

**HIDROLISIS AMPAS TEBU MENJADI GLUKOSA CAIR OLEH KAPANG
*Trichoderma viride***
(Kajian Konsentrasi Ampas Tebu (*Saccharum officinarum*) dan Lama Fermentasi)

Ella Saparianti¹⁾, Tri Dewanti¹⁾ dan Siti Khusnul Dhoni²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP –Unibraw

²⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP –Unibraw

ABSTRAK

Trichoderma viride termasuk kelompok mikroorganisme selulolitik dan sangat potensial dimanfaatkan untuk menghasilkan sirup glukosa dari bahan kaya selulosa seperti ampas tebu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi yang optimum untuk menghasilkan glukosa cair dengan kadar glukosa yang tinggi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Percobaan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, faktor I : konsentrasi ampas tebu (2, 5 dan 8%), faktor II : lama fermentasi (5, 10 dan 15 hari).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ampas tebu berpengaruh sangat nyata ($\alpha=0,01$) terhadap kadar glukosa, aktivitas selulolitik, viskositas, total padatan terlarut. Lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha=0,01$) terhadap kadar glukosa, total kapang, aktivitas selulolitik, viskositas, dan total padatan terlarut.

Kadar glukosa tertinggi (13,442%) dicapai pada perlakuan konsentrasi ampas tebu 8% dan lama fermentasi 15 hari. Persentase selulosa terhidrolisa pada perlakuan tersebut sebesar 18,829% dengan nilai aktivitas selulolitik 74,678 NCU, total kapang $65,33 \times 10^5$ cfu/ml, viskositas $9,387 \times 10^{-3}$ centipoise dan total padatan terlarut 6,47 (brix).

HYDROLIZE CANE WASTE to GLUCOSE by *Trichoderma viride*
(STUDY on CANE WASTE CONCENTRATION and FERMENTATION TIME)

ABSTRACT

Trichoderma viride is the one of selulolitic microorganisms that can produce glucose from selulose rich material such as cane waste. This research was conducted to study the effect of cane waste concentration and fermentation time on glucose yield of the liquid. Completely Randomized Block Design (CRBD) was employed on this research with two factors. Factor I is cane waste concentration (2, 5, 8%) and factor two is fermentation time (5, 10 15 days).

The result showed that cane waste concentration significantly ($\alpha=0,01$) affected glucose yield, selulolitic activity, viscosity, and total dissolved solid. Fermentation time significantly ($\alpha=0,01$) affected glucose yield, total molds, selulolitic activity, viscosity, and total dissolved solid.

The high glucose yield (13,442%) was reached at cane waste concentration of 8% and fermentation time of 15 days. This treatment caused selulose of 18,829% was hydrolyzed with selulolitic activity of 74,678 NCU, total molds of $65,33 \times 10^5$, viscosity of $9,387 \times 10^{-3}$ centipoise, and total dissolved solid of 6,47 (brix).

Key words : cane waste, glucose, selulolitic activity, *Trichoderma viride*

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Glukosa cair adalah produk setengah jadi yang merupakan hasil olahan dari pati atau polisakarida lain seperti selulosa dengan hidrolisis menggunakan asam kuat atau enzim. Industri yang memanfaatkan glukosa antara lain industri kembang gula (permen), biskuit, ice cream dan industri farmasi. Produksi sirup glukosa

during this is done with hydrolysis using the enzyme α -amylase and glucoamylase, with the basic material tapioca, sago, corn, ginger and cassava (Radley, 1992).

According to Judoamidjojo (1992), liquid glucose can also be produced from hydrolysis of cellulose using the enzyme cellulase. Berghem in Rose (1980) stated that *Trichoderma viride* produces three types of enzymes

selulase yaitu endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase dan β -glukosi-dase atau selobiose. Limbah selulosa yang banyak tersedia dan belum optimal pemanfaatannya adalah ampas tebu. Ampas tebu mengandung selulosa 54-58 % bersama-sama dengan lignin 18-20 %, pentosan 24-26 % dan abu 1-2 % (Cowling dan Kirk, 1976). Berdasar data Statistik Produksi Gula (P3GI 1993-1999) di Indonesia, produksi ampas tebu pada tahun 1999 mencapai 4,1 juta ton dari total produksi tebu 12,81 juta ton dan produksi gula sebesar 1493,9 ribu ton.

Pembuatan glukosa cair menggunakan mikroorganisme mempunyai kelebihan pada biaya produksi yang lebih murah dan produksi yang dihasilkan bebas dari ion-ion atau logam-logam berat yang tidak diinginkan. Sementara permasalahan dalam pembuatan glukosa dari ampas tebu ini adalah belum diketahuinya konsentrasi ampas yang tepat dan lama fermentasi yang optimum untuk menghasilkan glukosa cair. Sternberg (1976) melaporkan bahwa produksi selulase bisa diperoleh dua kali lipat dalam fermentasi *batch* dengan meningkatkan konsentrasi selulosa dari 0,75% menjadi 2%. Sedangkan Sulistyani dan Setyowati (2000), melaporkan bahwa produksi glukosa cair dari fermentasi alang-alang oleh kapang *Trichoderma viride* bisa ditingkatkan sebesar 13,4 mg/ml dengan lama fermentasi 14 hari.

