

# KORELASI ANTARA AKTIVITAS ENZIM MANANASE DAN SELULASE TERHADAP KADAR SERAT LUMPUR SAWIT HASIL FERMENTASI DENGAN *ASPERGILLUS NIGER*

TRESNAWATI PURWADARIA, A. P. SINURAT, T. HARYATI, I. SUTIKNO, SUPRIYATI, dan J. DARMA

Balai Penelitian Ternak  
P.O. Box 221, Bogor 16002, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 28 Desember 1998)

## ABSTRACT

TRESNAWATI PURWADARIA, A. P. SINURAT, T. HARYATI, I. SUTIKNO, SUPRIYATI, dan J. DARMA. 1998. The correlation between mannanase and cellulase activities towards fibre content of palm oil sludge fermented with *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3(4): 230-236.

Enzyme (mannanase and cellulase) activities and fibre (hemicellulose, cellulose and lignin) contents were determined during the fermentation course of palm oil sludge with *Aspergillus niger* TL (wild type) and *A. niger* ES1 (an asporogenous mutant). The analyses were carried out at the incubation time of 3 and 4 days of aerobic fermentation and at 2 days of anaerobic fermentation afterward. The correlations between mannanase activity with hemicellulose content and cellulase activity with cellulose content were calculated by linear regression. The activities of mannanase and cellulase are increasing during the aerobic fermentation, while in the anaerobic fermentation the enzyme activities are decreasing due to instability of the enzymes. The enzyme activities of ES1 are higher than the TL. The regression coefficient is highly significant for correlation between mannanase and hemicellulose content of fermented product by ES1 ( $r = 0.83$ ;  $P < 0.01$ ). While other correlations are not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Mannanase and cellulase activities were also detected after the fermented product dried at 60°C which indicated the enzymes are quite stable.

**Key words:** Palm oil sludge, fermentation, cellulase, mannanase, cellulose, hemicellulose, *Aspergillus niger*

## ABSTRAK

TRESNAWATI PURWADARIA, A. P. SINURAT, T. HARYATI, I. SUTIKNO, SUPRIYATI, dan J. DARMA. 1998. Korelasi antara aktivitas enzim mananase dan selulase terhadap kadar serat lumpur sawit hasil fermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3(4): 230-236.

Aktivitas enzim (mananase dan selulase) dan kadar serat (hemiselulosa, selulosa dan lignin) ditentukan selama fermentasi lumpur sawit dengan *Aspergillus niger* TL (tipe liar) dan *A. niger* ES1 (mutan asporogenous). Analisis dilakukan pada masa inkubasi fermentasi aerob selama 3 dan 4 hari yang masing-masing diikuti dengan 2 hari fermentasi anaerob. Korelasi antara aktivitas mananase dengan kadar hemiselulosa dan selulase dengan kadar selulosa dihitung dengan analisis regresi linear. Aktivitas mananase dan selulase mengalami kenaikan selama fermentasi aerob, sedangkan pada fermentasi anaerob menurun karena ketidakstabilan enzim. Aktivitas enzim ES1 lebih tinggi dari TL. Koefisien regresi hanya bernilai sangat nyata pada hubungan mananase dengan kadar hemiselulosa produk fermentasi menggunakan ES1 ( $r = 0,83$ ;  $P < 0,01$ ). Korelasi yang lain tidak nyata secara statistik ( $P > 0,05$ ). Aktivitas mananase dan selulase juga terdeteksi untuk produk fermentasi yang telah dikeringkan pada 60°C yang menunjukkan aktivitas enzim bersifat cukup stabil.

**Kata kunci:** Lumpur sawit, fermentasi, selulase, mananase, selulosa, hemiselulosa, *Aspergillus niger*

## PENDAHULUAN

Luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia masih ditargetkan untuk dikembangkan, walaupun Indonesia sudah merupakan negara penghasil minyak sawit nomor dua di dunia. Pada tahun 1998 diperkirakan luas areal perkebunan tersebut mencapai dua juta hektar dengan produksi *crude palm oil* (CPO) 6,3 juta ton (GUMBIRA, 1996). Pada proses pembentukan CPO tersebut dihasilkan limbah lumpur sawit sebanyak 2%

dari jumlah produksi CPO, sehingga pada tahun 1998 produksi lumpur sawit dapat mencapai 126.000 ton bahan kering. Lumpur sawit akan menimbulkan polusi bila tidak melalui proses pengolahan limbah. Pemanfaatan lumpur sawit sebagai bahan pakan juga merupakan suatu alternatif.

Lumpur sawit dapat langsung dimanfaatkan untuk pakan, tetapi kandungan seratnya yang tinggi membatasi daya cernanya terutama bila digunakan untuk pakan unggas (SINURAT *et al.*, 1998a).

