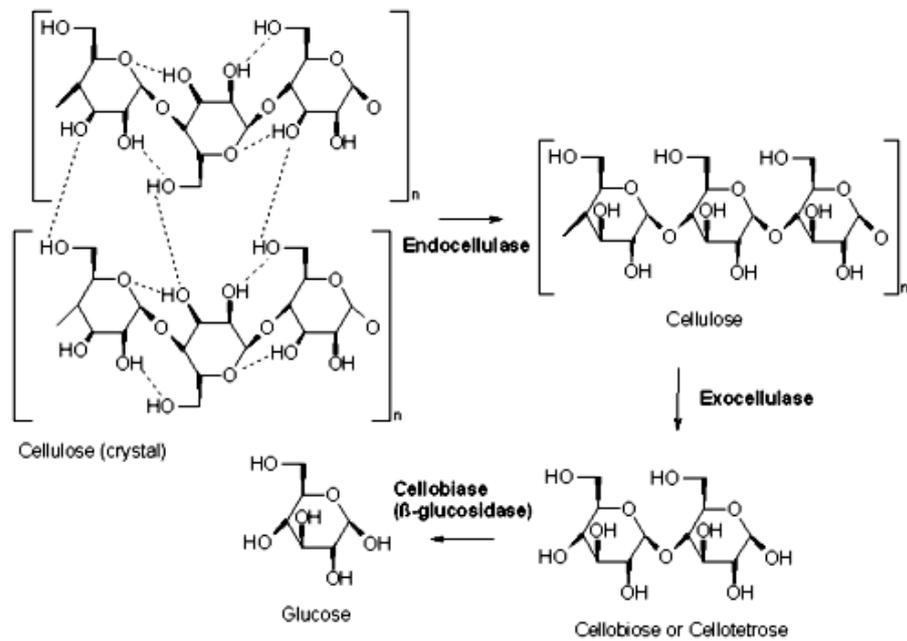
Dari semua hal tersebut, yang paling penting adalah stabilitas strain dan produktivitas enzim yang tinggi (Fowler M.W, 1988).

II.3. Selulase (E.C. 3.2.1)

Enzim yang dapat menghirolisis ikatan $\beta(1-4)$ pada selulosa adalah selulase. Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga tipe enzim ini, yaitu :

- Endo-1,4- β -D-glucanase (endoselulase, carboxymethylcellulase atau CMCase), yang mengurai polimer selulosa secara random pada ikatan internal α -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligodekstrin dengan panjang rantai yang bervariasi (Ikram dkk, 2005).
- Exo-1,4- β -D-glucanase (cellobiohydrolase), yang mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan non pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan/atau glukosa (Ikram dkk, 2005).
- β -glucosidase (cellobiase), yang mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa (Ikram dkk, 2005).

Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase dapat dilihat dalam gambar berikut :



Gambar 2.2. Mekanisme hidrolisis selulosa (en.wikipedia.org/wiki/cellulase).

Kompleks selulase digunakan secara komersial dalam pengolahan kopi. Selulase digunakan secara luas dalam industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas bahkan kadang-kadang digunakan dalam industri farmasi. Dalam krisis energi sekarang ini, selulase dapat digunakan dalam fermentasi biomassa menjadi biofuel, walaupun proses ini sifatnya masih eksperimental. Di bidang kesehatan selulase digunakan sebagai treatment untuk phytobezoars--salah satu bentuk selulosa bezoar di dalam perut manusia (en.wikipedia.org/wiki/cellulase).

Seperti yang dijelaskan di atas, selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim. Hidrolisis menggunakan asam biasanya dilakukan pada temperatur tinggi. Proses ini relatif mahal karena kebutuhan energi yang cukup tinggi. Baru pada tahun 1980-an, mulai dikembangkan hidrolisis selulosa dengan menggunakan enzim selulase (Gokhan Coral dkk, 2002).

Selulosa diproduksi oleh fungi, bakteri, tumbuhan, dan ruminansia. Produksi komersial selulase pada umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Meskipun banyak mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, hanya beberapa mikroorganisme yang memproduksi selulase dalam jumlah yang signifikan yang mampu menghidrolisa kristal selulosa secara *invitro*. Fungi adalah mikroorganisme utama yang dapat memproduksi selulase, meskipun beberapa bakteri dan *actinomycetes* telah dilaporkan juga menghasilkan aktivitas selulase. Fungi berfilamen seperti *Tricoderma*

dan *Aspergillus* adalah penghasil selulase dan *crude enzyme* secara komersial. Fungi-fungi tersebut sangat efisien dalam memproduksi selulase (Ikram dkk, 2005).

