

KINETIKA FERMENTASI PRODUKSI SELULASE DARI ISOLAT ACTINOMYCETES ACP-7 PADA MEDIA PADAT JERAMI PADI

(FERMENTATION KINETIC OF CELLULASE PRODUCTION BY ACTINOMYCETES ACP-7 ISOLATE IN SOLID STATE RICE STRAW MEDIUM)

Heri Satria, Dian Herasari, Surtoto Dwi Yuwono

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No 1, Gedung Meneng Bandar Lampung 35145

E-mail : satria_chemistry@unila.ac.id

Received : 23 Agustus 2011; revised : 26 September 2011; accepted : 3 Oktober 2011

ABSTRAK

Biokonversi selulosa yang terkandung di dalam jerami padi memerlukan sumber enzim selulase yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme antara lain actinomycetes. Isolat AcP-7 merupakan salah satu actinomycetes yang telah berhasil disolasi dari jerami padi yang memiliki kemampuan selulolitik cukup baik dengan indeks selulolitik sebesar 3,36. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui kondisi optimum fermentasi padat menggunakan inokulum actinomycetes isolat AcP-7 pada media jerami padi. Tiga perlakuan pH pada level 6,00; 7,00; dan 8,00 diujikan bersamaan dengan perlakuan perbandingan substrat : *moisture* masing-masing 1:1; 1:2; 1:3; dan 1:4. Setelah kondisi optimum diperoleh enzim selulase diproduksi menggunakan kondisi tersebut dan beberapa parameter kinetika fermentasi dievaluasi. Kondisi optimum fermentasi padat isolat AcP-7 pada substrat jerami padi berada pada pH 8,00 dengan perbandingan substrat : *moisture* 1:4. Fase eksponensial tercapai pada fermentasi hari ke-9 sampai hari ke-21 dengan laju pertumbuhan spesifik biomass sebesar 1,394 cfu mL⁻¹ per-hari. Koefisien rasio produk terhadap substrat (Y_p/s) sebesar 0,329, rasio produk terhadap biomass sel (Y_p/x) sebesar 15,160, dan rasio biomass terhadap substrat (Y_x/s) sebesar 0,020. Laju maksimum produksi glukosa (μ maks) sebesar 31,25 g per hari dengan Konstanta Monod (K_s) sebesar 74,34 g, sedangkan laju spesifik pembentukan produk maksimum (q_p) sebesar 2,061 g/g biomass per-hari dan penggunaan substrat maksimum (q_s) dengan sistem fermentasi yang diterapkan dapat mencapai 1557,5 g.

Kata kunci : Selulosa, Selulase, Jerami padi, Actinomycetes, Kinetika fermentasi

ABSTRACT

Bioconversion of cellulose contained in the rice straw requires a source of cellulase enzymes that can be produced by microorganisms such as actinomycetes. Isolates AcP-7 is one of the actinomycetes that have been successfully isolated from rice straw. It has good cellulolytic ability with cellulolytic index of 3.36. Objective of this research is to determine the optimum conditions of solid fermentation using inoculum actinomycetes isolates AcP-7 in the rice straw media. Three treatments at the level of pH 6.00; 7.00, and 8.00 were tested simultaneously with the treatment ratio of substrate to moisture each 1:1; 1:2; 1:3, and 1:4. Once the optimum conditions obtained by cellulase enzymes using these conditions and some fermentation kinetics parameters were evaluated. Optimum conditions of solid fermentation isolates AcP-7 in the rice straw substrate was at pH 8.00 with a ratio of substrate to moisture 1:4. Exponential phase of fermentation is reached on day 9 to day 21 with the specific biomass growth rate of 1.394 cfu mL⁻¹ per day. The coefficient of the ratio of product to substrate (Y_p/s) of 0.329, the ratio of products to cell biomass (Y_p/x) of 15.160, and the ratio of biomass to substrate (Y_x/s) of 0.020. The maximum rate of glucose production (μ max) is 31.25 g per day with Monod constant (K_s) of 74.34 g, while the maximum rate of specific product formation (q_p) is 2.061 g / g of biomass per day. The maximum substrate (q_s) are applied on fermentation system to achieve 1557,5 g.

Key words: Cellulose, Cellulases, Rice straw, Actinomycetes, Kinetics of fermentation

PENDAHULUAN

Jerami padi merupakan salah satu bagian dari limbah biomassa berlignoselulosa yang dihasilkan dari kegiatan pertanian di Indonesia. Menurut data BPS pada tahun 2010, produksi padi di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 65,15 juta ton per tahun. Sebagai salah satu produsen padi nasional angka kenaikan produksi padi di provinsi Lampung pada tahun 2007 sampai 2008 mencapai 0,77%, pada tahun 2008 sampai 2009 mencapai 0,85%, dan pada tahun 2009 sampai 2010 mencapai 0,2%. Peningkatan ini secara tidak langsung menyebabkan peningkatan volume jerami padi sebagai hasil samping produksi padi. Potensi limbah berlignoselulosa untuk menghasilkan produk yang bermanfaat sangat besar. Biokonversi lignoselulosa dapat menghasilkan beberapa produk yang memiliki nilai ekonomi seperti sumber gula yang dapat dimanfaatkan untuk industri bioetanol, asam sitrat, furfural dan xilitol, atau dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak bahkan pakan bagi manusia (Howard *et al.* 2003).