Teknologi fermentasi substrat padat dengan aktinomiset *Streptomyces* sp. atau dengan kapang *Aspergillus niger* dapat digunakan untuk meningkatkan kadar protein dan daya cerna bungkil kelapa (ZAMORA *et al.*, 1989; PURWADARIA *et al.*, 1995), bungkil inti sawit (SARI, 1997), lumpur sawit (PASARIBU *et al.*, 1998). Peningkatan daya cerna substrat pada proses fermentasi berhubungan dengan aktivitas enzim hidrolisis yang diproduksi oleh mikroba untuk menyokong kehidupannya. Jenis enzim yang diproduksi juga berkaitan dengan komponen substrat yang digunakan. Aktivitas enzim selulase diproduksi lebih tinggi pada substrat kulit umbi singkong dibandingkan dengan umbi singkong kupas (PURWADARIA *et al.*, 1997). Hal ini berkaitan dengan kadar serat (selulosa) yang lebih tinggi pada kulit umbi singkong daripada umbi singkong kupas. Lumpur sawit merupakan hasil ikutan proses pembuatan CPO, sehingga komponen serat yang terkandung di dalamnya merupakan serat yang dikandung pada buah sawit. Komponen serat yang dikandung dalam bungkil inti sawit merupakan selulosa dan hemiselulosa yang berupa manan (SWICK dan TAN, 1995), oleh karena itu pada proses fermentasi lumpur sawit dengan *A. niger* akan dihasilkan enzim mananase dan selulase. Aktivitas hidrolisis selulase dan mananase masing-masing akan menurunkan kadar selulosa dan hemiselulosa lumpur sawit.

Nilai nutrisi produk fermentasi berhubungan dengan strain mutan kapang yang digunakan. GLENN dan ROGERS (1988) mengisolasi mutan asporogenous *A. niger* yang dapat berspora pada suhu 30°C, tetapi tidak berspora pada 37°C. Sel mutan ini mengandung kadar asam amino yang lebih tinggi dibandingkan dengan tipe liarnya. Selain itu pembatasan pembentukan spora mengurangi polusi spora pada lingkungan fermentasi. Mutan *A. niger* ES1 merupakan mutan asporogenous yang dikembangkan di Balai Penelitian Ternak. Pada makalah ini dipelajari hubungan antara aktivitas enzim mananase dan selulase terhadap kadar serat lumpur sawit hasil fermentasi dengan mutan *A. niger* ES1 dan *A. niger* TL (tipe liar).

## MATERI DAN METODE

### Inokulum

Inokulum dikembangkan dari masing-masing isolat *A. niger* ES1 dan *A. niger* TL pada substrat beras (PURWADARIA *et al.*, 1994b). Masing-masing kapang diinokulasikan pada substrat beras yang telah dicampurkan dengan air (1:1), diaroni dan dikukus selama 30 menit. Kemudian kultur diinkubasi pada 28°C sampai substrat ditutupi rapat dengan spora

selama 5-7 hari. Produk dikeringkan pada suhu 40 °C dan digiling.

### Proses fermentasi

Proses fermentasi lumpur sawit (LS) mengikuti proses yang dilakukan pada bungkil kelapa (PURWADARIA *et al.*, 1995). LS kering ditambah air dengan perbandingan 1 : 1 (1kg LS dengan 1 l air), campuran mineral, diaduk dan dibiarkan selama 1 jam. Komposisi campuran mineral teknis untuk 1 kg LS kering terdiri dari 36 g amonium sulfat, 20 g urea, 7,5g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,5 g MgSO<sub>4</sub> dan 0,75 g KCl. Campuran LS dengan mineral kemudian dikukus selama 30 menit didinginkan dan ditambahkan 2% inokulum. Setelah diaduk rata disimpan pada baki plastik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 atau 4 hari (fermentasi aerob). Pada masing-masing waktu inkubasi aerob, proses dilanjutkan dengan proses enzimatik anacrob dengan menghancurkan dan memadatkan hasil fermentasi pada kantong plastik dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 2 hari.

### Ekstraksi enzim

Ekstraksi disiapkan dari contoh segar atau kering dengan mencampurkan 2 g contoh ke dalam 20 ml larutan penyangga Na-sitrat 0,1M pada pH 5,8. Kemudian metode ekstraksi dilakukan mengikuti PURWADARIA *et al.* (1997).