2. Tujuan

- Mengetahui pengaruh konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi terhadap pertumbuhan maupun aktivitas selulolitik *Trichoderma viride*
- Mengetahui konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi yang optimum bagi proses fermentasi ampas tebu oleh *Trichoderma viride*.

BAHAN DAN METODE

1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampas tebu yang berasal dari sisa analisa rendemen gula di Pabrik Gula Kebon Agung Malang,

kultur kapang *Trichoderma viride* (Laboratorium Mikrobiologi FMIPA-UNAIR Suraba-ya), medium PDA (Potato Dextrose Agar), aquades, urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), buffer asetat 0,2 M sampai pH 5, asam asetat 0,2 M, alkohol 70% dan spirtus.

Sedangkan untuk analisa digunakan aquades, reagensia Nelson A, reagensia Nelson B, larutan Arsenomolybdat, H_2SO_4 98%, H_2SO_4 72%, NaOH 30%, glukosa anhidrat, K_2SO_4 10%, alkohol 95%, anti foam, Pb asetat, aluminium hidroksida ($\text{AL}(\text{OH}_3)$), pepton, antibiotik (tetra-siklin) dan karbon aktif.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi 10 ml, erlenmeyer 100 ml dan 250 ml, kawat ose, spatula, pipet volume 1ml dan 10 ml, tip biru dan kuning, beaker glass 100 ml dan 250 ml, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, labu ukur 100 ml, pisau, baskom, blender, ayakan 100 mesh, oven, karet hisap, bunsen, kompor listrik, kapas, kertas payung, corong, labu ukur 100 ml, kertas lakmus, timbangan digital (Denver Instrumen M-310), desikator, neraca analitik (Sartorius 2402), *refraktometer*, *color reader* (Minolta CR-10), *stopwatch* (Casio), pipet volume 25 ml, petridish, autoclave, *shaker inkubator* (Heidolph UNIMAX-2010), *spektrofotometer* (UNICO UV-2100), *haemocytometer*, *laminary flow* (R&R SA-80), mikropipet 1 ml (Finnpipette Labsystem), pH meter (CG 824 SCHOTT), blender (Maspion), oven listrik (WTB Binder), *sentrifuge* (Hettich EBA 8) dan mikroskop (Novex Holland).

2. Metode Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, masing-masing faktor terdiri dari tiga level.

- Faktor 1: konsentrasi ampas tebu (dari berat volume aquadest).
Terdiri dari 3 level: 2 % (A_1), 5% (A_2), 8 % (A_3)
- Faktor 2: lama fermentasi Terdiri dari 3 level: 5 hari (H_1), 10 hari (H_2), 15 hari (H_3)

Dari kedua faktor tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan dan tiap-tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali, maka didapatkan 27 satuan percobaan.

3. Pelaksanaan Penelitian

3.1. Pembuatan Tepung Ampas Tebu

Ampas tebu disortasi, diambil yang bagus, tidak terserang penyakit bercak merah, jamur dan gangguan lain, kemudian dicuci dan diperas dengan bantuan air sampai hilang kadar kemanisannya. Selanjutnya ampas tebu dipotong-potong ukuran ± 2 cm dan dikeringkan dalam *kabinet dryer* suhu 50° C selama 12 jam. Setelah kering ampas tebu digiling dan diayak dengan ayakan 100 mesh.

3.2. Persiapan Kapang *Trichoderma viride*

Kapang *Trichoderma viride* dari biakan murni direajaskan dalam medium PDA. Penanaman biakan *Trichoderma viride* dilakukan dengan jarum ose aseptis ke dalam media PDA miring dan diinkubasi selama 6 hari pada suhu ruang.

Pembuatan inokulum dilaksa-nakan dengan mengambil satu tabung biakan murni *Trichoderma viride* umur 6 hari pada PDA agar miring kemudian disuspensikan dalam 10 ml larutan pepton 0,01% steril.

3.3 Pembuatan Glukosa Cair

Pembuatan glukosa cair dimulai dengan membuat media fermentasi yang setiap 100 ml aquadest mengandung tepung ampas tebu sesuai perlakuan (2, 5 dan 8 gram), asam asetat 0,2 M sebanyak 0,05 ml, buffer asetat 0,2 M sampai pH 5 dan urea sebanyak 12 gram. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit dan didinginkan. Selanjutnya diinokulasikan kultur *Trichoderma viride* umur 6 hari sebanyak 10% (v/v) dan diinkubasi pada shaker inkubator selama 5, 10 dan 15 hari (sesuai perlakuan) pada suhu ruang. Pada akhir fermentasi, media di sentrifugasi untuk menghasilkan glukosa cair.