Jerami padi diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34,2% berat kering, 24,5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23,4% (Wyman *et al.* 2002). Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman yang merupakan polimer glukosa yang tersusun dari unit-unit β -1,4-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4-D-glikosida (Han *et al.* 1995). Jika ikatan ini diputus baik secara hidrolisis asam maupun enzimatis, akan dihasilkan komponen penyusun selulosa berupa oligosakarida bahkan glukosa. Secara biokimia pemutusan ikatan glikosidik pada selulosa memerlukan enzim yang dikenal sebagai enzim selulase. Enzim ini berperan dalam hidrolisis selulosa dengan memecah ikatan β -1,4-D-glikosida untuk menghasilkan oligosakarida maupun glukosa. Selulase banyak dihasilkan oleh mikroba pengurai seperti mikrofungi, actinomycetes, dan beberapa bakteri yang memiliki kemampuan mensekresikan enzim untuk mendapatkan sumber karbon dalam siklus hidupnya.

Kendala dalam pendegradasian lignoselulosa untuk mendapatkan gula-gula yang dapat difermentasi lebih lanjut adalah keberadaan lignin. Lignoselulosa tersusun atas lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Lignin terikat pada hemiselulosa dan selulosa yang membentuk struktur berlapis. Struktur ini menghalangi larutan atau enzim yang akan

digunakan untuk menguraikan selulosa dan hemiselulosa menjadi gula-gula penyusunnya (Howard *et al.* 2003). Oleh sebab itu diperlukan proses delignifikasi sebelum sakarifikasi (Taherzadeh and Karimi 2008).

Proses hidrolisis lignoselulosa secara lengkap memerlukan sistem enzim yang simultan untuk memperoleh hasil akhir yang diinginkan. Penggunaan actinomycetes dalam pendegradasian limbah berlignoselulosa memiliki nilai strategis jika dibandingkan dengan mikroba lainnya karena mikroba ini memiliki sistem enzim hidrolitik yang lengkap. Actinomycetes merupakan bakterial tanah yang memiliki kemampuan untuk menguraikan lignoselulosa secara lengkap, karena genus ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim-enzim hidrolitik ekstraselular (Wendish and Kutzner 1992). Kemampuan actinomycetes dalam mendegradasi lignoselulosa bukan saja dapat dimanfaatkan untuk proses delignifikasi tetapi juga sekaligus proses sakarifikasi karena kebanyakan dari genus ini mampu menghasilkan enzim ligninase, selulase, dan hemiselulase secara bersamaan. Mikroorganisme yang selama ini diketahui memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa seperti *Trichoderma reesei* (Howard *et al.* 2003) tidak memiliki kemampuan menghidrolisis lignin. Sebaliknya jamur pelapuk akar dari kelas *Basidiomycetes* mampu mendegradasi lignin tetapi tidak memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa (Gold dan Alic 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan actinomycetes isolat AcP-7 yang telah diperoleh sebelumnya dan memiliki kemampuan selulolitik dengan indeks 3,36 pada media yeast-maltosa agar yang disuplementasi 0,5% CMC dalam menghasilkan enzim selulase pada kondisi perlakuan optimum, dan tinjauan kinetika fermentasi menggunakan substrat jerami padi dengan menggunakan teknik fermentasi padat.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Jerami yang digunakan berasal dari Pringsewu, Lampung varietas ciherang, isolat actinomycetes merupakan koleksi Heri Satria (Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung) yang ditumbuhkan pada media yeast-maltosa agar, semua zat kimia yang

digunakan berkualifikasi pro-analisis kecuali disebutkan khusus.

Metode

Optimasi Fermentasi Padat

Isolat AcP-7 ditumbuhkan pada media inokulum yang dibuat dengan mengkultur dua loop isolat pada media Yeast-Maltosa cair yang terdiri dari (g/L) ekstrak khamir 4; ekstrak malt 10; glukosa 14. Sebanyak 50 ml inokulum ditambahkan kepada media fermentasi yang telah disterilkan yang berisi 500 gr jerami berukuran 60 mesh, 0,6% ekstrak khamir dalam larutan trace elemen. *Moisture* yang digunakan adalah buffer fosfat dengan variasi perbandingan substrat: *moisture* sebesar 1:1, 1:2, 1:3, dan 1:4 dan variasi pH 6,0;7,0;8,0. Kultur dilakukan dengan menggunakan wadah kaca dengan memperhatikan sisa ruang di atasnya untuk memberikan suasana fakultatif aerobik selama 21 hari. Parameter yang diamati dalam fermentasi adalah dekomposisi substrat jerami dengan mengukur kandungan total glukosa yang dibebaskan dengan menggunakan metode DNS, dan aktivitas enzim selulase yang disekresikan. Untuk memperoleh kondisi optimum fermentasi digunakan perhitungan ANOVA dan uji beda nyata terkecil Duncan (BNT-Duncan) pada taraf 5% menggunakan program SPSS14.