II. 4. Jenis Mikroorganisme

Jenis fungi yang biasa digunakan dalam produksi selulase antara lain sebagai berikut: *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), *Tricoderma viride* (Ikram dkk, 2005), *Tricoderma longibrachiatum*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (Omojasola dkk, 2008). Sedangkan bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, dan *Sporosphytophaga* (Indrawati Gandjar, 2006).

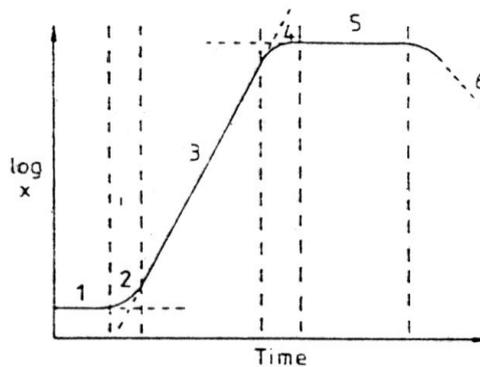
Secara luas *Aspergillus* didefinisikan sebagai suatu kelompok nukosis penyebab dari fotogenosa yang bermacam-macam. *Aspergillus niger* termasuk ke dalam kelas *Ascomycetes*. Di dalam industri *Aspergillus niger* banyak dipakai dalam proses produksi asam sitrat. Sedangkan di dalam laboratorium spesies ini digunakan untuk mempelajari tentang metabolisme pada jamur dan kegiatan enzimatik. Pada penelitian ini digunakan *Aspergillus niger* karena spesies ini termasuk fungi berfilamen penghasil selulase dan *crude enzyme* secara komersial serta penanganannya mudah dan murah. Fungi-fungi tersebut sangat efisien dalam memproduksi selulase.

Ciri-ciri umum dari *Aspergillus niger* antara lain:

- a. warna konidia hitam kelam atau hitam kecoklatan dan berbentuk bulat.
- b. bersifat termofilik, tidak terganggu pertumbuhannya karena adanya peningkatan suhu.
- c. dapat hidup dalam kelembaban nisbi 80 (Indrawati Gandjar, 2006).
- d. dapat menguraikan benzoat dengan hidrosilasi menggunakan enzim benzoat-4 hidrosilase menjadi 4-hidrosibenzoat.
- e. memiliki enzim 4-hidrosibenzoat hidrosilase yang dapat menghidrolisa 4-hidrosibenzoat menjadi 3,4-dihidroksi benzoat.
- f. natrium & formalin dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger*.
- g. dapat hidup dalam spons (*spons Hyrtios Proteus*) (Osterhage 2001).
- h. dapat merusak bahan pangan yang dikeringkan atau bahan makanan yang memiliki kadar garam tinggi.
- i. dapat mengakumulasi asam sitrat.

II.5. Pertumbuhan Mikroorganism

Setiap mikroorganism mempunyai kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan fungi mempunyai beberapa fase, antara lain : (1) fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; (2) fase akselerasi, yaitu fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif; (3) fase eksponensial, merupakan fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak, aktivitas sel sangat meningkat, dan fase ini merupakan fase yang penting bagi kehidupan fungi. Pada awal fase-fase ini kita dapat memanen enzim-enzim dan akhir pada fase ini atau (4) fase deselerasi, yaitu waktu sel-sel mulai kurang aktif membelah, kita dapat memanen biomassa sel atau senyawa-senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh sel; (5) fase stasioner, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang. Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang horizontal. Banyak senyawa metabolit sekunder yang dapat dipanen pada fase ini. Selanjutnya pada (6) fase kematian dipercepat, jumlah sel-sel yang mati lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup. Kurva pertumbuhan suatu fungi dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2.3. Kurva pertumbuhan fungi

Keterangan:

- | | |
|----------------------|--------------------|
| 1. fase lag | 4. fase deselerasi |
| 2. fase akselerasi | 5. fase stationer |
| 3. fase eksponensial | 6. fase kematian |

(Indrawati Gandjar, 2006)

Neraca massa dari pertumbuhan mikroba:

Cell mass accumulation= input – output + growth – death

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - k_d X \quad (2.1)$$

- k_d : laju kematian spesifik (jam^{-1})
 dX/dt : laju pertumbuhan mikroba (gr/L jam)
 X : konsentrasi biomassa (gr/L)
 t : waktu (jam)

Sebagaimana laju reaksi kimia, laju pertumbuhan mikroba bergantung pada konsentrasi nutrien. Dalam hubungan Monod-Type biasanya μ dinyatakan sebagai fungsi konsentrasi substrat terbatas (S).