3.4. Analisa Parameter

□ Analisa bahan baku pada tepung ampas tebu

1. Kadar gula reduksi Metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji, 1997)
2. Kadar serat kasar (Sudarmadji, 1997)
3. Kadar selulosa (Metode Chesson) (Datta, 1981)

□ Analisa parameter fermentasi

1. Kadar glukosa (Metode Nelson-Somogyi) (Sudarmadji, 1997)
2. Total kapang (Metode Total Plate Count/ TPC) (Fardiaz, 1993)
3. Aktivitas Selulolitik (NCU) (Schoemaker dan Brown, 1978 *dalam* Cavevascini dan Gattlen, 1981)
4. Prosentase selulosa yang terhidrolisa
5. Viskositas Relatif (Yuwono dan Susanto, 1998)
6. Total Padatan Terlarut (% Brix) (Mochtar dan Rahman, 1978)

3.5. Analisa Data

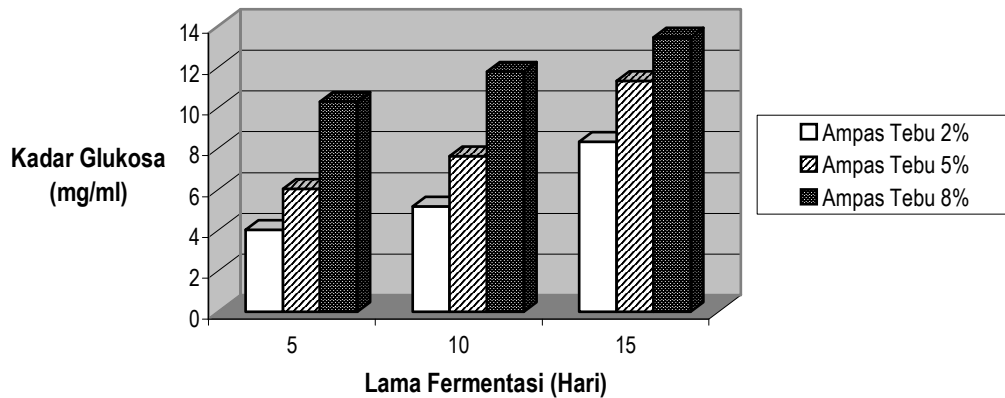
Data yang diperoleh dianalisa dengan *analisa of variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji beda nyata yaitu BNT (Beda Nyata Terkecil) menggunakan selang kepercayaan 1% dan 5% serta DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan selang kepercayaan 1% dan 5% (Yitnosumarto, 1991)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, ampas tebu digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi glukosa cair oleh kapang *Trichoderma viride*. Komposisi kimia ampas tebu yang dipakai mengandung serat kasar 50,69% serat kasar, selulosa 47,59% dan gula reduksi 0,03%. Rerata kadar glukosa yang dihasilkan berkisar antara 4,021-13,442 mg/ml.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha=0,01$) terhadap kadar glukosa dan terdapat interaksi yang nyata antar kedua perlakuan tersebut. Uji DMRT (5%) juga menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan terhadap kadar glukosa yang dihasilkan. Kadar glukosa tertinggi adalah 13,442 mg/ml diperoleh dari medium fermentasi yang mengandung ampas tebu 8% dan lama fermentasi 15 hari sedangkan kadar glukosa terendah adalah

4,021 mg/ml pada perlakuan konsentrasi ampas tebu 2% dan lama fermentasi 5 hari.



Gambar 1. Grafik Hubungan Rerata Kadar Glukosa dan Lama Fermentasi pada Beberapa Konsentrasi Ampas Tebu

Gambar 1. menunjukkan adanya kecenderungan kadar glukosa terus meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ampas tebu dan semakin lamanya fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas *Trichoderma viride* dalam menghidrolisa selulosa menjadi komponen-komponen glukosa maupun selobiosa meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi. Selulosa pada ampas tebu merupakan substrat utama yang dibutuhkan sebagai sumber karbon untuk memperoleh energi, untuk pertumbuhan dan membentuk enzim selulase, sekaligus yang didegradasi untuk mensintesa produk-produk metabolit berupa gugus glukosa. Sesuai dengan pernyataan Said (1978) bahwa kadar dekstrosa (jumlah total gula pereduksi) lebih tinggi dapat diperoleh dengan menggunakan substrat yang lebih tinggi.