Kurva Pertumbuhan Isolat AcP-7

Kurva pertumbuhan isolat AcP-7 diperoleh dengan mengkultur isolat AcP-7 pada media fermentasi jerami padi pada kondisi optimum yang diperoleh pada prosedur optimasi. Sebanyak 50 ml inokulum ditambahkan kepada media fermentasi yang telah disterilkan yang berisi 500 gr jerami berukuran 60 mesh, 0,6% ekstrak khamir dalam larutan trace elemen. Pengukuran jumlah sel actinomycetes dilakukan secara tidak langsung pada fermentasi hari ke 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 dan 30. Sebanyak 1 gram media yang sudah diinokulasikan dimasukkan ke dalam 100 mL larutan garam fisiologis lalu di homogenisasikan hingga merata. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan larutan yang sama sampai tingkat pengenceran optimum agar sel dapat dihitung.

Sebanyak 100 μ L campuran biakan dalam larutan garam fisiologis di kultur dengan menggunakan teknik pour plate pada media YMA yang terdiri dari (g/L) ekstrak khamir 4; ekstrak malt 10; glukosa 14, agar-agar 15. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 14 hari, koloni actinomycetes yang tumbuh dihitung

sebagai jumlah sel per-ml (cfu mL⁻¹). Data yang diperoleh diplotkan sebagai kurva pertumbuhan AcP-7 pada media fermentasi. Untuk melihat kurva aktivitas enzim selulase pada periode yang sama dilakukan pemanenan enzim dengan menambahkan 200 ml 0,2M buffer fosfat pH optimum, kemudian diaduk dan disaring dengan menggunakan glass wool dan kertas saring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk mengkuantifikasi aktivitas enzim (Ramachandra *et al.* 1987).

Pengukuran Aktivitas Enzim dan Kadar Glukosa.

Aktivitas selulase diujikan dari aktivitas endoglukanase dengan pengujian enzim pada substrat CMC. Sebanyak 500 μ l substrat 0,5% CMC ditambahkan 450 μ l 0,2 M buffer fosfat pH optimum. Kemudian larutan ini ditambahkan 50 μ l ekstrak kasar enzim dihomogenisasi, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit lalu ditambahkan 1000 μ l pereaksi DNS dan segera dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi masing-masing larutan dilakukan pada λ 540 nm (Miller, 1959). Kadar glukosa yang terbentuk ditentukan dengan menggunakan kurva standar glukosa. Satu unit aktivitas selulase didefinisikan sebagai jumlah μ mol glukosa yang dihasilkan per menit untuk setiap ml enzim pada kondisi optimumnya.

Pengukuran Kadar Selulosa Jerami Padi

Kandungan selulosa pada jerami padi diukur berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Van Soest dan Wine (1967) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 1 gram jerami kering dimasukkan ke dalam labu bundar, tambahkan 15 ml asam asetat 80% dan 1,5 ml asam nitrat pekat, kemudian direfluks selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 91 yang telah diketahui bobotnya (A). Setelah dilakukan penyaringan, padatan hasil dari refluks dicuci dengan etanol. Erlenmeyer dan corong dibilas dengan air suling sebanyak 3 kali. Kertas saring beserta residu dikeringkan pada oven dengan suhu 100 sampai 105 °C selama 1-2 jam. Kertas saring didinginkan dan ditimbang bobotnya (B). Kertas saring dengan residu diabukan pada suhu 540°C, lalu didinginkan ditimbang bobotnya (C). Kadar selulosa di hitung menggunakan rumus persamaan (1) sebagai berikut :

$$\text{Kadar Selulosa}(\%) = \frac{B-A-C}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \dots(1)$$