$$\mu = \mu_{\max} \left[\frac{S}{K_s + S} \right] \quad (2.2)$$

- μ, μ_{\max} : laju pertumbuhan spesifik, maksimum (jam^{-1})
 S : konsentrasi substrat (gr/L)
 K_s : konstanta Michaelis Menten/ konstanta saturasi (gr/L)

(Abdullah dkk, 2005)

II.6. Sistem Fermentasi Padat

Fermentasi berasal dari kata latin “*fervere*” yang berarti mendidih yang menunjukkan adanya aktivitas pada ekstrak buah-buahan atau larutan malt biji-bijian. Kelihatan seperti mendidih karena terbentuknya gelembung-gelembung CO_2 akibat dari proses katabolisme secara anaerobik dari gula yang ada dalam ekstrak (Retno Wijayanto & Tri Wuri Hadayani, 2008).

Fermentasi merupakan suatu reaksi reduksi-oksidasi dalam sistem biologi yang menghasilkan energi. Senyawa organik seperti karbohidrat merupakan donor dan aseptor pada proses fermentasi (Winarno, 1984), pada penelitian yang dilakukan senyawa organik yang digunakan adalah selulosa (Retno Wijayanto & Tri Wuri Hadayani, 2008).

Fermentasi dibagi menjadi 3, yakni:

1. Fermentasi permukaan
2. Sistem fermentasi cair
3. Sistem fermentasi padat

(Retno Wijayanto & Tri Wuri Hadayani, 2008)

Penelitian yang dilakukan menggunakan metode sistem fermentasi padat. Sistem fermentasi padat umumnya diidentikkan dengan pertumbuhan mikroorganisme dalam partikel pada substrat dalam berbagai variasi kadar air. Substrat padat bertindak sebagai

sumber karbon, nitrogen, mineral, dan faktor-faktor penunjang pertumbuhan, dan memiliki kemampuan untuk menyerap air, untuk pertumbuhan mikroba (M. Saban Tanyildizi dkk, 2007).

Mikroorganisme yang tumbuh melalui sistem fermentasi padat berada pada kondisi pertumbuhan di bawah habitat alaminya, mikroorganisme tersebut dapat menghasilkan enzim dan metabolisme yang lebih efisien dibandingkan dengan sistem fermentasi cair. Sistem fermentasi padat memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan dengan sistem fermentasi cair, diantaranya tingkat produktivitasnya tinggi, tekniknya sederhana, biaya investasi rendah, kebutuhan energi rendah, jumlah air yang dibuang sedikit, recovery produknya lebih baik, dan busa yang terbentuk sedikit. Sistem fermentasi padat ini dilaporkan lebih cocok digunakan di negara-negara berkembang. Manfaat lain dari sistem fermentasi padat adalah murah dan substratnya mudah didapat, seperti produk pertanian dan industri makanan (M. Saban Tanyildizi dkk, 2007).

Enzim yang dihasilkan melalui proses sistem fermentasi padat baik yang belum dimurnikan atau yang dimurnikan secara parsial dapat diaplikasikan di industri (seperti pectinase digunakan untuk klarifikasi jus buah, alpha amylase untuk sakarifikasi pati). Murahnya harga residu pertanian dan agro-industri merupakan salah satu sumber yang kaya akan energi yang dapat digunakan sebagai substrat dalam sistem fermentasi padat. Fakta menunjukkan bahwa residu ini merupakan salah satu reservoir campuran karbon terbaik yang ada di alam. Dalam sistem fermentasi padat, substrat padat tidak hanya menyediakan nutrisi bagi kultur tetapi juga sebagai tempat penyimpanan air untuk sel mikroba (M. Saban Tanyildizi dkk, 2007).

Komposisi dan konsentrasi dari media dan kondisi fermentasi sangat berpengaruh pada pertumbuhan dan produksi enzim ekstraseluler dari mikroorganisme. Biaya dan ketersediaan substrat merupakan faktor yang penting untuk dipertimbangkan, dan karena itulah pemilihan substrat padat memegang peranan penting dalam menentukan efisiensi pada proses sistem fermentasi padat. Untuk biaya analisa awal, kira-kira 60 dan 50% untuk biaya medium fermentasi dan pengaturan proses *down-stream*. Sehingga dapat diketahui bahwa sistem fermentasi padat cocok untuk pengembangan fungi dan tidak cocok untuk proses kultur bakteri karena membutuhkan air yang lebih banyak (M. Saban Tanyildizi dkk, 2007).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pertumbuhan fungi :

a. Konsentrasi substrat

Substrat merupakan sumber nutrisi utama bagi fungi. Nutrien-nutrien baru dapat dimanfaatkan sesudah fungi mengekskresi enzim-enzim ekstraselular yang dapat mengurai senyawa-senyawa kompleks dari substrat tersebut menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Indrawati Gandjar, 2006).