Perlakuan konsentrasi ampas tebu 8% merupakan konsentrasi substrat tertinggi maka jumlah nutrisi karbon yang tersedia bagi *Trichoderma viride* semakin banyak sehingga produksi enzim selulase lebih tinggi. Selain itu dengan meningkatnya konsentrasi ampas tebu maka semakin banyak substrat selulosa yang bisa dihidrolisa oleh enzim selulase menjadi monomernya sehingga kadar glukosa

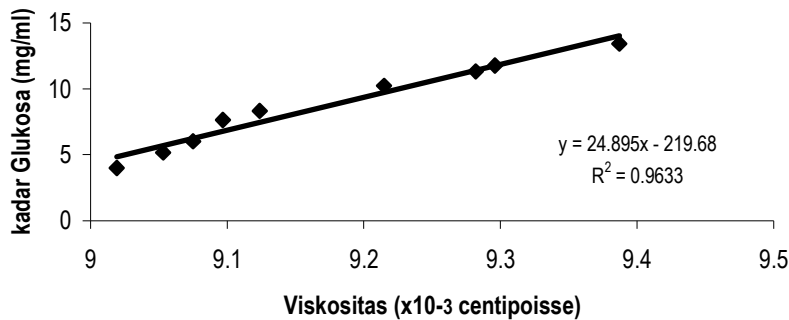
meningkat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sternberg (1976) bahwa produksi selulase bisa diperoleh dua kali lipat dalam fermentasi batch dengan meningkatkan konsentrasi selulosa dari 0,75% menjadi 2%.

Kadar glukosa tertinggi diperoleh dari lama fermentasi 15 hari, berarti semakin lama fermentasi maka kadar glukosa yang diproduksi juga semakin tinggi. Fenomena ini menunjukkan semakin lama fermentasi maka proses hidrolitik selulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase yang diproduksi *Trichoderma viride* semakin tinggi. Detroy *et al* (1981) dalam Wood (1998) menjelaskan bahwa selama 15 hari pertama fermentasi, mikroorganisme penghasil selulase mampu meningkatkan 2-3 kali lipat dari kadar gula reduksi awal.

Peningkatan kadar glukosa selama fermentasi dengan semakin lamanya fermentasi dan meningkatnya konsentrasi ampas tebu yang dipakai dapat pula diketahui dari nilai viskositas maupun total padatan terlarutnya. Sesuai pendapat ChoKyun (1999), bahwa viskositas larutan tergantung pada viskositas zat terlarut dan pelarut serta konsentrasi zat terlarut. Semakin tinggi konsentrasi dan viskositas zat terlarut maka viskositas larutan semakin tinggi. Cho Kyun (1999)

menambahkan bahwa secara kuantitatif viskositas merefleksikan kekuatan dari ikatan hidrogen dalam cairan. Ketika suatu bahan dengan banyak grup OH dan H, seperti tipe-tipe gula terlarut dalam air, ikatan hidrogen meningkat sehingga

viskositas meningkat. Dari sini bisa disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar glukosa maka viskositas semakin tinggi. Korelasi antara kadar glukosa dan viskositas ditunjukkan pada Gambar 2.



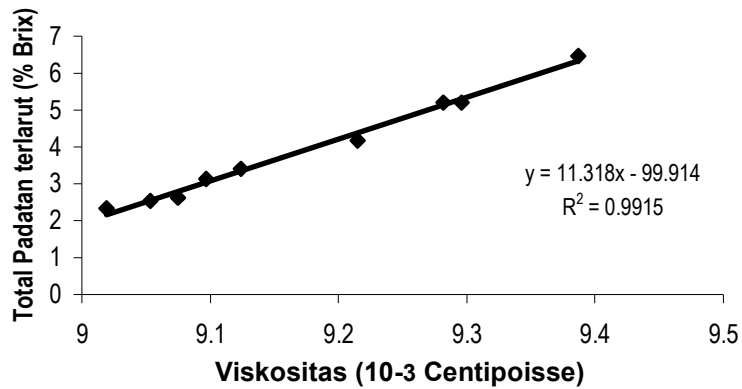
Gambar 2. Grafik Korelasi antara Kadar Glukosa dan Viskositas Akibat Perlakuan Konsentrasi Ampas Tebu dan Lama Fermentasi

Pada Gambar 2. tersebut dapat dilihat adanya korelasi positif antara kadar glukosa dan viskositas dengan nilai determinasi 0,9633 , yaitu semakin tinggi kadar glukosa maka viskositas semakin tinggi. Rerata viskositas glukosa cair hasil pemisahannya dengan medium fermentasi berkisar antara $9,019 \times 10^{-3}$ - $9,387 \times 10^{-3}$ centipoise. Dari uji DMRT (5%) diketahui bahwa viskositas glukosa cair tertinggi sebesar $9,387 \times 10^{-3}$ centipoise pada perlakuan lama fermentasi 15 hari dan konsentrasi ampas tebu 8%, sedangkan viskositas terendah sebesar $9,019 \times 10^{-3}$ centipoise pada perlakuan lama fermentasi 5 hari dan konsentrasi ampas tebu 2% dengan perbedaan nyata pada tiap perlakuan.

