

KAJIAN WAKTU INKUBASI *Trichoderma viride* DENGAN  
SUBSTRAT RHIZOMA *Imperata cylindrica* DALAM  
PRODUKSI SELULASE

SKRIPSI



OLEH :

**LANASARI**

( 6103093003 )

No. INDUK	1833/2000
TGL TERIMA	25 . 2 . 00
<del>B. I</del> FADH	
No. BUKU	FTP Lan K-1
K/P KE	1 (SATU)

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA  
SURABAYA

1999

**KAJIAN WAKTU INKUBASI *Trichoderma viride* DENGAN  
SUBSTRAT RHIZOMA *Imperata cylindrica* DALAM  
PRODUKSI SELULASE**

**SKRIPSI**

Ini diajukan kepada  
**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**  
untuk memenuhi sebagian persyaratan  
memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian  
Program Studi Teknologi Pangan

OLEH :  
Lanasari  
6103093003

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA  
SURABAYA**

**SEPTEMBER 1999**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Naskah skripsi berjudul Kajian Waktu Inkubasi *Trichoderma viride* dengan Substrat *Rhizoma Imperata cylindrica* dalam Produksi Selulase yang ditulis oleh Lanasari telah disetujui dan diterima untuk diajukan ke Tim Penguji.



Pembimbing I: **Ir. A. Ingani Widajaseputra, MS**



Pembimbing II: **Ir. Theresia Endang Widuri**

## LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang ditulis oleh: Lanasari NRP 6103093003

Telah disetujui pada tanggal 18 Agustus 1999. Dan dinyatakan LULUS oleh

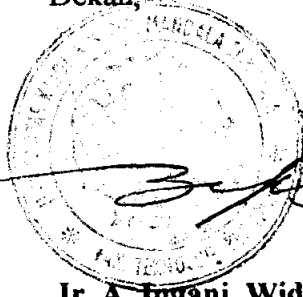
Ketua Tim Penguji:



**Ir. A. Ingani Widjajaseputra, MS**

Mengetahui:

Dekan,



**Ir. A. Ingani Widjajaseputra, MS**

Lanasari (93.7.003.26031.01447). "Kajian Waktu Inkubasi *Trichoderma viride* dengan Substrat Rhizoma *Imperata cylindrica* dalam Produksi Selulase".

Dibawah bimbingan : 1. Ir. A. Ingani Widjajaseputra, MS

2. Ir. Theresia Endang Widuri

## RINGKASAN

Enzim selulase merupakan nama umum untuk semua enzim yang dapat mengkatalisa reaksi pemutusan ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 dalam selulosa dan turunan selulosa lainnya. Selulase merupakan kompleks enzim yang terdiri dari beberapa enzim yang bekerja bertahap atau bersama-sama menguraikan selulosa menjadi unit glukosa. Enzim selulase diproduksi oleh mikroorganisme selulolitik sebagai respon terhadap adanya selulosa pada substratnya. Kapang *Trichoderma viride* merupakan salah satu mikroorganisme selulolitik, sedangkan rhizoma alang-alang (*Imperata cylindrica*) mengandung selulosa yang dapat digunakan sebagai substrat dalam produksi selulase.

Proses produksi enzim selulase dari *Trichoderma viride* pada rhizoma alang-alang secara umum meliputi pengecilan ukuran substrat, delignifikasi substrat, pencampuran substrat dengan media Andreotti, pengaturan pH media, sterilisasi, inokulasi kapang, inkubasi dan ekstraksi enzim.

Salah satu proses yang berpengaruh dalam produksi enzim selulase adalah waktu inkubasi. Waktu inkubasi yang optimal akan menghasilkan enzim yang optimal. Waktu inkubasi untuk masing-masing substrat berbeda walaupun mikroorganisme yang digunakan sama. Untuk itu perlu dikaji waktu inkubasi *Trichoderma viride* dengan substrat rhizoma alang-alang dalam produksi selulase yang optimal.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif untuk mengetahui kecenderungan produksi selulase. Data yang diperoleh diplotkan dalam kurva produksi enzim selulase dan dihitung standar deviasi antar ulangnya. Faktor yang diteliti adalah waktu inkubasi pada hari ke-1, 3, 5, 7, 9 dan 11 dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Dari setiap perlakuan akan diperoleh aktivitas enzim selulase. Analisa terhadap filtrat enzim selulase yang diperoleh meliputi aktivitas enzim (FP-ase, CMC-ase dan  $\beta$ -glukosidase) dan sebagai pendukung dilakukan analisa pH filtrat.