Pengukuran Kinetika Fermentasi

Laju pertumbuhan spesifik actinomycetes dihitung secara tidak langsung dengan menghitung konsentrasi sel (cfu mL⁻¹) pada media dan diplotkan pada kurva regresi ln jumlah sel terhadap berat biomassa yang dihitung berdasarkan berat kering sel (Panda and Rameshaiah, 2009). Rasio produk terhadap substrat (Yp/s), rasio produk terhadap biomass sel (Yp/x), dan rasio biomass terhadap substrat (Yx/s) dihitung berdasarkan data biomass sel (x), selulosa pada jerami terfermentasi (s), dan glukosa total (p) selama fermentasi. Untuk mengetahui nilai Ks (Konstanta Monod (g) pada saat ½ laju pertumbuhan spesifik maksimum) dan μ_{maks} (laju pertumbuhan spesifik maksimum) digunakan persamaan (2) yang dikenal dengan persamaan Monod (Viccini *et al.*, 2001) sebagai berikut :

$$\mu = \frac{\mu_{maks} S}{K_s + S} \dots\dots\dots (2)$$

Laju spesifik pembentukan produk maksimum (q_p) dihitung dengan menggunakan persamaan (3) dan penggunaan substrat maksimum (q_s) dihitung dengan persamaan (4).

$$q_p = \frac{\mu_{maks}}{Y(p/x)} \dots\dots\dots (3)$$

$$q_s = \frac{\mu_{maks}}{Y(x/s)} \dots\dots\dots (4)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Fermentasi Padat

Pada penelitian ini dikembangkan fermentasi padat dengan tujuan untuk melakukan efisiensi pengolahan terhadap limbah jerami padi, karena fermentasi padat lebih sedikit menggunakan energi, bahan kimia dan penanganan substrat jerami padi pada langkah perlakuan awal tidak begitu rumit. Selain itu actinomycetes yang digunakan merupakan kelompok bakteri yang memiliki hyfa sehingga memungkinkan untuk melakukan kolonisasi pada substrat padat jerami padi.

Pengaruh pH dan *moisture* yang diujikan dilihat dari dua aspek yaitu konsentrasi glukosa sebagai produk akhir hidrolisis selulosa yang dilakukan secara enzimatik oleh actinomycetes, dan aktivitas enzimnya sendiri pada akhir fermentasi hari ke-21. Jika ditinjau dari kandungan glukosa pada media pengaruh pH dan *moisture* memiliki interaksi yang signifikan, hal ini di lihat dari hasil analisis secara statistika

dimana nilai F hitung lebih besar dari F tabel. Tetapi hasil perhitungan untuk aktivitas enzim Tabel 1. Hasil optimasi fermentasi padat terhadap perlakuan pH dan tingkat *moisture*

Perlakuan		Konsentrasi Glukosa ¹⁾	Aktivitas Enzim ²⁾
pH	<i>Moisture</i>	(g mL ⁻¹)	(Unit mL ⁻¹)
6,00	1 : 1	1.556 ^{ab}	1.235
6,00	1 : 2	1.551 ^a	1.224
6,00	1 : 3	1.588 ^b	1.307
6,00	1 : 4	2.115 ^c	2.033
7,00	1 : 1	1.597 ^b	1.327
7,00	1 : 2	1.690 ^b	1.533
7,00	1 : 3	1.703 ^b	1.562
7,00	1 : 4	2.289 ^d	2.271
8,00	1 : 1	2.362 ^d	2.656
8,00	1 : 2	2.457 ^{de}	2.794
8,00	1 : 3	2.534 ^e	2.964
8,00	1 : 4	3.251 ^f	3.849

1) Interaksi perlakuan pH dan *moisture* memberikan signifikansi pada uji F pada taraf 5%. Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% pada uji BNT-Duncan. 2) Interaksi perlakuan pH dan *moisture* tidak signifikan pada uji F pada taraf 5%.

menunjukkan interaksi antara pH dan *moisture* tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Dari hasil yang diperoleh fermentasi pada pH 8 dan perbandingan *moisture* 1 : 4 memberikan hasil terbaik dan memiliki perbedaan yang nyata pada uji BNT-Duncan. Data hasil pengukuran kandungan glukosa dan aktivitas enzim selulase pada akhir fermentasi disajikan pada Tabel 1.

Pada fermentasi padat pH yang terukur adalah pH awal atau yang lebih dikenal sebagai pH inisiasi yang dikondisikan dengan memberikan buffer fosfat. Chellapandi and Jani (2008) mengatakan untuk mengontrol pH pada saat fermentasi padat berjalan tidak semudah pada fermentasi kultur cair. Hal ini disebabkan partikel padat menyerap metabolit yang dihasilkan mikroba tidak homogen tergantung dari konsentrasi kolonisasi mikroba tersebut. Sehingga homogenisasi *moisture* diawal fermentasi dengan menggunakan buffer yang sesuai sangat menentukan jalannya fermentasi. Jika dilihat dari hasil yang ditunjukkan pada penelitian ini selulase dihasilkan pada pH inisiasi yang cenderung basa.

Kisaran pH untuk selulase bakteri khususnya actinomycetes memiliki rentang yang cukup luas dari 4,5 sampai 9,0 (Subramaniyan and Prema, 2002). Solingen *et al.* (2001) memperoleh isolat *Streptomyces* yang berasal dari danau di Afrika Timur yang menghasilkan selulase optimum pada pH 8.