### Aktivitas enzim

Penentuan aktivitas enzim mananase pada contoh ekstrak dilakukan menurut PURWADARIA *et al.* (1994a), di mana sebagai substrat digunakan larutan gum *locust bean* (manan) 0,5%. Aktivitas selulase ditentukan sebagai aktivitas CMC-ase (HAGGETT *et al.*, 1979), di mana sebagai substrat digunakan larutan CMC 1,0%. Kedua asai enzim ditentukan pada pH 5,8 dan suhu 40°C selama masa inkubasi 30 menit dan gula reduksi yang terbentuk diukur dengan metode DNS (MILLER, 1959). Satu unit aktivitas enzim dinyatakan pada jumlah enzim yang dapat melepaskan satu µmol manosa dalam satu menit untuk mananase, sedangkan untuk aktivitas selulase satu µmol glukosa dalam satu menit. Perhitungan aktivitas dinyatakan terhadap berat kering dan protein terlarut contoh.

### Analisis kimia

Kehilangan berat kering diperhitungkan sebagai selisih berat kering contoh awal terhadap berat kering contoh, pada setiap tingkat proses fermentasi. Analisis

kadar serat (hemiselulosa, selulosa dan lignin) mengikuti VAN SOEST dan ROBERTSON (1968). Sementara itu, kadar protein terlarut dilakukan dengan pewarna biru COOMASSIE, menggunakan standar bovine serum albumin (BRADFORD, 1976). Ekstrak enzim (0,2ml) dicampurkan dengan 5 ml larutan pewarna, dikocok dan warna biru yang terbentuk dibaca pada absorben 595 nm.

### Analisis statistik

Analisis statistik untuk menentukan korelasi antara aktivitas mananase dan kadar hemiselulosa serta antara aktivitas selulase dan kadar selulosa dilakukan berdasarkan analisis regresi (STEEL dan TORRIE, 1980). Pada analisis regresi ini hanya dilakukan pada perbedaan waktu inkubasi aerob 0, 3, 4 hari dan diikuti dengan proses anaerob 2 hari (4+2), pada masing-masing jenis kapang. Sementara itu, perbandingan hasil proses aerob 3 hari dan anaerob 2 hari (3+2) terhadap aktivitas enzim dan kadar serat, dilakukan dengan rancangan acak faktorial pada kedua jenis kapang dan 4 taraf perlakuan inkubasi. Perbandingan terhadap kontrol atau waktu inkubasi aerob 0 hari dilakukan dengan analisis rancangan acak lengkap. Uji lanjutan antara perlakuan dilakukan dengan LSD dengan bantuan analisis program Statgraf.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan pertumbuhan mutan *A. niger* ES1 lebih cepat daripada tipe liarnya, *A. niger* TL (Tabel 1). Hal ini berhubungan dengan suhu inkubasi fermentasi pada 37°C. Suhu ini merupakan suhu di mana mutan diisolasi dan membentuk mutan asporogenous (tidak membentuk spora). *A. niger* tipe liar umumnya bersifat mesofilik dengan suhu optimum pertumbuhan pada 24-26°C (RAPER dan FENNEL, 1977). Selain itu inkubasi dilakukan pada oven dengan ukuran yang cukup terbatas, pada ruang fermentor dengan area yang lebih luas dengan suhu, kelembaban dan aliran udara yang terkontrol, *A. niger* TL dapat tumbuh baik pada 32°C (SINURAT et al., 1998b). Pada pertumbuhan kedua jenis kapang tersebut tidak terlihat adanya pembentukan spora, pada mutan ES1 pembentukan spora terhambat karena sifat dari asporogenousnya, sedangkan pada TL terhambat karena suhu inkubasi. Selain itu jenis substrat juga mempengaruhi pertumbuhan kapang, pada substrat yang bersifat seperti spons, seperti kulit umbi ketela pohon, spora mulai terbentuk pada masa inkubasi 2 hari pada suhu 28°C (PURWADARIA et al., 1997). Lumpur sawit bersifat lebih padat, sehingga membatasi perpindahan udara untuk pertumbuhan miselium dan pembentukan spora.

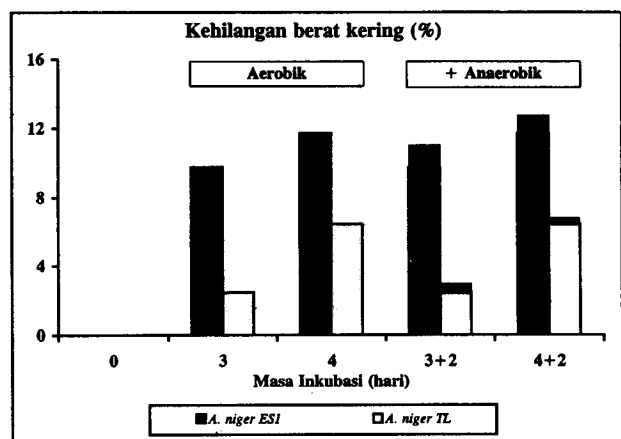
Tabel 1. Pertumbuhan *A. niger* selama proses fermentasi aerob lumpur sawit

