

AKTIVITAS *Fusarium oxysporum* DALAM MENGHIDROLISIS ECENG GONDOK (*Eichhornia crassipes*) DENGAN VARIASI WAKTU FERMENTASI

Trisianti, S.Y. Sarjono, P.R. Mulyani, N.S
Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

ABSTRAK

Aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan variasi waktu fermentasi dilakukan untuk mendapatkan *Fusarium oxysporum* yang telah diadaptasikan pada media fermentasi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) serta mendapatkan data aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) pada variasi waktu fermentasi. Aktivitas *Fusarium oxysporum* didasarkan pada kemampuan *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok berdasar pertambahan massa sel (berat kering) yang dihasilkan. Pada penelitian ini diperoleh *Fusarium oxysporum* yang mampu tumbuh pada media fermentasi eceng gondok dan aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok terjadi pada waktu fermentasi optimum jam ke-167 yang merupakan fase eksponensial dari *Fusarium oxysporum*.

Kata kunci: *Fusarium oxysporum*, selulosa, delignifikasi, eceng gondok

ABSTRACT

Fusarium oxysporum activity to hydrolyze water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) with variations of fermentation time taken to get the *Fusarium oxysporum* that have adapted to the fermentation medium of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and obtain activity data of *Fusarium oxysporum* in hydrolyzing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) on variations of fermentation time. Activities *Fusarium oxysporum* based on the ability to hydrolyze water hyacinth mass accretion based cell (dry weight) produced. This research found that *Fusarium oxysporum* capable of growing on water hyacinth fermentation media and the activity of *Fusarium oxysporum* to hydrolyze water hyacinth occurred at optimum fermentation time at hours-168 which is the exponential phase of *Fusarium oxysporum*.

Keyword: *Fusarium oxysporum*, cellulose, delignification, water hyacinth

1. PENDAHULUAN

Selulosa adalah karbohidrat dkk., 2010). Selulosa merupakan paling melimpah dan sering polisakarida yang tidak pernah habis ditemukan di alam (Ramanathan dan mudah diperbarui serta terdiri

atas monomer glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4-glikosida (Ja'afaru dan Fagade, 2010). Dengan menghidrolisis ikatan glikosida dapat diperoleh glukosa yang kemudian diharapkan dapat digunakan untuk berbagai tujuan, seperti produksi sirup gula, asam organik (Cai Hao dkk., 2006) dan bioetanol (Kamara dkk., 2006).

Selulosa banyak terdapat dalam tumbuhan, salah satu tumbuhan yang mempunyai kandungan selulosa adalah eceng gondok. Eceng gondok merupakan tanaman yang hidup mengapung di air dan kadang-kadang berakar ditanah. Eceng gondok menghasilkan bahan organik yang dapat mempercepat proses pendangkalan, juga mengurangi produksi ikan karena kerapatan tumbuhan menghalangi masuknya sinar matahari ke dalam air dan menghambat proses aerasi. Eceng gondok dapat dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi sebagai alternatif substrat lignoselulosa (Deshpande dkk., 2010) dan media pertumbuhan mikroorganisme. Kandungan eceng gondok meliputi:

selulosa sebanyak 21,5%, lignin 7,01%, dan hemiselulosa 33,9%.

Adanya lignin yang terkandung dalam eceng gondok dapat mempengaruhi proses hidrolisis dalam menghasilkan produk, sehingga perlu dilakukan pretreatment penghilangan lignin dengan delignifikasi. Delignifikasi dapat dilakukan dengan cara penambahan basa alkali seperti NaOH (Mosier dkk., 2005).

Kandungan selulosa yang tinggi dapat dihidrolisis menjadi glukosa. Proses hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme selulolitik, salah satunya adalah *Fusarium oxysporum*. Berdasarkan penelitian Ramanathan dkk. (2010) membuktikan bahwa spesies *Fusarium oxysporum* dapat tumbuh dengan optimum dalam media agar CMC pada pH 6 dengan waktu inkubasi 8 hari dan menghasilkan aktivitas CMCase sebesar 1,92 U/mL.

Penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan eceng gondok sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan *Fusarium oxysporum* dan mengetahui waktu fermentasi

terhadap aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan mengukur massa sel (berat kering) yang dihasilkan.

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan *Fusarium oxysporum* yang telah diadaptasikan pada media fermentasi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) serta mendapatkan data aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok pada variasi waktu fermentasi.