b. Sumber nitrogen

Bahan yang banyak sebagai sumber nitrogen adalah ammonium nitrat, ammonium sulfat, dan urea. Nitrogen diperlukan dalam proses fermentasi karena dapat mempengaruhi aktivitas dari *Aspergillus niger*. Pada proses fermentasi untuk menghasilkan enzim selulase sumber nitrogen yang optimal adalah urea (Narasimha G dkk, 2006).

c. Fosfat

Kebutuhan fosfat dalam proses pertumbuhan fungi tidak banyak dijelaskan tetapi keseimbangan antara mangan, seng, dan fosfat merupakan salah satu faktor penentu dalam beberapa kasus dimana terjadi kontaminasi ion logam tertentu maka adanya fosfat dapat memberikan keuntungan (Indrawati Gandjar, 2006).

d. Magnesium

Magnesium berfungsi sebagai kofaktor dalam mengatur jumlah enzim yang terlibat dalam reaksi. Dalam sel konsentrasi optimal dari penambahan magnesium adalah 0,002-0,0025% (Indrawati Gandjar, 2006).

e. Aerasi

Dalam media fermentasi padat, aerasi diatur dengan cara memperhatikan pori-pori bahan yang difermentasikan (Indrawati Gandjar, 2006). Aerasi berfungsi untuk mempertahankan kondisi aerobik untuk desorpsi CO₂, mengatur temperatur substrat, dan mengatur kadar air (Prior dkk, 1980). Aerasi yang diberikan juga membantu menghilangkan sebagian panas yang dihasilkan sehingga temperatur dapat dipertahankan pada temperatur optimal untuk produksi enzim (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995).

Tingkat aerasi optimal yang diberikan dipengaruhi oleh sifat mikroorganisme yang digunakan. Tingkat O₂ yang dibutuhkan untuk sintesis produk, jumlah panas metabolik yang harus dihilangkan dari bahan, ketebalan lapisan substrat, tingkat CO₂, dan metabolit-metabolit lain yang mudah menguap harus dihilangkan, dan tingkat ruang udara yang tersedia di dalam substrat (Lonsane dkk, 1985).

f. pH

pH substrat sangat penting untuk pertumbuhan fungi, karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai suatu substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu. Umumnya fungi menyukai pH di bawah 7. Jenis-jenis khamir tertentu bahkan tumbuh pada pH yang cukup rendah, yaitu pH 4,5 – 5,5. Pengaturan pH sangat penting dalam industri agar fungi yang ditumbuhkan menghasilkan produk yang optimal, misalnya pada produksi asam sitrat, produksi enzim, produksi antibiotik, dan juga untuk mencegah pembusukan bahan pangan (Indrawati Gandjar, 2006).

g. Temperatur inkubasi

Berdasarkan kisaran suhu lingkungan yang baik untuk pertumbuhan, fungi dapat dikelompokkan sebagai fungi psikrofil, mesofil, dan termofil. Pengetahuan tentang kisaran temperatur pertumbuhan suatu fungi sangat penting, terutama bila isolat-isolat tertentu akan digunakan di industri. Misalnya, fungi yang termofil atau termotoleran (*Candida tropicalis*, *Paecilomyces variotii*, dan *Mucor miehei*), dapat memberikan produk yang optimal meskipun terjadi peningkatan temperatur, karena metabolisme fungsinya, sehingga industri tidak memerlukan penambahan alat pendingin (Indrawati Gandjar, 2006).

h. Waktu fermentasi

Pada awal fermentasi aktivitas enzim masih sangat rendah. Aktivitas enzim akan meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi dan menurun pada hari ke-10. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995).

Organisme pembentuk spora biasanya memproduksi enzim pada fase pasca eksponensial. Jadi dapat diduga bahwa pada saat aktivitas enzim yang dihasilkan tinggi, maka kapang telah berada pada fase tersebut (Suhartono, 1989). Pada temperatur 31°C aktivitas tertinggi diperoleh setelah hari ke-4 fermentasi, akan tetapi pada hari ke-6 mengalami penurunan aktivitas enzim dan pada hari ke-8 mengalami kenaikan kembali (Abdul Aziz Darwis dkk, 1995).

i. Moisture Content

Moisture content merupakan faktor penting dalam proses sistem fermentasi padat karena variabel ini dapat berpengaruh pada pertumbuhan mikroorganisme, biosintesis, dan sekresi enzim. Moisture content yang rendah menyebabkan

berkurangnya kelarutan nutrien di dalam substrat, derajat pertumbuhan rendah, dan tegangan air tinggi. Sedangkan level moisture content yang lebih tinggi dapat menyebabkan berkurangnya yield enzim yang dihasilkan karena dapat mereduksi porositas (jarak interpartikel) pada matriks padatan, sehingga menghalangi transfer oksigen (Md. Zahangir Alam dkk, 2005). Moisture content yang optimal untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah 85% (Giselle Maria Maciel dkk, 2008).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

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 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.