Jenis kapang	Waktu inkubasi (hari)			
	1	2	3	4
<i>A. niger</i> TL	-+	+	++	++
<i>A. niger</i> ES 1	+	++	+++	+++

#### Keterangan:

- + : miselium tumbuh dan menutupi ± 25% permukaan substrat
- +
- ++ : miselium tumbuh, menutupi 75% permukaan dan menembus ke dalam substrat
- +++ : miselium tumbuh, menutupi 100% permukaan dan menembus rapat ke dalam substrat

Perbedaan kecepatan pertumbuhan kedua jenis kapang juga ditunjukkan oleh perbedaan nilai kehilangan bahan kering (KBK) (Gambar 1). Hasil fermentasi dengan ES1 menunjukkan nilai KBK yang lebih tinggi daripada hasil fermentasi dengan TL. Hal ini berhubungan dengan aktivitas metabolisme kedua kapang. Pada mutan ES1 yang tumbuh dengan lebih cepat akan lebih aktif menguraikan substrat dan melepaskan panas, yang mengakibatkan nilai KBK yang lebih tinggi. Pada Gambar 1 juga terlihat nilai KBK naik selama proses fermentasi, kenaikan nilai KBK yang lebih tinggi dicapai pada inkubasi aerob daripada inkubasi anaerob. Pada inkubasi aerob pertumbuhan sel terjadi, sehingga aktivitas sel terutama respirasi mencapai puncaknya. Pada inkubasi anaerob aktivitas hidrolisis hanya berlangsung oleh enzim hasil produksi selama inkubasi aerob secara kimiawi, bukan hasil regulasi sel untuk melangsungkan kehidupan. Data nilai KBK ini akan mempengaruhi kadar komposisi produk fermentasi, pada senyawa yang tidak diuraikan akan terjadi kenaikan.



Gambar 1. Nilai kehilangan berat kering (KBK) selama proses fermentasi lumpur sawit dengan *A. niger*

**Tabel 2.** Perubahan kadar protein terlarut, aktivitas mananase dan selulase selama proses fermentasi lumpur sawit

Jenis kapang	Waktu inkubasi (hari)	Protein (mg/g BK)	Mananase		Selulase	
			(U/g BK)	(U/mg protein)	(U/g BK)	(U/mg protein)
TL	Aerob					
	0	0,2 <sup>a*</sup>	0,1 <sup>a</sup>	0,4 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,8 <sup>a</sup>
	3	0,8 <sup>ab</sup>	5,3 <sup>a</sup>	6,9 <sup>abc</sup>	2,7 <sup>a</sup>	3,4 <sup>bc</sup>
	4	1,1 <sup>ab</sup>	5,4 <sup>a</sup>	4,9 <sup>ab</sup>	2,3 <sup>a</sup>	2,1 <sup>b</sup>
	Anaerob					
	3 + 2	0,6 <sup>ab</sup>	3,0 <sup>a</sup>	4,5 <sup>ab</sup>	3,6 <sup>a</sup>	5,7 <sup>c</sup>
4 + 2	1,5 <sup>bc</sup>	4,0 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	
ES 1	Aerob					
	0	0,8 <sup>ab</sup>	0,5 <sup>a</sup>	0,6 <sup>a</sup>	1,1 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>
	3	2,6 <sup>d</sup>	32,2 <sup>bc</sup>	12,3 <sup>cd</sup>	13,9 <sup>b</sup>	5,6 <sup>bc</sup>
	4	2,6 <sup>d</sup>	44,8 <sup>c</sup>	17,5 <sup>d</sup>	24,4 <sup>c</sup>	9,4 <sup>d</sup>
	Anaerob					
	3 + 2	2,8 <sup>d</sup>	31,1 <sup>bc</sup>	11,3 <sup>bcd</sup>	14,3 <sup>b</sup>	5,2 <sup>bc</sup>
4 + 2	2,1 <sup>cd</sup>	27,0 <sup>b</sup>	12,6 <sup>d</sup>	14,0 <sup>b</sup>	7,0 <sup>c</sup>	

\* : Beda huruf pada superskrip dalam kolom yang sama menyatakan perbedaan nyata (P<0,05)  
BK merupakan berat kering