2. METODOLOGI

2.1 Bahan dan Alat

Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam percobaan ini meliputi biakan murni kapang *Fusarium oxysporum*, eceng gondok, akuades, media *Potato Dextrose Agar*, media *Potato Dextrose Broth*, media fermentasi *Carboxymethyl cellulose*, media fermentasi eceng gondok, *buffer* asetat pH 6, NaOH teknis, *yeast extract*, pepton, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCl_2 , MgSO_4 , FeSO_4 , FeCl_3 .

Alat

Alat yang digunakan terdiri atas alat-alat gelas laboratorium kimia,

lampu spirtus, autoklaf, penangas air, mikropipet, alumunium foil, kompor listrik, kertas label, pH meter, korek api, kertas saring, tabung reaksi, rak tabung reaksi, blender, kapas, kain kasa, botol semprot, pipet tetes dan botol vial 120 mL.

2.2 Peremajaan *Fusarium oxysporum* pada media *Potato Dextrose Agar*

Sebanyak satu jarum ose *Fusarium oxysporum* yang berasal dari isolat murni dalam stok agar miring diambil dan diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi media PDA kemudian difermentasikan dalam suhu ruang. Peremajaan *Fusarium oxysporum* pada media PDA dilakukan sebanyak 2 kali.

2.3 Peremajaan *Fusarium oxysporum* pada media *Potato Dextrose Broth*

Sebanyak satu jarum ose kapang *Fusarium oxysporum* dari media PDA baru ditempatkan secara aseptik pada 50 mL media PDB yang telah disterilkan dan difermentasikan dalam inkubator *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 50 rpm selama 192 jam.

2.4 Delignifikasi eceng gondok

Eceng gondok yang sudah dikeringkan, dilarutkan dengan larutan NaOH 2%, kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 3 jam (Hamisan dkk., 2009). Larutan disaring dengan kertas saring, selanjutnya residu larutan yang merupakan eceng gondok bebas lignin dicuci dengan akuades hingga pH residu netral. Eceng gondok dikeringkan di dalam oven dan diblender hingga berbentuk serbuk. Serbuk kemudian diayak dengan ukuran 100 mesh. Serbuk hasil ayakan tersebut yang digunakan untuk uji lanjutan. Untuk memastikan lignin sudah terlepas dari selulosa, maka dilakukan uji kualitatif lignin dengan FeCl₃. Sampel yang digunakan adalah filtrat hasil delignifikasi eceng gondok yang telah disaring dan diukur pHnya. Air hasil penyaringan yang pertama diperoleh filtrat dengan pH 14 dan air hasil penyaringan eceng gondok yang telah dicuci menggunakan akuades hingga didapat filtrat dengan pH 7 (netral) dipisahkan, kemudian masing-masing sampel ditambahkan FeCl₃

sebanyak 3 atau 4 tetes. Setelah ditambahkan FeCl₃ kemudian diamati perubahan warna yang terjadi tiap sampel.

2.5 Fermentasi *Fusarium oxysporum* pada media *Carboxymethyl cellulose*

Sebanyak 0,5 mL isolat *Fusarium oxysporum* dari media *Potato Dextrose Broth* diambil dan diinokulasikan ke dalam 50 mL media *Carboxymethyl cellulose*, kemudian difermentasikan dalam inkubator *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 50 rpm selama 192 jam.

2.6 Fermentasi *Fusarium oxysporum* pada media eceng gondok

Sebanyak 0,5 mL isolat *Fusarium oxysporum* dari media *Carboxymethyl cellulose* diambil dan diinokulasikan ke dalam 50 mL media eceng gondok, kemudian difermentasikan dalam inkubator *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 50 rpm selama 192 jam.

2.7 Penentuan aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok

dengan variasi waktu fermentasi

Sebanyak 30 buah botol vial 120 mL diisi masing-masing dengan 50 mL media eceng gondok dalam *buffer* asetat pH 6, kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 20 menit. Pada 20 buah botol vial masing-masing ditambahkan 0,5 mL inokulum kapang *Fusarium oxysporum* (sebagai sampel) secara aseptik dan 10 buah botol vial yang lain dijadikan sebagai kontrol negatif yang hanya berisi media saja. Sebanyak 30 buah botol vial tersebut difermentasikan dalam inkubator *shaker* pada suhu ruang, selanjutnya sampel diambil tiap 24 jam sekali selama kurun waktu 240 jam untuk diukur berat keringnya. Penentuan pertumbuhan kapang *Fusarium oxysporum* dilakukan menggunakan metode pengukuran berat kering. Data yang didapatkan adalah jumlah berat kering yang diplotkan terhadap waktu sehingga akan diperoleh grafik jumlah berat kering vs waktu.