Umumnya total padatan terlarut akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah partikel padatan yang terlarut dalam air. Dalam fermentasi ini, padatan yang terlarut dalam glukosa cair tidak hanya dari gugus glukosa, akan tetapi juga dari pigmen terlarut dan selulosa *amorphous* ampas tebu yang tidak terhidrolisa dan terlarut dalam medium

fermentasi. Ampas tebu mengandung pigmen hijau (klorofil) dan pigmen lain seperti pigmen kuning, merah dan ungu yang akan larut dalam medium fermentasi sehingga mempengaruhi total padatan terlarut (Martin, 1962). Menurut Whittenberger & Nutting dalam ChoKyun (1999), selulosa *amorphous* mempunyai efek yang kuat terhadap total padatan terlarut, karena ia sendiri dapat membuat suspensi yang tipis. Korelasi antara viskositas dengan total padatan terlarut ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3. menunjukkan korelasi positif antara viskositas glukosa cair dengan total padatan terlarut dengan nilai determinasi 0,9915. Berdasarkan gambar tersebut berarti dengan meningkatnya viskositas maka total padatan terlarut juga meningkat, demikian pula sebaliknya. Sesuai pendapat ChoKyun (1999) bahwa kadar padatan terlarut dapat ditentukan dengan menggunakan tabel hubungan antara indeks refraksi dengan kandungan zat padat terlarut dalam larutan gula. Larutan gula mempunyai indeks refraksi lebih besar daripada air dan mempunyai hubungan linear dengan viskositas.



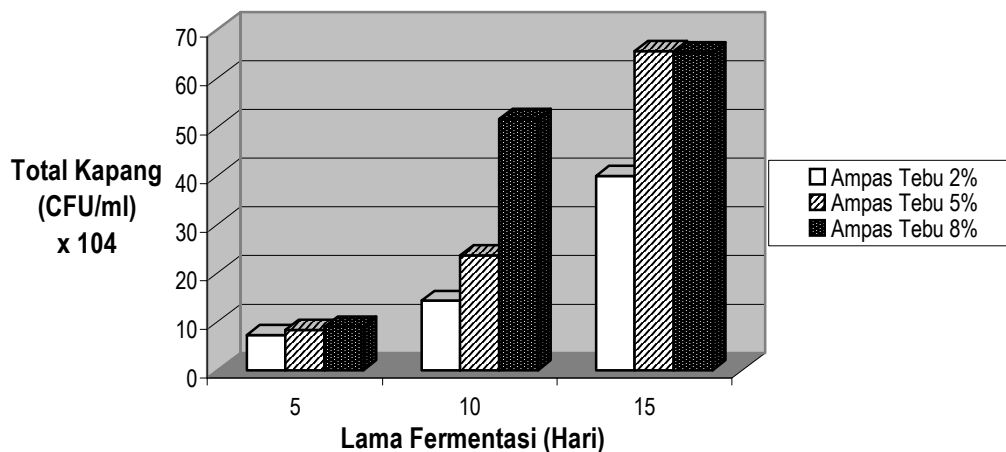
Gambar 3. Grafik korelasi antara viskositas glukosa cair dengan total padatan terlarut

padatan terlarut (Gambar 3.) dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi dan konsentrasi ampas tebu yang tinggi maka kadar glukosa meningkat dan viskositas mengalami kenaikan sehingga total padatan terlarut juga meningkat.

Rerata total padatan terlarut glukosa cair hasil fermentasi ampas tebu berkisar antara 2,33-6,47 %Brix. Uji DMRT 5% menunjukkan hasil total padatan terlarut tertinggi (6,47 %Brix) pada perlakuan lama fermentasi 15 hari dan konsentrasi ampas tebu 8% serta hasil terendah (2,33 %Brix) pada perlakuan lama fermentasi 5 hari dan konsentrasi ampas tebu 2%. Berdasarkan korelasi antara kadar glukosa dan viskositas (Gambar 2.) dan korelasi antara viskositas dengan total

padatan terlarut (Gambar 3.) dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi dan konsentrasi ampas tebu yang tinggi maka kadar glukosa meningkat dan viskositas mengalami kenaikan sehingga total padatan terlarut juga meningkat.

Pertumbuhan mikroorganisme mengacu pada penambahan total massa sel melebihi inokulum awal. Kecenderungan pengaruh perlakuan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi terhadap pertumbuhan kapang *Trichoderma viride* (cfu/ml) ditunjukkan pada Gambar 4.