Dari fenomena ini asal isolat diperoleh sangat menentukan pada pH inisiasi berapa isolat dapat menghasilkan selulase secara optimal.

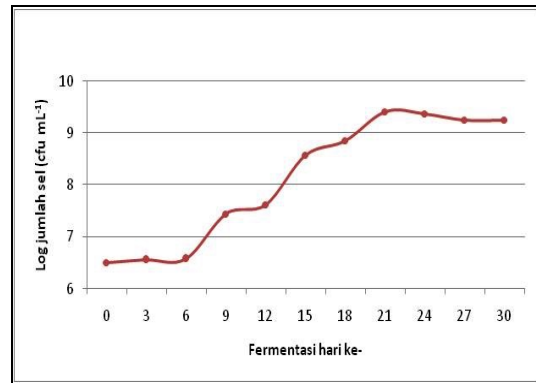
Kurva Pertumbuhan Isolat AcP-7 pada Media Fermentasi

Kurva pertumbuhan isolat AcP-7 pada media fermentasi dilihat dari dua data yaitu jumlah sel actinomycetes dalam satuan cfu mL⁻¹ dan aktivitas enzim yang dihasilkan dalam satuan unit mL⁻¹. Dari grafik yang diperoleh (Gambar 1 dan Gambar 2) fase eksponensial tercapai pada hari ke-9 sampai hari ke-21 fermentasi. Kepadatan sel tertinggi tercapai pada hari ke-21 dengan kuantitas sebesar 2,6 x10⁹ cfu mL⁻¹ dan aktivitas enzim selulase juga tercapai pada hari ke-21 sebesar 3,765 unit mL⁻¹.

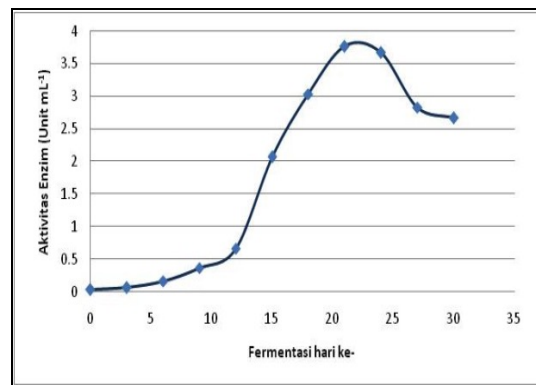
Hasil yang diperoleh menunjukkan fenomena yang sama dengan apa yang telah diteliti oleh Yamac dan Tamer (2008), dimana mereka mempelajari tentang penguraian lignin jerami gandum oleh isolat *Streptomyces* terpilih. Fase eksponensial yang diperoleh mulai tercapai pada fermentasi minggu ke-2 hingga ke-3. Sebagaimana dijelaskan oleh Hamelinck *et al.* (2005) bahwa pada lignoselulosa struktur ikatan hemiselulosa dan lignin terbentuk secara kovalen dan melapisi selulosa. Struktur ini harus dimodifikasi dengan menghilangkan lignin untuk menghasilkan hidrolisis selulosa dan hemiselulosa lebih efisien. Dari fenomena yang diperoleh selulosa terdegradasi untuk menghasilkan glukosa mulai mencapai fase eksponensial pada hari ke-9, hal ini memungkinkan dicapai setelah lignin pada jerami padi terdegradasi lebih awal. Pola pertumbuhan sel actinomycetes memiliki kesamaan dengan pola aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

Laju pertumbuhan spesifik biomass isolat AcP-7 diperoleh dengan memperhatikan pencapaian fase eksponensial yaitu pada hari ke-9 sampai hari ke-21. Gambar 3. menunjukkan grafik linier yang menggambarkan laju pertumbuhan spesifik isolat AcP-7 sebesar 1,394 cfu mL⁻¹ per-hari. Pertumbuhan actinomycetes dibandingkan dengan bakteri pada umumnya relative lebih lambat (Paul and Clark 1996) terlebih dalam penelitian ini digunakan substrat jerami padi yang merupakan substrat kompleks yang harus diuraikan terlebih dahulu menjadi senyawaan yang lebih sederhana sebelum dimanfaatkan dalam metabolisme sel actinomycetes.