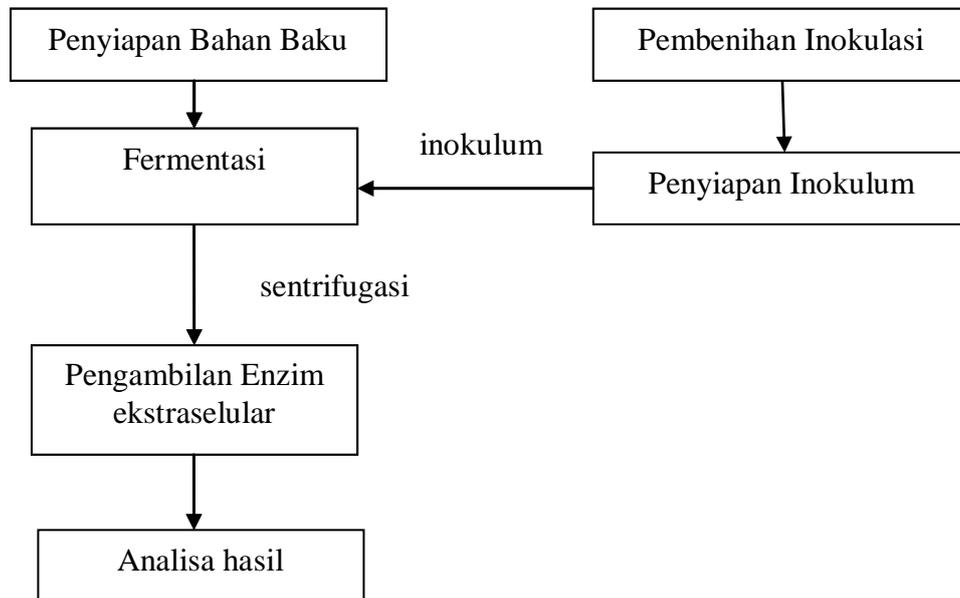
5. Pengambilan enzim

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

Adapun proses secara singkat dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram alir produksi enzim selulase

III.1 RANCANGAN PERCOBAAN

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

Tabel 3.1. 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
 - MgSO₄.7H₂O : 5 mg
 - KH₂PO₄ : 2,3 mg
- Suhu fermentasi : ±30°C
- pH fermentasi : 5

III.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang mengandung enzim ekstraseluler diambil sebanyak 1 ml untuk tiap variabel kemudian dilakukan analisa protein dan uji aktivitas enzim.

III.1.2 Respon yang Diamati

Respon yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Kadar protein dalam *crude enzyme* menggunakan metode Lowry
- Aktivitas enzim selulase yang terbentuk menggunakan metode DNS

III.1.3 Pengolahan data

Data hasil yang diperoleh tiap variabel, dibuat tabel dan grafik sehingga kondisi optimum dari masing-masing variabel yang berpengaruh dapat diketahui.

III.2 Alat dan Bahan yang Digunakan

III.2.1 Alat

- Autoclave
- Spektrofotometer
- Api bunsen
- Centrifuge
- Cuvet
- Inkubator
- Timbangan
- Screen/ayakan
- Kuvet
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- kertas pH
- Pengaduk
- Pipet
- Corong
- Erlenmeyer
- Labu takar
- Cawan petri
- Kawat ose
- Lemari aseptis

III.2.2 Bahan

- Jerami
- Aquadest
- KH_2PO_4
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- Na_2CO_3
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Folin phenol
- KOH
- Urea
- HCl
- NaOH
- Spiritus
- Sodium potassium tartrat
- BSA (bovine serum albumin)
- glukosa standart
- alkohol 96%
- PDA (Potato Dextrose Agar)
- DNS (dinitrosalicylic acid)

III.2.3 Gambar Alat



(a) Centrifuge



(b) Autoclave



(c) Inkubator



(d) Spektrofotometer

Gambar 3.2. Alat yang digunakan

III.3 Prosedur Percobaan

III.3.1 Pemilihan Mikroba

Mikroba yang digunakan dalam pembuatan enzim adalah *Aspergillus niger* dari Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.

III.3.2 Pembenuhan Inokulasi

- Mikroba yang digunakan adalah *Aspergillus niger*. Pembenuhan dilakukan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) 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.