Selama proses fermentasi aerob terjadi kenaikan aktivitas enzim baik mananase maupun selulase (Tabel 2), hal ini sejalan dengan data aktivitas enzim pada fermentasi ketela (OKULIE dan UGOCHUKWU, 1988; PURWADARIA *et al.*, 1997). Analisis statistik aktivitas enzim dengan pola rancangan faktorial menunjukkan tidak adanya interaksi pada jenis kapang dan waktu inkubasi (P>0,05), baik pada aktivitas mananase maupun selulase. Perbedaan nyata hanya terlihat pada perlakuan jenis kapang di mana aktivitas dengan kapang ES1 nyata lebih tinggi daripada dengan TL (P<0,05). Tabel 2 menunjukkan perubahan aktivitas pada setiap waktu inkubasi, mulai dari inkubasi aerob 0 hari. Berlainan dengan inkubasi aerob, pada inkubasi anaerob terjadi penurunan aktivitas mananase dan selulase. Hal ini berkaitan dengan ketidakstabilan enzim. Terutama pada ES1 penurunan lebih tinggi terjadi pada hasil inkubasi aerob 4 hari dan anaerob 2 hari (4+2). Penurunan aktivitas menjadi kurang menguntungkan karena enzim pada produk fermentasi akan berguna pada peningkatan daya cerna campuran pakan. Bila hanya ditinjau dari aktivitas enzim produk fermentasi sebaiknya dimanfaatkan sebelum inkubasi anaerob.

Pada ekstrak enzim ditentukan pula nilai protein terlarut untuk melihat aktivitas enzim spesifik terhadap kadar protein (U/mg protein). Sejalan dengan pertumbuhan kapang dan nilai KBK, kadar protein terlarut yang lebih tinggi juga didapatkan dari ES1.

Walaupun kadar protein terlarut pada ES1 lebih tinggi aktivitas spesifik yang lebih tinggi juga didapatkan pada mutan ES1. Dapat disimpulkan mutan ES1 mempunyai kemampuan lebih tinggi memproduksi enzim pada suhu inkubasi 37°C daripada TL. Hal ini juga mungkin berasal dari perubahan sifat peningkatan produksi enzim pada ES1, hasil mutasi dengan ultraviolet. Telah dilaporkan bahwa mutasi dengan UV dapat meningkatkan produksi xilanase dan β-xilosidase *A. awamori* (SMITH dan WOOD, 1991) dan CMC-ase (selulase), xilanase dan β-glukosidase *Penicillium pinophilum* (BROWN *et al.*, 1987).

Analisis ketiga komponen serat (hemiselulosa, selulosa dan lignin) menunjukkan penurunan selama proses fermentasi (Tabel 3). Perhitungan statistik dengan pola faktorial pada data kadar serat juga tidak menunjukkan interaksi antar jenis kapang dan waktu inkubasi. Kadar hemiselulosa menunjukkan nilai penurunan selama proses fermentasi, hanya penurunan itu tidak nyata pada setiap taraf perlakuan inkubasi dan jenis kapang (P>0,05). Penurunan tidak nyata juga mungkin disebabkan variasi yang tinggi antar ulangan. Sementara itu, pada kadar selulosa dan lignin terjadi penurunan nyata (P<0,05) pada setiap waktu inkubasi terutama pada ES1. Penurunan kadar serat lebih tinggi diperoleh pada masa inkubasi aerob dibandingkan dengan inkubasi anaerob. Hal ini berhubungan dengan pertumbuhan sel pada inkubasi anaerob yang juga mengandung serat pada dindingnya. Bila dibandingkan

dengan fermentasi aerob pada umbi ketela pohon juga dengan *A. niger* TL, kadar serat akan meningkat sejalan dengan pembentukan sel, sampai titik di mana substrat sudah tidak mengandung pati dan gula terlarut, kemudian kadar serat akan menurun. Kenaikan kadar serat pada fermentasi lumpur sawit tidak terjadi karena pertumbuhan sel kapang pada umbi ketela yang mengandung lebih tinggi karbohidrat terlarut (pati) lebih tinggi daripada lumpur sawit. Metabolisme yang lebih tinggi ini dapat pula dilihat dari data KBK pada fermentasi umbi ketela lebih tinggi daripada pada lumpur sawit. Pertumbuhan sel yang lebih aktif akan menyebabkan kenaikan kadar serat dari dinding sel mikroba.