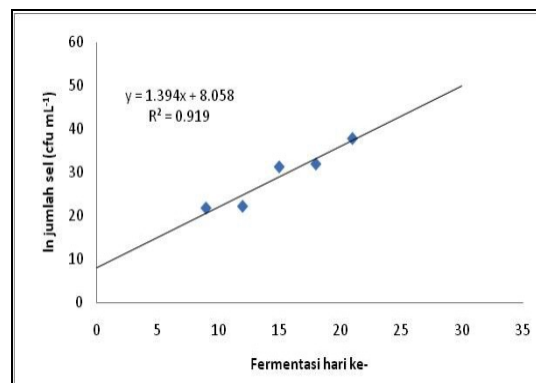
Kinetika Fermentasi



Gambar 1. Kurva pertumbuhan actinomycetes isolat AcP-7 pada media padat jerami padi



Gambar 2. Aktivitas enzim selulase selama periode fermentasi



Gambar 3. Grafik linier untuk mencari laju spesifik pertumbuhan actinomycetes isolat AcP-7 pada media jerami padi

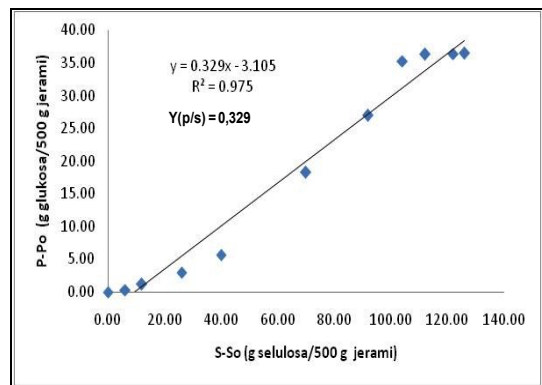
Beberapa parameter fermentasi yaitu koefisien rendemen produk ($Y_{p/s}$) yang menggambarkan jumlah produk yang dihasilkan (g) dalam hal ini glukosa berbanding dengan jumlah selulosa pada jerami padi (g) yang dikonsumsi, koefisien rendemen biomassa ($Y_{x/s}$) yang menggambarkan jumlah biomassa sel yang dihasilkan (g) berbanding dengan jumlah selulosa pada jerami padi (g) yang dikonsumsi, dan koefisien rendemen produk-biomass ($Y_{p/x}$) yang menggambarkan jumlah produk yang dihasilkan (g) berbanding dengan biomassa yang dihasilkan (g) dievaluasi dengan menggunakan teknik linierisasi. Data produk, biomassa, dan substrat yang dihasilkan selama fermentasi diplotkan untuk mendapatkan koefisien yang merupakan harga dari intercept grafik yang diperoleh. Gambar 4 sampai Gambar 6 menunjukkan hasil linierisasi untuk mendapatkan nilai-nilai $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$, dan $Y_{p/x}$.

Koefisien rendemen produk yang diperoleh sebesar 0,329 g glukosa per-gram selulosa yang dikonsumsi. Pada perlakuan ini kadar selulosa di hitung dari jerami yang terfermentasi dengan metode Van Soest dan Wine (1967), sehingga konsentrasi selulosa yang terukur merupakan nilai real yang dapat menggambarkan berapa besar selulosa yang telah terdegradasi oleh enzim selulase yang dihasilkan *actinomyces* isolat AcP-7. Selisih kandungan selulosa pada saat pengukuran dibandingkan dengan kandungan selulosa awal pada jerami padi yang digunakan dihitung sebagai nilai S-So yang akan menjadi nilai pembanding terhadap glukosa yang dihasilkan pada saat fermentasi.

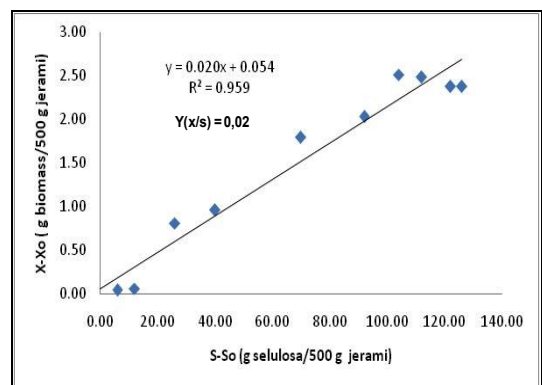
Koefisien rendemen biomassa yang dihasilkan sebesar 0,02 g berat sel kering AcP-7 per-gram selulosa yang dikonsumsi. Jika dilihat dari angka yang diperoleh pertumbuhan biomassa menunjukkan hubungan tidak langsung dengan konsumsi selulosa. Hal ini dapat dipahami bahwa sumber karbon yang dapat digunakan langsung untuk pertumbuhan sel adalah gula sederhana seperti glukosa (Jaradat *et al.* 2008), yang dihasilkan setelah *actinomyces* menghidrolisis selulosa.

Hasil penelitian Chellapandi and Jani (2008) menyatakan penambahan glukosa diawal fermentasi dapat meningkatkan aktivitas selulase yang dihasilkan oleh *Streptomyces* mencapai 8,05 unit mL^{-1} dibandingkan dengan penambahan selulosa murni yang hanya mencapai 4,00 unit mL^{-1} . Sedangkan rendemen produk-biomassa menunjukkan 15,16 g glukosa mampu dihasilkan setiap 1 gr kering biomassa AcP-7.