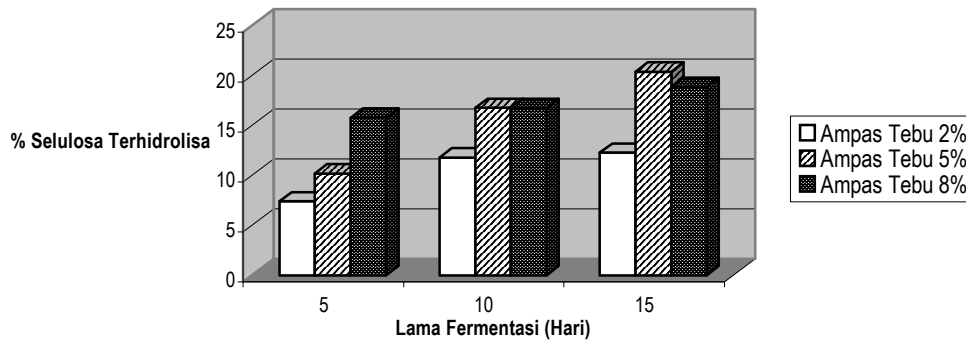


Gambar 4. Grafik Hubungan Total Kapang dan Lama Fermentasi pada Beberapa Konsentrasi Ampas Tebu

Hasil analisa ragam menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ($\alpha=0,05$) akibat perlakuan lama fermentasi terhadap total kapang sedangkan pengaruh konsentrasi ampas tebu dan interaksi keduanya tidak berbeda nyata. Pada Gambar 3. dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ampas tebu dan semakin lama fermentasi, total kapang semakin tinggi. Total kapang tertinggi adalah 65,6 (CFU/ml) pada perlakuan konsentrasi ampas tebu 5% dan lama fermentasi 15 hari, sedangkan total kapang terendah pada konsentrasi ampas tebu 2% dan lama fermentasi 5 hari. Peningkatan jumlah sel ini karena kapang yang diinokulasikan pada medium akan memperbanyak diri dalam interval waktu tertentu sehingga semakin

lama fermentasi maka kesempatan *Trichoderma viride* untuk memperbanyak sel semakin lama sehingga jumlah sel yang diproduksi lebih tinggi.

Dalam proses fermentasi, enzim selulase dari *Trichoderma viride* berperan menghidrolisa selulosa kompleks yang terkandung dalam ampas tebu menjadi unit-unit penyusunnya yaitu glukosa. Hidrolisa oleh enzim selulase menyebabkan kadar selulosa yang ada dalam medium fermentasi menurun. Rerata prosentase selulosa yang terhidrolisa berkisar antara 7,364 %-20,336 %. Kecenderungan pengaruh konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi terhadap prosentase selulosa yang terhidrolisa ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Prosentase Selulosa yang Terhidrolisa dengan Lama Fermentasi pada Konsentrasi Ampas Tebu yang Berbeda

Dari Gambar 5. dapat diketahui bahwa selulosa yang terhidrolisa meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi. Hal ini disebabkan karena aktivitas *Trichoderma viride* dalam menghasilkan enzim selulase semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sumber karbon yaitu ampas tebu. Aktivitas enzim selulase dalam menghidrolisa selulosa juga semakin meningkat pada lama fermentasi yang optimal. Peningkatan jumlah dan aktivitas enzim menyebabkan semakin banyak ikatan penyusun selulosa (β -1-4-glikosida) yang terputus menghasilkan oligosakarida untuk akhirnya diubah menjadi monomer glukosa, sehingga kadar selulosa dalam medium fermentasi menurun. Dengan demikian

semakin tinggi konsentrasi ampas tebu dan semakin lama fermentasi maka prosen-

tase selulosa yang terhidrolisa semakin tinggi. Hardjo, dkk (1989) menyebutkan bahwa adsorpsi selulase pada permukaan selulosa biasanya lebih cepat dibandingkan dengan kecepatan hidrolisa secara keseluruhan. Jumlah selulase teradsorpsi tergantung pada luas permukaan dan konsentrasi selulase, Oleh karena itu jenis dan konsentrasi selulosa dan selulase merupakan dua faktor penting untuk memperbaiki adsorpsi dalam sistem selulase.

Hasil analisa ragam menunjukkan pengaruh yang nyata dari perlakuan konsentrasi ampas tebu terhadap prosentase

selulosa yang terhidrolisa sedangkan lama fermentasi dan interaksi keduanya tidak berbeda nyata. Rerata prosentase selulosa yang terhidrolisa akibat perlakuan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Prosentase Selulosa yang Terhidrolisa