**Tabel 3.** Perubahan kadar serat (hemiselulosa, selulosa dan lignin) selama proses fermentasi lumpur sawit dengan *A. niger*

Jenis kapang	Waktu inkubasi (hari)	Hemiselulosa (% BK)	Selulosa (% BK)	Lignin (% BK)
TL	Aerob			
	0	22,1	17,0 <sup>cd*</sup>	16,2 <sup>c</sup>
	3	20,3	18,1 <sup>de</sup>	15,2 <sup>c</sup>
	4	18,4	18,6 <sup>de</sup>	16,0 <sup>c</sup>
	Anaerob			
	3 + 2	16,2	18,1 <sup>de</sup>	16,4 <sup>c</sup>
4 + 2	18,7	19,6 <sup>e</sup>	17,3 <sup>c</sup>	
ES 1	Aerob			
	0	21,9	17,6 <sup>cd*</sup>	15,3 <sup>c</sup>
	3	16,7	14,0 <sup>cd</sup>	17,5 <sup>c</sup>
	4	16,8	12,8 <sup>bc</sup>	15,1 <sup>bc</sup>
	Anaerob			
	3 + 2	17,6	8,0 <sup>a</sup>	12,5 <sup>a</sup>
4 + 2	16,7	8,9 <sup>ab</sup>	12,5 <sup>a</sup>	

Beda huruf pada superskrip pada kolom yang sama menyatakan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Penurunan kadar lignin pada fermentasi lumpur sawit juga merupakan hal yang positif, karena seperti diketahui enzim pengurai lignin umumnya ditemukan pada cendawan (*mushroom*) busuk putih. Meskipun demikian, pada kilas balik yang ditulis oleh DUARTE dan COSTA-FERREIRA (1994) disebutkan bahwa *Aspergilli* dapat menguraikan dengan baik senyawa lignoselulosa termasuk senyawa polimer aromatik (lignin). Lebih lanjut dikatakan bahwa penguraian lignoselulosa dengan kapang genus ini berlangsung baik karena aktivitas xilanase (hemiselulase). Pada pembentukan mutan ES1, juga terlihat terjadi peningkatan pada enzim pengurai lignin, enzim yang berperan pada penguraian tersebut dapat diselidiki lebih lanjut. Sementara itu, penguraian hemiselulosa pada substrat lumpur sawit lebih ditekankan pada

mananase karena lumpur sawit mengandung komponen manan, fermentasi pada substrat kaya pentosan (pollard) menunjukkan aktivitas xilanase (akan dipublikasi).

Hasil perhitungan statistik regresi untuk korelasi aktivitas mananase dan kadar hemiselulosa, selulase dan kadar selulosa pada kedua jenis kapang menunjukkan bahwa korelasi bersifat negatif, kecuali pada hubungan selulase dengan selulosa untuk TL (Tabel 4). Korelasi negatif terjadi karena kenaikan aktivitas enzim diikuti dengan penurunan kadar serat hasil aktivitas hidrolisis enzim. Korelasi positif pada TL terjadi karena aktivitas selulase yang dihasilkan relatif rendah sehingga aktivitas penguraian selulosanya lebih rendah daripada kenaikan kadar serat yang didapatkan dari pembentukan sel dan kehilangan berat kering. Korelasi secara nyata didapatkan hanya pada hubungan mananase dan hemiselulosa dengan kapang ES1 ( $P < 0,05$ ). Pada analisis statistik dengan rancangan acak lengkap pada kadar hemiselulosa tidak menunjukkan adanya penurunan yang nyata. Walaupun demikian penurunan hemiselulosa merupakan hasil aktivitas mananase. Nilai probabilitas yang lebih tinggi pada hubungan selulase dan selulosa daripada hubungan mananase dan hemiselulosa mungkin berkaitan dengan pembentukan sel kapang yang mungkin lebih mengandung komponen selulosa daripada hemiselulosa. Selain itu, hemiselulosa (manan) bersifat lebih terlarut daripada selulosa sehingga aktivitas penguraian mananase lebih tinggi daripada selulase. Hal yang sama ditemukan pada korelasi yang nyata pada hubungan antara amilase dengan pati yang bersifat terlarut pada fermentasi umbi ketela dan korelasi yang tidak nyata pada selulase dan kadar serat kasar (PURWADARIA *et al.*, 1997).

**Tabel 4.** Analisis regresi antar aktivitas enzim dan kadar serat selama masa inkubasi aerob 0, 3, 4 dan anaerob 2 hari

Jenis korelasi	Jenis kapang	r	r <sup>2</sup>	P
Mananase & hemiselulosa	TL	-0,46	0,21	>0,05
	ES 1	-0,83	0,69	<0,01
Selulase & selulosa	TL	+0,25	0,06	>0,05
	ES 1	-0,50	0,25	>0,05

Dapat disimpulkan dari data aktivitas enzim dan perubahan kadar serat, bahwa walaupun aktivitas enzim lebih tinggi sebelum inkubasi aerob, inkubasi anaerob menurunkan kadar serat. Hasil analisis daya

cerna *in vitro* juga menunjukkan nilai kenaikan setelah inkubasi anaerob (PASARIBU *et al.*, 1998). Faktor mana yang lebih menguntungkan tentunya harus ditelaah lebih lanjut dengan penelitian *in vivo*.