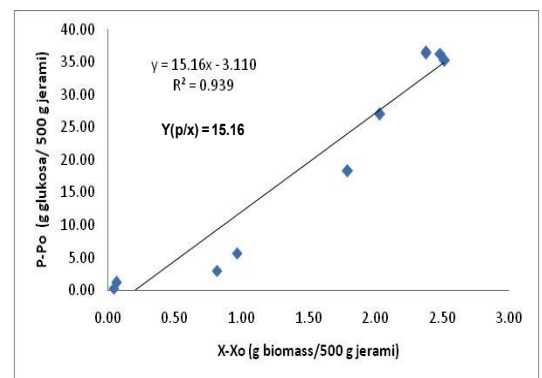
Permodelan kinetika Monod yang digunakan untuk mengevaluasi laju maksimum produksi glukosa (μ maks) dan laju penggunaan substrat selulosa yang digambarkan dengan konstanta Monod (K_s) menunjukkan bahwa nilai μ maks sebesar 31,25 dan konsentrasi substrat pada saat setengah dari laju maksimum produksi glukosa (K_s) sebesar 74,34 g.



Gambar 4. Grafik linier antara P-Po dan S-So untuk mencari nilai $Y_{p/s}$



Gambar 5. Grafik linier antara X-Xo dan S-So untuk mencari nilai $Y_{x/s}$



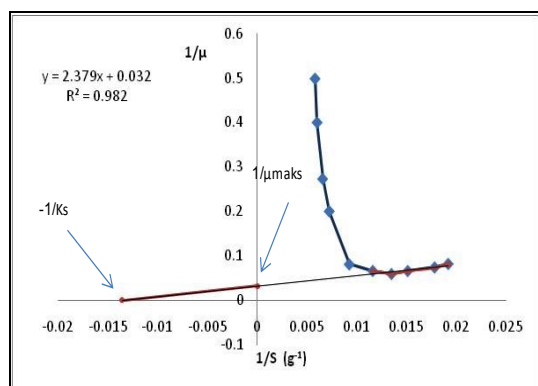
Gambar 6. Grafik linier antara P-Po dan X-Xo untuk mencari nilai $Y_{p/x}$

Nilai μ maks dan K_s diperoleh dengan memplotkan nilai $1/\mu$ yaitu invers dari laju reaksi produksi glukosa dan $1/S$ yaitu invers dari konsentrasi selulosa yang dikenal dengan Linewear-Burk plot. Garis linier ditarik untuk mendapatkan nilai $1/\mu$ maks dan $-1/K_s$ sehingga nilai-nilai μ maks dan K_s diketahui (Gambar 7).

Model ini mengikuti kinetika yang dijelaskan oleh Michaelis-Menten, walaupun untuk diterapkan pada kultur padat model kinetika ini memiliki kelemahan terutama dalam hal homogenitas dan deaktivasi enzim karena adsorpsi enzim pada material padatan (Bansal *et al.* 2009), tetapi penggunaannya pernah dilakukan oleh Movagharnjad *et al.* (2005) untuk mengevaluasi kinetika selulase komersial (Novo, Denmark) dengan hasil konversi selulosa diatas 70% meskipun menghadapi kendala dalam kemampuan mengakses sisi aktif enzim. Beberapa nilai parameter kinetika disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa laju spesifik pembentukan produk maksimum (q_p) sebesar 2,061 g/g biomassa per-hari. Hasil ini menunjukkan bahwa laju degradasi selulosa pada jerami padi oleh selulase yang dihasilkan actinomyces isolat AcP-7 cukup tinggi. Sedangkan penggunaan substrat maksimum (q_s) dengan sistem fermentasi yang diterapkan dapat mencapai 1557,5 g.

Belum banyak hasil penelitian yang mengeksplorasi kinetika penguraian selulosa dari jerami padi menggunakan isolat actinomyces, sehingga data yang disajikan masih sulit untuk dibandingkan dengan pencapaian peneliti lainnya.



Gambar 7. Grafik Linewear-Burk plot untuk memperoleh nilai $1/\mu$ maks dan $-1/K_s$ dari persamaan kinetika Monod

Tabel 2. Nilai Beberapa Parameter Kinetika Fermentasi

No	Parameter	Nilai
1	Y (p/s)	0,329
2	Y (p/x)	15,160
3	Y (x/s)	0,020
4	$1/\mu$ maks	0,032 $g^{-1} d$
5	μ maks	31,250 $g d^{-1}$
6	K_s/μ maks	2,379
7	K_s	74,344 g
8	q_p	2,061 $g g^{-1} d^{-1}$
9	q_s	1.557,500 g