Produksi selulase optimal oleh *Trichoderma viride* didapat pada perlakuan waktu inkubasi yang memberikan hasil aktivitas enzim yang tertinggi. Aktivitas enzim selulase (FP-ase, CMC-ase dan  $\beta$ -glukosidase) selama penelitian cenderung meningkat hingga waktu inkubasi ke-9 dan menurun pada waktu inkubasi hari ke-11. Di duga pada waktu inkubasi hari ke-9, kapang berada pada akhir fase logaritma dan menghasilkan aktivitas enzim tertinggi, yaitu CMC-ase sebesar 0,227 IU/ml, FP-ase sebesar 0,141 IU/ml dan  $\beta$ -glukosidase sebesar 0,202 IU/ml. Pelepasan enzim selulase dari membran sel kapang didukung dengan kondisi pH yang memungkinkan, yaitu berkisar antara pH 4,29 - 5,86.

Oleh karena itu panen enzim selulase dapat dilakukan pada perlakuan lama fermentasi 9 hari.

Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dalam penelitian ini tidak sama besar. Aktivitas FP-ase lebih rendah bila dibandingkan dengan aktivitas CMC-ase karena substrat yang digunakan berbeda kelarutannya ( kertas saring Whatman no.1 dan CMC) dan aktivitas jenis enzim selulase yang bekerja berbeda ( aktivitas dua jenis enzim yang bekerja secara berantai, bertahap, bersama-sama dan aktivitas satu jenis enzim yang langsung menyerang substrat ). Aktivitas  $\beta$ -glukosidase rendah karena *Trichoderma viride* menghasilkan  $\beta$ -glukosidase dalam jumlah sedikit.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Tritunggal Maha Kudus dan perantaraan Bunda Maria atas cinta dan rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan penelitian. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program Sarjana di Fakultas Teknologi Pertanian Program Studi Teknologi Pangan Unika Widya Mandala Surabaya.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ir. A. Ingani Widjajaseputra, MS dosen pembimbing I dan Ir. Theresia Endang Widuri selaku pembimbing II yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan penulisan penelitian ini.
2. Ir. Susana Ristiarini, M.Si. Ir. Ira Nugerahani Sudiana, Ir. Thomas Indarto Putut Suseno, MP, dan Ir. Indah Kuswardani, MP atas saran-saran yang diberikan dalam penulisan penelitian ini.
3. Orang tua (Papa) atas cinta, biaya, pengorbanan dan teladan untuk senantiasa berjuang dalam hidup ini. Tommy dan Liana yang dengan penuh kesabaran selalu menyemangati, mendorong dan menanti selesainya penelitian ini. Rm. A. Sad Budianto CM untuk perhatian dan pendampingan di masa-masa yang sulit sehingga studi ini dapat selesai.
4. Teman-teman se-angkatan khususnya Alfonsa, Lidya, Nanik, Anita, Dulce, Indri, Ingrid dan Etik untuk perhatian dan dorongannya.
5. Semua pihak yang telah membantu penulis hingga selesainya penelitian ini.

*"Tiada gading yang Tak Retak"* demikian pula dengan penulisan penelitian ini. Penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun guna penyempurnaan penelitian ini. Akhir kata, penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, Agustus 1999

Penulis



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
Kata Pengantar .....	i
Daftar Isi .....	iii
Daftar Tabel .....	vi
Daftar Gambar .....	vii
Daftar Lampiran.....	ix
<b>I. Pendahuluan</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
<b>II. Tinjauan Pustaka</b>	
2.1. Alang-alang ( <i>Imperata cylindrica</i> ).....	4
2.2. Enzim Selulase.....	9
2.3. Kapang <i>Trichoderma viride</i> .....	13
2.4. Produksi Enzim Selulase oleh <i>Trichoderma viride</i> .....	19
2.4.1. Tahap Pengecilan Ukuran .....	19
2.4.2. Delignifikasi.....	19
2.4.3. Nutrien dan Mineral Tambahan.....	20
2.4.4. Inokulasi dan Inkubasi.....	21
2.4.5. Ekstraksi Enzim.....	23

III. Hipotesa.....	24
IV. Bahan dan Metode Penelitian	
4.1. Bahan	
4.1.1. Bahan untuk Proses.....	25
4.1.2. Bahan untuk Analisa.....	25
4.2. Alat	
4.2.1. Alat untuk Proses.....	25
4.2.2. Alat untuk Analisa.....	26
4.3. Metode Penelitian	
4.3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
4.3.2. Rancangan Penelitian.....	26
4.4. Pelaksanaan Penelitian	
4.4.1. Penelitian Pendahuluan.....	26
4.4.2. Penelitian utama .....	29
4.5. Pengamatan dan Analisa	
4.5.1. Analisa Aktivitas CMC-ase.....	31
4.5.2. Analisa Aktivitas Total Selulase (FP-ase).....	33
4.5.3. Analisa Aktivitas $\beta$ -glukosidase.....	34
4.5.4. pH (Derajat Keasaman).....	34
V. Hasil dan Pembahasan	
5.1. Analisa Bahan baku.....	35
5.2. Produksi Selulase	
5.2.1. Aktivitas FP-ase.....	36