3. HASIL

3.1 Delignifikasi

Di alam selulosa selalu berikatan dengan lignin dan hemiselulosa

membentuk suatu lignoselulosa. Keberadaan lignin akan menghambat proses hidrolisis selulosa karena lignin merupakan molekul kompleks yang terdiri atas unit-unit fenilpropana yang umumnya sulit didegradasi (Taherzadeh dan Karimi, 2008).

Serbuk eceng gondok dilarutkan dengan larutan NaOH agar lignin dapat larut dan selulosa dapat mengendap pada kondisi alkali sehingga dengan penambahan NaOH, selulosa akan mengendap (Richana dkk., 2007). Lignin dalam larutan NaOH akan membentuk garam fenolat yang larut dalam air. Garam fenolat terbentuk maka ikatan antara selulosa dengan lignin akan lepas sehingga diperoleh selulosa dalam keadaan bebas lignin. Tahap selanjutnya dilakukan uji kualitatif lignin dengan menggunakan FeCl_3 pada filtrat hasil penyaringan yang bertujuan untuk mengetahui apakah lignin sudah terlepas dari selulosa. Analisa dengan menambahkan larutan FeCl_3 untuk mendeteksi adanya senyawa dengan gugus fenol, dimana reaksi positif jika sampel yang ditambahkan FeCl_3

memberikan perubahan warna merah hingga keunguan (Orchidea dkk., 2010). Hasil yang diperoleh pada filtrat dengan pH 14 terjadi perubahan warna yang semula berwarna coklat pekat menjadi merah bata sedangkan pada filtrat dengan pH 7 terjadi perubahan warna yang semula bening menjadi kuning setelah ditambahkan larutan FeCl_3 . Hal ini disebabkan filtrat pada pH 14, garam fenolat bereaksi dengan FeCl_3 dan membuktikan bahwa lignin telah larut bersama air hasil penyaringan sedangkan pada filtrat pH 7 tidak ada garam fenolat yang bereaksi dengan FeCl_3 karena telah mengalami proses pencucian dengan akuades sehingga tidak ada lignin yang tertinggal dalam filtrat.



Gambar 1. Hasil uji kualitatif lignin menggunakan FeCl_3

Setelah dilakukan pengujian lignin menggunakan FeCl_3 , kemudian dilanjutkan pengeringan eceng gondok hasil delignifikasi

dengan oven hingga kering (tidak ada kandungan airnya), kemudian eceng gondok diblender hingga halus dan diayak dengan ukuran 100 mesh sehingga menjadi serbuk eceng gondok.



Gambar 2. Serbuk eceng gondok dengan ukuran 100 mesh

3.2 Peremajaan dan adaptasi

Fusarium oxysporum

Hasil yang diperoleh pada peremajaan adalah kontrol positif ditandai dengan adanya miselium berwarna putih (pada media PDA) dan miselium berwarna putih keunguan (pada media PDB) yang menunjukkan tumbuhnya *Fusarium oxysporum* sedangkan pada kontrol negatif pada media PDA maupun PDB tidak adanya miselium yang tumbuh karena pada kontrol negatif tidak ditambahkan dengan *Fusarium oxysporum*.

Pengadaptasian *Fusarium oxysporum* pada media CMC dan media eceng gondok yang ditambah dengan mineral pengaya dilakukan

agar *Fusarium oxysporum* menjadi aktif dan siap untuk digunakan dalam proses fermentasi selanjutnya. Hasil yang diperoleh dalam media CMC dan media eceng gondok adalah pada kontrol positif dengan adanya miselium menunjukkan bahwa *Fusarium oxysporum* telah tumbuh sedangkan kontrol negatif tidak adanya miselium yang tumbuh karena media kontrol negatif tidak ditambahkan *Fusarium oxysporum*.



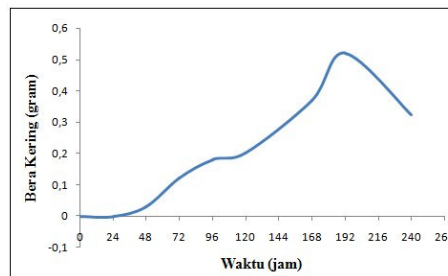
Gambar 3. Hasil pengadaptasian *Fusarium oxysporum* pada media CMC (*Carboxymethyl cellulose*)



Gambar 4. Hasil pengadaptasian *Fusarium oxysporum* pada media eceng gondok

3.3 Aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi waktu fermentasi

Aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok pada variasi waktu fermentasi dilakukan dengan metode berat kering yaitu dengan menghitung pertambahan massa sel dari *Fusarium oxysporum* selama 240 jam. Pengukuran pertambahan massa sel dari *Fusarium oxysporum* yaitu dengan menghitung berat kering kapang selama 240 jam. Setiap 24 jam, *Fusarium oxysporum* dalam media cair diambil untuk disaring dan dikeringkan menggunakan oven kemudian ditimbang berat kering dari *Fusarium oxysporum*.