III.3.3 Penyiapan Inokulum

- 100 ml media cair (media cair ini terdiri dari sukrosa 12,5%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,25%, KH_2PO_4 0,2%), api bunsen, dan kawat ose disiapkan.
- pH media cair diatur dengan HCl hingga pH=3.
- Ujung kawat ose dicelupkan ke dalam alkohol 96% lalu dipanaskan pada api bunsen sampai berwarna merah.
- Biakan *Aspergillus niger* dari media PDA diambil dengan menggunakan kawat ose lalu dicelupkan beberapa saat pada media cair hingga tampak keruh.
- Media cair ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam
- Pekerjaan ini dilakukan di ruang aseptik.

III.3.4 Produksi Enzim selulase

- Jerami dicacah dengan ukuran tertentu kemudian dijemur selama sehari.
- Jerami dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml sesuai variabel (moisture content dan waktu fermentasi) dengan nutrisi antara lain: urea, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , dalam media cair padat.

- Aquadest ditambahkan dalam jerami hingga didapat moisture content 75%, 80%, 85%, 90%.
- pH diatur hingga pH=5 lalu media disterilkan di dalam autoclave pada suhu 120°C selama 15 menit.
- Media yang telah disterilkan kemudian didinginkan.
- Suspensi spora ditambahkan dengan konsentrasi ± 3 juta/ml disebar merata pada media tersebut dengan perbandingan 1 bagian suspensi spora dalam 10 bagian media.
- Media diinkubasi pada suhu $\pm 30^\circ\text{C}$ dengan waktu fermentasi 48, 72, 96, 120, 144 jam.

III.3.5 Pengambilan Enzim

- Hasil fermentasi diekstrak dengan aquadest dengan perbandingan 5 bagian aquadest per 1 bagian massa.
- Endapan dan cairan hasil fermentasi dipisahkan dengan menggunakan centrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit.
- Cairan yang diperoleh kemudian diambil untuk analisa protein dan diuji aktivitas enzimnya.

III.3.6 Analisa Hasil Penelitian

- Uji aktivitas enzim

Untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim selulase maka perlu dilakukan uji aktivitas dengan menentukan kadar glukosa sebagai hasil hidrolisa dengan tahapan analisa sebagai berikut:

❖ Pembuatan kurva standart:

- 1 ml aquadest dimasukkan ke dalam tabung reaksi kosong dan 5 tabung reaksi kosong lainnya diisi dengan 1 ml larutan glukosa standart (0,25-1,5 mg/ml).
- 1 ml reagen DNS (100 mg DNS dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan ditambah dengan beberapa tetes KOH 2 M) dan 2 ml aquadest ditambahkan pada tiap tabung reaksi menggunakan pipet.
- Semua tabung reaksi dipanaskan di dalam water bath selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dengan DNS.
- Tabung reaksi didinginkan dan ditambah dengan aquadest hingga volumenya menjadi 10 ml kemudian dikocok agar bercampur.

- Absorbansi tiap larutan diukur pada 540 nm (Ceirwyn, 1995).
- Konsentrasi glukosa standar ditunjukkan dengan kurva standar.
- ❖ Analisa Glukosa :
 - 1 ml sampel enzim diambil kemudian ditambahkan kapas 1%.
 - 1 ml reagen DNS (100 mg DNS dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan ditambah dengan beberapa tetes KOH 2 M) dan 2 ml aquadest ditambahkan pada tiap tabung reaksi menggunakan pipet.
 - Tabung reaksi dipanaskan di dalam water bath selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dengan DNS.
 - Tabung reaksi didinginkan dan ditambah dengan aquadest hingga volumenya menjadi 10 ml kemudian dikocok agar bercampur.
 - Absorbansi tiap larutan diukur pada 540 nm (Ceirwyn, 1995).
 - Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi glukosa pada sampel.

- Penentuan Kadar Protein

Analisa protein yang digunakan adalah dengan menggunakan metode Lowry sehingga dapat diperoleh data absorbansi. Kemudian dihitung kadar proteinnya dengan menggunakan kurva standar. Dari hasil kurva standar diperoleh kadar protein dengan satuan mg/ml. Kemudian dibuat grafik hubungan antara variabel proses terhadap kadar protein yang terbentuk.