5.2.2. Aktivitas CMC-ase.....	39
5.2.3. Aktivitas $\beta$ -glukosidase.....	41
5.2.4. pH Filtrat Enzim.....	43
5.3. Hubungan antara Waktu Inkubasi, Aktivitas Enzim dan pH Filtrat Enzim .....	46
VI. Kesimpulan dan Saran.....	50
Daftar Pustaka.....	51
Lampiran.....	55

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Komposisi Kimia Rhizoma Alang-alang.....	6
5.1. Komposisi Lignoselulosik Serat Rhizoma Alang-alang.....	35
5.2. Data Hasil Analisa FP-ase.....	37
5.3. Data Hasil Analisa CMC-ase.....	40
5.4. Data Hasil Analisa $\beta$ -glukosidase.....	42
5.5. Data Hasil Analisa pH Filtrat Enzim.....	44
A.1. Analisa Kurva Standar Gula Reduksi.....	61
B.1. Data Hasil Analisa FP-ase.....	63
B.2. Data Analisa FP-ase dan Standar Deviasi.....	63
C.1. Data Hasil Analisa CMC-ase.....	64
C.2. Data Analisa CMC-ase dan Standar Deviasi.....	64
D.1. Data Hasil Analisa $\beta$ -glukosidase.....	65
D.2. Data Analisa $\beta$ -glukosidase dan Standar Deviasi.....	65
E.1. Data hasil Analisa pH Filtrat Enzim.....	66
E.2. Analisa pH Filtrat Enzim dan Standar Deviasi.....	66

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Tumbuhan Alang-alang .....	5
2.2. Rumus Bangun Selulosa.....	7
2.3. Struktur Kristal Selulosa.....	8
2.4. Rumus Bangun Monomer-monomer Pembentuk Polimer Hemiselulosa .....	9
2.5. Pengelompokan Selulase Berdasarkan Spesifitas Substrat .....	10
2.6. Mekanisme Hidrolisis Selulosa secara Enzimatis.....	11
2.7. Skema Tahap-tahap Hidrolisis Selulosa Secara Enzimatis.....	12
2.8. Penampang Makroskopis <i>T. viride</i> .....	14
2.9. Model Regulasi Biosintesa Selulosa.....	18
3.1. Diagram Alir Pembuatan Serbuk Alang-alang .....	27
3.2. Metode Delignifikasi menggunakan $H_2O_2$ - basa.....	28
3.3. Diagram Alir Proses Produksi Enzim Selulase.....	30
3.4. Prosedur Pengujian Aktivitas CMC-ase.....	32
3.5. Prosedur Pengujian Aktivitas FP-ase.....	33
3.6. Prosedur Pengujian Aktivitas $\beta$ -glukosidase.....	34
5.1. Grafik Hubungan Waktu Inkubasi dengan FP-ase.....	38
5.2. Grafik Hubungan Waktu Inkubasi dengan CMC-ase.....	40

5.3 Grafik Hubungan Waktu Inkubasi dengan $\beta$ -glukosidase.....	42
5.4. Grafik Hubungan Waktu Inkubasi dengan pH Filtrat Enzim.....	44
5.5. Grafik Hubungan Waktu Inkubasi dengan Aktivitas Enzim.....	46
B.1. Grafik Kurva Standar Gula Reduksi.....	62
F.1. Rhizoma Alang-alang dan Serbuk .....	67

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
I. Komposisi Media untuk Produksi Selulase.....	55
II. Prosedur Pembuatan Pereaksi untuk Analisis Aktivitas Enzim Selulase.....	56
III. Prosedur Pembuatan Pereaksi untuk Analisis Gula Reduksi.....	57
IV. Prosedur Analisa Bahan Baku.....	58
V. Data Analisa Kurva Standar Glukosa.....	61
VI. Data Hasil Analisa Aktivitas FP-ase.....	63
VII. Data Hasil Analisa Aktivitas CMC-ase.....	64
VIII. Data Hasil Analisa Aktivitas $\beta$ -glukosidase.....	65
IX. Data Hasil Analisa pH Filtrat Enzim.....	66
X. Foto Rhizoma Alang-alang dan Serbuk.....	67