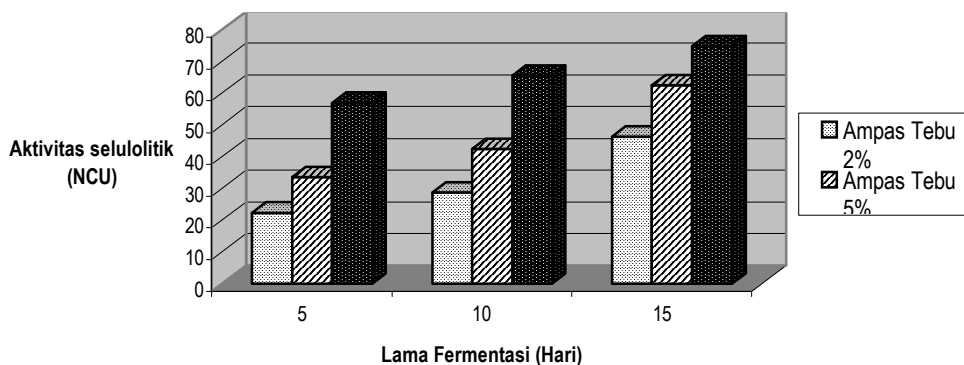
Konsentrasi Ampas Tebu (%)	Rerata % Selulosa yang Terhidrolisa
2	10,459
5	15,745
8	17,095
BNT(0,05)	12,457

Uji BNT 5% (Tabel1.) menunjukkan bahwa hidrolisa selulosa tertinggi pada konsentrasi ampas tebu 5% dan lama fermentasi 15 hari sedangkan hidrolisa selulosa terendah pada konsentrasi ampas tebu 2% dan lama fermentasi 5 hari. Hal ini disebabkan karena ampas tebu adalah sumber karbon utama bagi *Trichoderma viride* dan substrat selulosa yang dihidrolisa oleh enzim selulase menjadi metabolit glukosa. Sebagaimana pernyataan Schlagel (1990), bahwa jenis mikroorganisme berupa kapang *Trichoderma viride* yang dikulturkan selalu mensintesa enzim selulase jika substratnya mengandung selulosa. Shuler (1980) melanjutkan bahwa komponen selulase tergantung pada fungsi individualnya mengkatalisa reaksi dengan teratur atau

secara parallel untuk memecah ikatan panjang selulosa menjadi glukosa.

Pada fermentasi hari ke-15, prosentase selulosa yang terhidrolisa dari medium yang mengandung ampas tebu 8% lebih rendah daripada konsentrasi ampas tebu 5%. Secara teori, hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi ampas tebu yang terlalu tinggi, karena ampas tebu mengandung lignin dalam jumlah cukup besar, sehingga ampas tebu sulit untuk dihidrolisa akibat penghalangan penetrasi enzim oleh lignoselulosa. Kandungan lignin dalam ampas tebu menurut Cowling & Kirk (1976), Grace (1977) dan Anonymous (1979) adalah 18-20%. Lignin ini akan membentuk kompleks lignoselulosa yang menghalangi penetrasi enzim ke dalam substrat (de Wit,1980)

Aktivitas Selulolitik menunjukkan kemampuan enzim selulase untuk menghidrolisa selulosa menjadi glukosa. Aktivitas Selulolitik *Trichoderma viride* diukur berdasarkan kadar glukosa yang terbentuk selama fermentasi dikalikan dengan 1 NCU (μg glukosa per ml per menit oleh enzim murni dalam medium CMC). Rerata aktivitas selulolitik akibat perlakuan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi berkisar antara 22,341-74,678 NCU. Kecenderungan pengaruh perlakuan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi ditunjukkan pada Gambar 6.

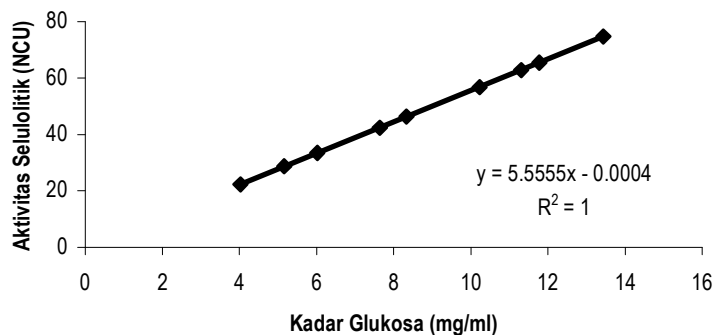


Gambar 6. Rerata aktivitas selulolitik akibat perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ampas tebu

Gambar 6. menunjukkan aktivitas selulolitik *Trichoderma viride* terus meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi. Hal ini disebabkan karena aktivitas selulolitik mempunyai korelasi positif dengan kadar metabolit glukosa yang dihasilkan dari fermentasi oleh *Trichoderma viride*, dimana semakin tinggi kadar glukosa menunjukkan aktivitas selulolitik yang tinggi. Sebagaimana pendapat Chang (1982) bahwa selulase adalah enzim yang mampu menguraikan selulosa dengan memutuskan ikatan β (1-4) glikosida menghasilkan oligosakarida turunan selulosa untuk akhirnya dirubah menjadi monomer glukosa.