- ❖ Pembuatan kurva standart:

- a) Reagen pembentuk kompleks dibuat dengan perbandingan 49 bagian larutan Na_2CO_3 dan 1 bagian larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /sodium potassium tartrat.
 - Larutan Na_2CO_3 : 2% (b/v) Na_2CO_3 dalam aquadest.
 - Larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 1% (b/v) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam aquadest.
 - Larutan sodium potassium tartrat: 2% (b/v) sodium potassium tartrat dalam aquadest.
- b) 1 ml larutan standar BSA (bovine serum albumin) diambil dengan konsentrasi sebagai berikut: 0 mg/l (aquadest); 50 mg/l; 100 mg/l; 200 mg/l; 250 mg/l, kemudian dimasukkan ke dalam cuvet.
- c) Ditambah dengan 0,3 ml NaOH 1N, 0,5 ml H_2O .

- d) 3 ml reagen pembentuk kompleks ditambahkan , kemudian larutan didiamkan selama 10 menit.
 - e) 0,3 ml reagen folin phenol ditambahkan, kemudian larutan dicampur hingga homogen lalu didiamkan selama 45 menit.
 - f) Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 578 nm.
 - g) Kurva standar dibuat dengan mengplotkan harga absorbansi sebagai fungsi dari konsentrasi protein.
- ❖ Analisa protein:
- a) 1 ml sampel diambil kemudian ditambah dengan 0,3 ml NaOH, 0,5 ml aquadest ke dalam cuvet.
 - b) Ditambah dengan 3 ml reagen pembentuk kompleks, kemudian larutan didiamkan selama 10 menit.
 - c) Ditambah 0,3 ml reagen folin phenol, kemudian larutan dicampur hingga homogen lalu didiamkan selama 45 menit.
 - d) absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 578 nm.
 - e) Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi protein pada sampel.

BAB IV

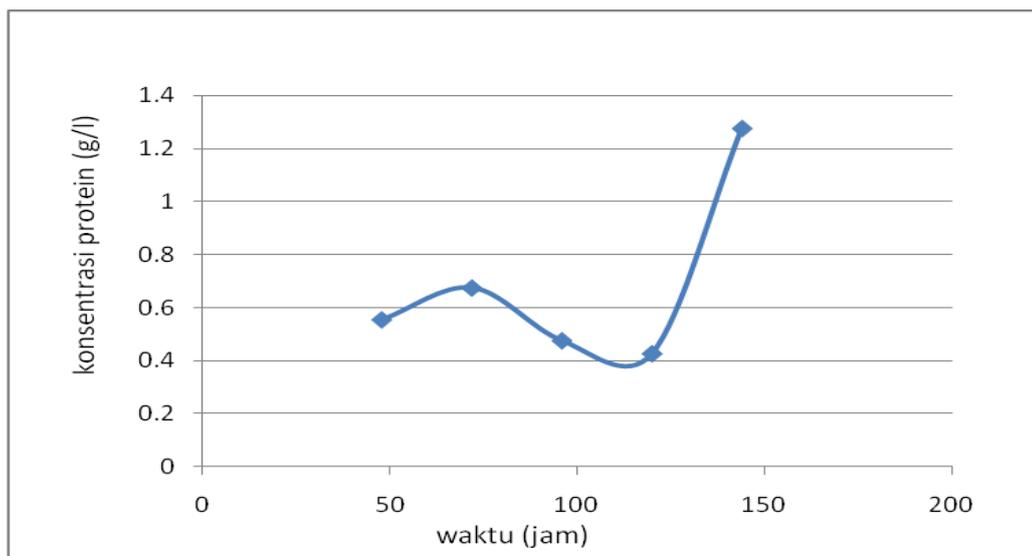
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1. Hubungan antara waktu terhadap konsentrasi protein

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap moisture content 90%, 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. Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Hasil analisa kadar protein dengan menggunakan metode Lowry secara lengkap disajikan pada tabel 4.1 dan gambar 4.1.