Gambar 5. Grafik aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi waktu fermentasi

Pada jam ke-24 dan 48 merupakan fase adaptasi. Pada fase ini kapang masih beradaptasi dengan nutrien di lingkungan yang baru sehingga pertumbuhan kapang belum optimal. Pada jam ke-48 sampai ke-

168 merupakan fase eksponensial yang ditandai dengan kenaikan jumlah massa sel dari *Fusarium oxysporum* yang cukup besar, hal ini mengindikasikan bahwa pada *range* waktu tersebut *Fusarium oxysporum* membelah dengan cepat dan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* mencapai kondisi optimal. Fase stasioner terjadi antara jam ke-192 sampai ke-216, dimana kecepatan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* menurun karena berkurangnya nutrisi pada media. Pada fase ini sel *Fusarium oxysporum* mulai mengalami kematian walaupun jumlah sel yang tumbuh masih sama dengan jumlah sel yang mati. Pada jam ke-216 sampai ke-240 merupakan fase kematian yang terlihat dari berkurangnya massa sel secara cepat. Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah sel *Fusarium oxysporum* yang mati lebih banyak lagi dikarenakan kekurangan nutrisi dan dihasilkannya metabolit sekunder yang bersifat toksik.

Dari gambar 5 dapat diketahui bahwa waktu yang tepat untuk panen sel *Fusarium oxysporum* agar dapat digunakan untuk proses fermentasi

selanjutnya yaitu pada jam ke-168 yang berada pada fase eksponensial. Pada fase ini pertumbuhan sel *Fusarium oxysporum* yang paling maksimal sehingga pada fase ini juga akan dihasilkan enzim selulolitik (selulase) yang maksimal.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dipaparkan sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini diperoleh *Fusarium oxysporum* yang mampu tumbuh pada media fermentasi eceng gondok dan aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok terjadi pada waktu fermentasi optimum jam ke-168 yang merupakan fase stasioner dari *Fusarium oxysporum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Cai Hao, X., Bin Yu, X., dan Li Yan, Zhong., 2006, Optimization of The Medium for The Production of Cellulose by The Mutant *Trichoderma reesei* WX-112 Using Response Surface Methodology, *Food Technol. Biotechnol.*, 44(1), 89-94
- Deshpande, S.K., Bhotmange, M.G., Chakrabarti, T., dan Shastri, P.N., 2008, Production of

- Cellulase and Xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 Mutant), *Aspergillus niger* and Mixed Culture by Solid State Fermentation (SSF) of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*), *Indian Journal of Chemical Technology*, 15, 449-456
- Hamisan, A.F., Abd-Aziz, S., Kamaruddin, K., Shah, U.K., Shahab, N., dan Hassan, M.A., 2009, Delignification of Oil Palm Empty Fruit Bunch using Chemical and Microbial Pretreatment Methods, *International Journal of Agricultural Research*, 1-7
- Ja'afaru, M.I., dan Fagade, O.E., 2010, Optimization Studies on Cellulase Enzyme Production by an Isolated Strain of *Aspergillus niger* YL 128, *African Journal of Microbiology Research*, 4(24), 2635-2639
- Kamara, D.S., Rachman, S.D., dan Gaffar, S., 2006, Degradasi Enzimatik Selulosa dari Batang Pohon Pisang untuk Produksi Enzim Selulase dari Kapang *Trichoderma viride*, *Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Bandung*, 19-27
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., dan Ladisch, M., 2005, Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, *Bioresource Technology*, 96, 673-686
- Orchidea, R., Andi K.W., Dedy R.P., Lisa F.S., Khoir L., Reza P., dan Cakra D.M., 2010, Pengaruh Metode Pretreatment pada Bahan Lignosellulosa terhadap Kualitas Hidrolisat yang dihasilkan, *Ketahanan Pangan dan Energi*, ISSN 1978-0427
- Ramanathan, G., Banupriya, S., dan Abirami, D., 2010, Production and Optimization of Cellulase from *Fusarium oxysporum* by Submerged Fermentation, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 69, 454-459
- Richana, N., Irawadi, T.T., Nur, M.A., Sailah, I., Syamsu, K., dan Arkenan, Y., 2007, Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung, *J. Pascapanen*, 4(1), 38-43
- Taherzadeh, M.J., dan Karimi, K., 2007, Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials : A Review, *Bioresources*, 2(3), 472-499
- Taherzadeh, M.J., dan Karimi, K., 2007, Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review, *Bioresources*, 2(4), 707-738