Dari hasil analisa ragam diketahui bahwa perlakuan konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas selulolitik dan terdapat interaksi nyata antara keduanya. Uji DMRT 5% menunjukkan bahwa nilai aktivitas selulolitik tertinggi adalah 74,678 NCU pada perlakuan konsentrasi ampas

tebu 8% dan lama fermentasi 15 hari, sedangkan nilai terendah adalah 22,34 NCU pada konsentrasi ampas tebu 2% dan lama fermentasi 5 hari dengan beda nyata antar perlakuan. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ampas tebu maka nutrisi karbon cukup banyak tersedia untuk sintesa enzim selulase dan semakin lama berlangsung maka kontak antara substrat dengan enzim semakin lama sehingga proses pemecahan substrat berlangsung optimal dan kadar glukosa semakin tinggi. Menurut Triantarti (2000), aktivitas metabolisme yang tinggi akan mengakibatkan proses perbanyakan sel dan produksi metabolit yang tinggi juga seiring dengan meningkatnya ketersediaan nutrisi/faktor tumbuh dan sumber karbon dalam media pertumbuhannya. Dengan demikian maka tingginya kadar glukosa dalam glukosa cair menunjukkan aktivitas selulolitik yang tinggi pula. Korelasi antara kadar glukosa dengan aktivitas selulolitik ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik korelasi antara kadar glukosa dengan aktivitas selulolitik

Gambar 7. menunjukkan adanya korelasi positif antara kadar glukosa dengan aktivitas selulolitik kapang *Trichoderma viride* dengan nilai determinasi 1. Berdasarkan gambar tersebut berarti dengan meningkatnya kadar glukosa maka aktivitas selulolitik juga meningkat demikian pula sebaliknya, dengan makin menurunnya

kadar glukosa maka aktivitas selulolitik semakin rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi ampas tebu dan lama fermentasi berpengaruh terhadap sifat fisik maupun kimia glukosa cair.

Perlakuan konsentrasi ampas tebu berpengaruh sangat nyata ($\alpha= 0,01$) terhadap kadar glukosa, aktivitas selulolitik, viskositas, total padatan terlarut. Lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha= 0,01$) terhadap kadar glukosa, total kapang, aktivitas selulolitik, viskositas, total padatan terlarut.

Kadar glukosa tertinggi (13,442%) dicapai pada perlakuan konsentrasi ampas tebu 8% dan lama fermentasi 15 hari. Persentase selulosa terhidrolisa pada perlakuan tersebut sebesar 18,829% dengan nilai aktivitas selulolitik 74,678 NCU, total kapang $65,33 \times 10^5$ cfu/ml, viskositas $9,387 \times 10^{-3}$ centipoise dan total padatan terlarut 6,47 (brix).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1979. The Management and Utilization of Food Waste Materials. Project Report. ASEAN Subcommittee on Protein. Denpasar.
- Chang, S.C. and K.H. Steinkraus. 1982. Application Environmental Microbiology.
- Cho Kyun, R. 1999. Theory, Determination and Control of Physical Properties of Food Material. Reided Publishing Company. Boston. USA.
- Cowling, E.B. and Kirk, T.K. 1976. Properties of Cellulose and Lignocellulosic Materails as Substrate for Enzymic Conversion Processes. In Enzymic Coversion of Cellulosic Materials : Technology and Applications. Edited by E. L. Gaden Jr., M.H. Mandels, E.T. reese and L. A. Spano. John Willey and Sons. Inc. New York.
- Grace, M.R. 1977. Cassava Processing Food and Agriculture Organization of The United Nation. Rome. Italy.
- Judoamidjoyo, M.darwis, G. E. Said. 1992. Teknologi Fermentasi. Rajawali Press. Jakarta.
- Martin, J.P. Abbot, E.V. and Hughes, C.G. 1962. Sugar Cane Diseases of The World. Elsevier Publishing Company, New York.
- Radley, J. A. 1992. Starch Production Technology. VCH Publishers Inc. New York.
- Rose. A.H. 1987. Microbial Enzyme and Bioconversions. Academic Press. London.
- Said, E.G. 1987. Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Schlagel. 1990. General Microbiology 6th ed. Cambridge University Press, New York.
- Sulistiyani, P. dan T.M. Setyowati. 2000. Optimasi pH dan Lama Fermentasi untuk Produk Sirup Glukosa dari Alang-alng oleh *Trichoderma viride*. Jurusan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Indstri. UPN “Veteran”. Surabaya.
- Sternberg, D. 1976. Production of Cellulase by *Trichoderma viride*. In Enzymatic Conversion of Cellulosic Materails : Technology and Applications. Edited by E. L. Gaden, Jr. M. H. Mandels, E.T. Reese and L.A. Spano. John Willey and Sons, Inc. New York.
- Triantarti. 2000. Optimasi Produksi Dekstras dengan Menggunakan Nira Tebu sebagai Bahan Baku dalam Laporan Triwulan I. Kerjasama P3GI dengan PTPN XI. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. Pasuruan.
- Wood, B.J.B. 1998. Microbiology of fermented Foods. 2th. Blackie Academic and Profesional. London.