Tabel 4.1. 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

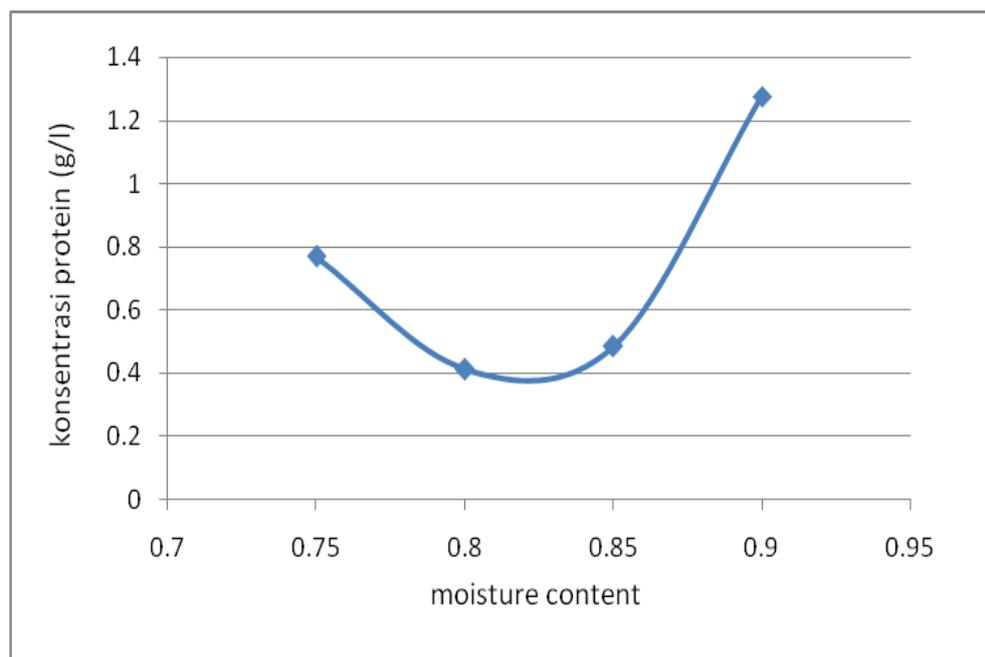


Gambar 4.1. Grafik hubungan waktu (jam) terhadap konsentrasi protein (mg/l) pada variabel moisture content 90%

Pada gambar 4.1 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.

IV.2. Hubungan antara moisture content terhadap konsentrasi protein

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap waktu 144 jam, 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 $30^\circ C$. Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Hasil analisa kadar protein dengan menggunakan metode Lowry secara lengkap disajikan pada tabel 4.1 dan gambar 4.2.



Gambar 4.2. Grafik hubungan moisture content terhadap konsentrasi protein (g/l) pada variabel waktu 144 jam

Pada gambar 4.2 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

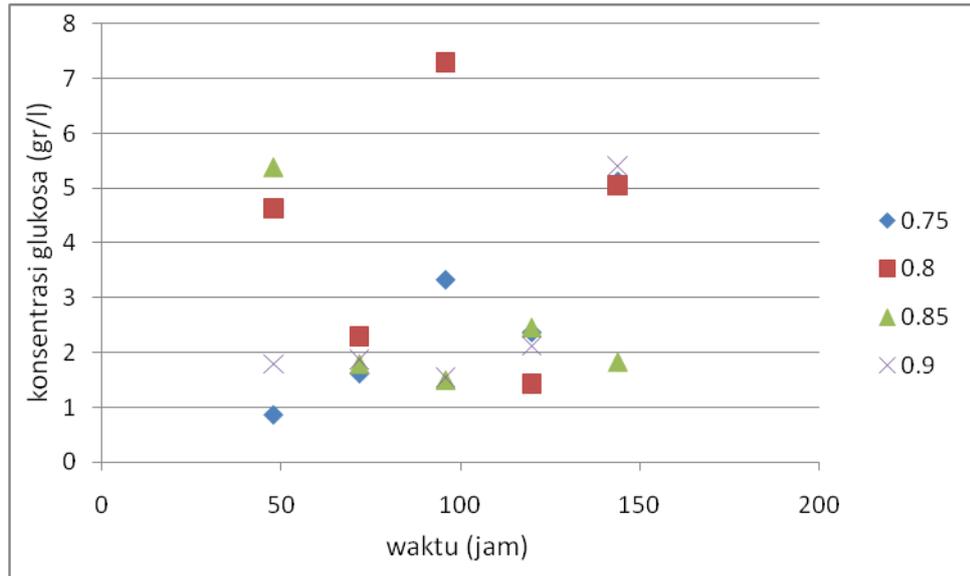
menurun, tetapi kelarutan nutrient dalam media semakin tinggi. Kadar protein tertinggi dihasilkan pada moisture content 90% yaitu sebesar 1,28 g/l. Hal ini disebabkan oleh tingginya kelarutan nutrien dalam media sehingga suplai nutrien untuk *Aspergillus niger* tumbuh semakin besar. Moisture yang terlalu tinggi dapat mengurangi porositas padatan sehingga menghalangi transfer oksigen. Moisture yang terlalu rendah menyebabkan berkurangnya kelarutan nutrien dalam substrat. (Md. Zahangir Alam dkk, 2005; Giselle Maria Maciel dkk, 2008).

IV.3. Uji aktivitas enzim selulase

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap nutrien dalam media (urea 30 mg, MgSO₄.7H₂O 5 mg, KH₂PO₄ 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 4.2 dan gambar 4.3.

Tabel 4.2. 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 4.3. 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 lignoselulolitik 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.

BAB V

PENUTUP

V.1. Kesimpulan

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

V.2. Saran

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