*) g adalah gram produk, g^{-1} adalah gram biomassa, d = hari

KESIMPULAN

Kondisi optimum fermentasi padat isolat AcP-7 pada substrat jerami padi pada pH 8,00 dan perbandingan substrat:moisture 1:4. Fase eksponensial tercapai pada fermentasi hari ke-9 sampai hari ke-21 dengan laju pertumbuhan spesifik biomass sebesar 1,394 $cfu mL^{-1}$ per-hari. Koefisien rasio produk terhadap substrat ($Y_{p/s}$) sebesar 0,329, rasio produk terhadap biomass sel ($Y_{p/x}$) sebesar 15,160, dan rasio biomass terhadap substrat ($Y_{x/s}$) sebesar 0,020. Laju maksimum produksi glukosa (μ maks) sebesar 31,25 g per hari dengan Konstanta Monod (K_s) sebesar 74,34 g, sedangkan laju spesifik pembentukan produk maksimum (q_p) sebesar 2,061 g/g biomass per-hari dan penggunaan substrat maksimum (q_s) dengan sistem fermentasi yang diterapkan dapat mencapai 1557,5 g.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistika (BPS) Provinsi Lampung. 2010. <http://www.lampung.bps.go.id/?r=brs/index&brs=43>, diakses tanggal 30 April 2010.
- Bansal, P., Hall M., Realf M.J., Lee J.H., Bommaris A.S. 2009. Modelling cellulase kinetics on lignocellulosic substrat. *Biotechnol. Advances.* 27:833-848.
- Chellapandi, P., Jani H.M. 2008. Production of endoglucanase by the native strain of *Streptomyces* isolates in submerged fermentation. *Brazilian J. of Microb.* 39:122-127.
- Gold M.H. and Alic M. 1993. Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol. Rev.* 57:605-622.

- Han, S.J., Y. J. Yoo, H.S. Kang. 1995. Characterization of Bifunctional Cellulase and its Structural Gene. *J. Biol. Chem.* 270: 26012-26019.
- Howard, R.L., Abotsi E., Jansen van Rensburg, E.L. Howard S. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *Afr. J. Biotechnol.* 2: 602-619.
- Hamelinck, C.N., Geertje van Hooijdonk, Faaij A.P.C. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy.* 28: 384-410.
- Jaradat, Z., Dawagreh A., Ababneh Q., Saadoun I. 2008. Influence of culture on cellulose production *Streptomyces* Sp. (strain J2). *Jordan J. of Biol. Sci.* 4: 141-146.
- Miller GI. 1959. Dinitrosalicylic assay. *Anal Chem* 31:426-428
- Movagharnjad, K., Sohrabi M. 2003. A model for the rate of enzymatic hydrolysis of some cellulosic waste materials in heterogeneous solid-liquid system. *Biochem Eng J.* 14:1-8
- Panda, T., Rameshaiah G.N. 2009. Application of actinobacterial and fungal morphology on the design of operating strategies in bioprocess development. *The Open Biotechnol. J.* 3:31-39
- Paul EA, Clark FE. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry.* 2nd edition. California: Academic Press; 30:69-99
- Ramachandra, M., Crawford D.L., Parnetto III A.L. 1987. Extracellular enzyme activities during lignocellulose degradation by *Streptomyces* spp.: a comparative study of wild-type genetically manipulated strains. *App. and Env. Microb.* 53:2754-2760.
- Solingen, V.P., Meijer D., Kleij W.A., Branett C., Bolle R., Power S.D., Jones B.E. 2001. Cloning and expression of an endocellulase gene from novel streptomycet isolated from an East African soda lake. *Extremophiles.* 5:333-341.
- Subramaniyan S, Prema P. 2002. Biotechnology of microbial xylanases: enzymology, molecular biology, and application. *Critical Rev Biotechnol* 22: 33-64.
- Taherzadeh, M., and Karimi K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production: a review. *Int. J. Mol. Sci.* 9:1621-1651.
- Van Soest, P.J. and R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Anal. Chem.* 50: 50-55.
- Viccini, G., Mitchell D.A., Boit S.D., Gern J.C., da Rosa A.S., Costa R.M., Dalsenter F.D.H., von Meien O.F., Krieger N. 2001. Analysis of growth kinetic profiles in solid-state fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 39:271-294.
- Wendisch, F.K., Kurtzner H.J. 1992. Role of *Streptomycetaceae* in biodegradation in: Balows, A., Truper, H., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. editor. *The Prokaryotes, A Handbook On The Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Application.* 2nd ed. vol 1. Springer-Verlag. New York.
- Wyman, C.E. 2002. Potential synergies and challenges in refining cellulosic biomass to fuels. *Biotechnol Progress.* 19 : 254-262.
- Yamac, M., and Tamer A.U. 2008. Lignin degradation and acid precipitable polymeric lignin (APPL) accumulation by selected *Streptomyces* strain in submerged and solid state culture system. *JABS.* 2:55-61.