Produksi enzim yang dihasilkan selama proses fermentasi akan lebih bermanfaat untuk penggunaannya sebagai pakan bila bersifat stabil pada proses pengeringan. Enzim selulase dan mananase yang dihasilkan selama proses fermentasi lumpur sawit dengan *A. niger* cukup tahan terhadap pengeringan pada 60°C (Tabel 5). Analisis aktivitas enzim hanya dilakukan pada produk siap pakai setelah fermentasi aerob. Hasil analisis menunjukkan walaupun pada masa inkubasi aerob 3 hari dan anaerob 2 hari (3+2) nilai aktivitas lebih tinggi dan lebih stabil pada penyimpanan aerob daripada masa inkubasi 4+2 hari, penurunan karena pengeringan lebih tinggi pada masa inkubasi 3+2 hari. Perbedaan ini tidak dapat diterangkan pada saat ini, karena kestabilan enzim selalu terkait pada bentuk tersier dan gugus aktifnya (SEGEL, 1975). Terdapat kemungkinan enzim yang tahan pada penyimpanan aerob 4+2 hari, sudah lebih terlindungi bentuk aktifnya sehingga lebih tahan terhadap pemanasan. Hasil juga menunjukkan aktivitas selulase lebih tahan terhadap pengeringan daripada mananase. Hal ini berlainan dengan yang didapatkan pada fermentasi *A. niger* TL dalam fermentor pada suhu inkubasi 28 dan 32°C, yang menunjukkan aktivitas mananase lebih bersifat stabil daripada selulase (SINURAT *et al.*, 1998b). Kestabilan enzim berhubungan dengan mikroenvironment pertumbuhan kultur (WANG *et al.*, 1978). Walaupun terjadi penurunan aktivitas enzim, adanya aktivitas setelah pengeringan mungkin dapat bermanfaat pada penguraian campuran bahan pakan yang kaya manan dan selulosa.

Tabel 5. Perbandingan aktivitas enzim produk fermentasi lumpur sawit pada contoh segar dengan contoh kering

Jenis Kapang	Waktu inkubasi (hari)	Mananase (U/g BK)		Selulase (U/g BK)	
		Segar	Kering	Segar	Kering
TL	3 + 2	3,0±1,7	1,5±0,7	3,6±0,8	3,0±0,5
	4 + 2	4,0±1,4	1,4±0,4	2,6±0,5	1,8±0,2
ES 1	3 + 2	31,1±12,9	8,6±2,8	14,3±2,8	10,9±2,0
	4 + 2	26,7±9,1	19,9±12,3	14,0±2,3	13,4±1,4

### KESIMPULAN

*A. niger* ES<sub>1</sub> lebih tinggi memproduksi enzim selulase dan mananase daripada *A. niger* TL, karena terjadinya peningkatan sifat mikroba pada waktu

pembentukan mutan asporogenous. Selama proses fermentasi aerob terjadi peningkatan aktivitas enzim, sedangkan pada masa inkubasi anaerob terjadi penurunan aktivitas karena ketidakstabilan enzim. Aktivitas enzim mananase menurunkan kadar hemiselulosa, sedangkan penurunan selulosa disebabkan aktivitas selulase. *A. niger* ES<sub>1</sub> juga menghasilkan enzim pengurai lignin. Aktivitas enzim mananase dan selulase juga terdeteksi pada produk fermentasi yang dikeringkan pada 60°C, yang menunjukkan aktivitas enzim cukup stabil terhadap pengeringan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Sdr. Masrih, S.Si. yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- BROWN, J. A., S. A. COLLIN, and T. M. WOOD. 1987. Enhanced enzyme production by the cellulolytic fungus *Penicillium pinophilum*, mutant strain NTG III/6. *Enzyme Microb. Technol.* 9: 176-180.
- DUARTE, J. C. and M. COSTA-FERREIRA. 1994. Aspergilli and lignocellulosics: Enzymology and biotechnological applications. *FEMS Microbiol. Rev.* 13: 377-386.
- GLENN, R. D. and P. L. ROGERS. 1988. A solid substrate fermentation process for an animal feed product studies of fungal strain improvement. *Aust. J. Biotechnol.* 2: 50-57.
- GUMBIRA, E. 1996. *Penanganan dan Pemanfaatan Limbah Kelapa Sawit*. Trubus Agriwidya. Jakarta. pp. 8-21.
- HAGGETT, K. D., P. P. GRAY, and N. W. DUNN. 1979. Crystalline cellulose degradation by a strain of *Cellulomonas* and its mutants derivatives. *Eur. J. Appl. Microb. Biotechnol.* 8: 183-190.
- MILLER, G. L. 1959. Using of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- OKOLIE, P. N. and E. N. UGOCHUKWU. 1988. Changes in activities of cell wall degrading enzymes during fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crants.) with *Citrobacter freundii*. *J. Sci. Food. Agric.* 44: 51-61.
- PASARIBU, T., A. P. SINURAT, T. PURWADARIA, SUPRIYATI, J. ROSIDA, dan H. HAMID. 1998. Peningkatan nilai gizi lumpur sawit melalui proses fermentasi: Pengaruh jenis

- kapang, suhu, dan lama proses enzimatik. *J. Ilmu Ternak Vet. (In press)*.
- PURWADARIA, T., T. HARYATI, A. P. SINURAT, I. P. KOMPIANG, SUPRIYATI, and J. DARMA. 1997. The correlation between amylase and cellulase activities with starch and fibre contents on the fermentation of cassapro (cassava protein) with *Aspergillus niger*. Proc. Indonesian Biotechnology Conference. Jakarta, Juni 17-19, 1997. Vol. I. pp. 379-390.
- PURWADARIA, T., T. HARYATI, dan J. DARMA. 1994a. Isolasi dan seleksi kapang mesofilik penghasil mananase. *Ilmu dan Peternakan* 2: 26-29.
- PURWADARIA, T., T. HARYATI, J. DARMA, and O. I. MUNAZAT. 1995. In vitro digestibility evaluation of fermented coconut meal using *Aspergillus niger* NRRL 337. *Bull. Anim. Sci. Special Edition*. pp. 375-382.
- PURWADARIA, T., T. HARYATI, J. DARMA, S. KOMPIANG, I. P. KOMPIANG, dan A. P. SINURAT. 1994b. Pengembangan pembuatan inokulum *Aspergillus niger* untuk fermentasi cassapro. Pros. Sem. Nas. Sains Teknol. Peternakan. 1994. Balai Penelitian Ternak, Bogor. pp. 727-737.
- RAPER, B. K. and D.I. FENNELL. 1977. *The Genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Publishing Company. Huntington. New York.
- SARI, L. 1997. Isolasi mutan asporogenous *Aspergillus niger* serta pengkajian nilai gizi hasil fermentasi mutan pada substrat bungkil kelapa, bungkil inti sawit dan onggok. Skripsi Sarjana Biologi. Universitas Nasional, Jakarta.
- SEGEL, I. H. 1975. *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady State Enzyme System*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- SINURAT, A. P., SUPRIYATI K., T. PURWADARIA, T. HARYATI, H. HAMID, J. ROSIDA, I. SUTIKNO, dan I. P. KOMPIANG. 1998a. Pemanfaatan limbah sawit (bungkil inti sawit dan lumpur sawit) dalam ransum itik. Laporan. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- SINURAT, A. P., T. PURWADARIA, J. ROSIDA, H. SURACHMAN, H. HAMID, dan I.P. KOMPIANG. 1998b. Pengaruh suhu ruang fermentasi dan kadar air substrat terhadap nilai gizi produk fermentasi lumpur sawit. *J. Ilmu Ternak Vet. (In press)*.
- SMITH, D.C. and T.M. WOOD. 1991. Isolation of mutants of *Aspergillus awamori* with enhanced production of extracellular xylanase and  $\beta$ -xylosidase. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 343-353.
- STEEL, R. G. D. and J. H. TORRIE. 1980. *Principles and Procedures of Statistics, with Special Reference to the Biological Sciences*. Second Edition. McGraw Hill, New York.
- SWICK, R. A. and P. H. TAN. 1995. Considerations in using common Asian protein meals. *Tech. Bull. ASA*. Vol. P 025. MITA(P) NO. 083/12/94
- VAN SOEST, P. J. and J. B. ROBERTSON. 1968. System of analysis for evaluating fibrous feeds. In: *Standardization of Analytical Methodology for Feed*. W.J. PIGDEM, C.C. BALCH, and M. GRAHAM (eds). IDRC, Canada.
- WANG, D. I. C., C. L. COONEY, A. L. DEMAIN, P. DUNNILL, A. E. HUMPHREY, and M. LILLY. 1979. *Fermentation and Enzyme Technology*. John Wiley and Sons, New York.
- ZAMORA, A. F., M. R. CALAPARDO, K. P. ROSANO, E. S. LUIS, and I. F. DALMACIO. 1989. Improvement of copra meal quality for use in animal feeds. Proc. FAP/UNDP Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia and Latin America. pp. 312-320.