

Efektifitas Kapang *Trichoderma viride* dalam Menghidrolisis Substrat Jerami Padi dan Batang Rumput Gajah dengan Variasi Perlakuan NaOH dan Sinar Gamma

The Effectiveness of Trichoderma Viride Fungal to Hydrolise Rice Straw and Elephant Grass Stems using NaOH Pretreatment and Gamma Rays

T.R. D. Larasati^{1*}, N. Mulyana¹, D. Sudrajat¹, S. Hermanto², S. R. Haryati², dan A. Adhari¹

¹ Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional
Jl. Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12440, Indonesia

² Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Syarif Hidayatullah
Jln. H. Ir. Juanda No.95 Ciputat 15412, Indonesia

* E-mail: tretno@batan.go.id

ABSTRAK

Efisiensi delignifikasi substrat dapat ditingkatkan dengan perlakuan awal secara fisik yaitu dengan iradiasi gamma tinggi. Radiasi gamma akan memutuskan rantai molekul lignoselulosa menyebabkan pembentukan gugus karbonil selulosa yang membantu pemecahan selulosa. Perlakuan iradiasi gamma terhadap kapang dapat menstimulasi aktivitas enzim ekstraseluler. Tujuan penelitian untuk meningkatkan aktivitas enzim selulase dari kapang *Trichoderma viride* yang diiradiasi sinar gamma dari sumber radiasi Co-60 dan meningkatkan produksi glukosa pada substrat yang diberi perlakuan NaOH dan diiradiasi sinar gamma melalui hidrolisis enzimatik dan fermentasi padat. Substrat yang digunakan ialah jerami padi dan batang rumput gajah. Iradiasi terhadap kapang *T. viride* dilakukan pada dosis 0, 250, 500, 750 dan 1000 Gy. Penambahan NaOH dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3 dan 4%, kapang *T. viride* yang diiradiasi dengan dosis 500 Gy memiliki aktivitas enzim tertinggi sebesar 3,74 U/mL dibandingkan *T. viride* 0 Gy sebesar 1,46 U/mL. Enzim kasar yang dihasilkan digunakan untuk menghidrolisis jerami padi dan batang rumput gajah yang diiradiasi gamma dengan dosis 0, 100 dan 200 kGy. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NaOH 3% dapat menghasilkan hidrolisis selulosa yang terbaik sebesar 7,91%. Kadar glukosa meningkat dengan meningkatnya dosis iradiasi substrat. Hidrolisis enzimatik substrat batang rumput gajah menghasilkan glukosa yang lebih banyak sebesar 2,96 mg/mL, sedangkan hidrolisis enzimatik dari jerami padi menghasilkan glukosa sebesar 2,72 mg/mL, dan juga pada fermentasi padat dihasilkan glukosa 3,12 mg/mL pada batang rumput gajah dan 2,17 mg/mL pada jerami padi. Perlakuan sinar Gamma dengan dosis 500 Gy pada kapang *T. viride* mampu meningkatkan aktivitas enzim selulase sebesar 2,5 kali lebih besar dari kontrol. Penambahan NaOH sebesar 3% dan dosis iradiasi yang semakin tinggi pada jerami padi dan batang rumput gajah menghasilkan kadar glukosa yang semakin tinggi juga.

Kata kunci : batang rumput gajah, iradiasi gamma, jerami padi, lignoselulosa, *Trichoderma viride*

ABSTRACT

The delignification efficiency of the substrate can be improved by using high gamma irradiation dose as physical treatment. Gamma irradiation destroys the molecular chains of lignocellulose leading to the formation of carbonyl group which can further help to destroy the cellulose. Gamma irradiation treatment to molds can stimulate extracellular enzyme activity. The purpose of this research is to increase the activity of cellulosic enzymes *Trichoderma viride* fungi by a gamma ray and to improve the production of glucose on the substrate after treated by NaOH and gamma ray through enzymatic hydrolysis and solid-state fermentation. The substrate used is rice straw and elephant grass stalks. Gamma irradiation doses of 0, 250, 500, 750 and 1000 Gy were used to irradiate *T. viride*. The addition of NaOH with a concentration of 0, 1, 2, 3, dan 4%, and *T. viride* fungi irradiated with 500 Gy showed the highest enzyme activity of 3,74 U/mL compared with *T. viride* 0 Gy 1.46 U/mL. This crude enzyme was then used to hydrolyze rice straw and elephant grass stems which has been irradiated by gamma rays with a dose of 0, 100 and 200 kGy. The results showed that the addition of NaOH 3% can produce the best cellulose hydrolysis of 7.91%. Glucose content increases with increasing irradiation doses of the substrate. Enzymatic hydrolysis of the substrate of the elephant grass stems produces more glucose of 2.96 mg/mL, while enzymatic hydrolysis of the rice straw produces glucose 2.72 mg/mL. meanwhile,

the solid-state enzymatic fermentation result 3.12 mg/mL on the stems of bulrushes and 2.17 mg/mL on rice straw. Gamma irradiation with a dose of 500 Gy results in the improvement of cellulase enzyme activity of *T. viride* by 2.5 times greater compared with control. The addition of NaOH and increasing of gamma irradiation of rice straw and elephant grass stems result in increased glucose levels.

Keywords : elephant grass stems, gamma irradiation, lignocellulose, rice staw, *Trichoderma viride*

PENDAHULUAN

Potensi limbah lignoselulosa dewasa ini belum dapat dimanfaatkan secara optimal, padahal limbah lignoselulosa dapat dijadikan sebagai sumber bahan baku ideal untuk memproduksi etanol karena tidak mengancam keseimbangan ketersediaan bahan pangan dan pakan [1]. Jerami padi dan batang rumput gajah merupakan salah satu limbah pertanian yang mengandung lignoselulosa.

Jerami padi diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34,2%, hemiselulosa dan lignin hingga 3,4% [2]. Jerami padi dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim selulase dan sebagai bahan baku pada produksi bioetanol [3]. Rumput gajah merupakan salah satu tanaman yang kurang dimanfaatkan dan hanya digunakan sebagai pakan ternak, terkadang rumput gajah juga dianggap sebagai tanaman pengganggu dan mengandung selulosa tinggi [4], [5].

Adanya ikatan rantai molekul lignin yang kuat membuat lignoselulosa sulit untuk langsung dipecah. Oleh karena itu, perlu dilakukan *treatment* (perlakuan) untuk memecah ikatan lignin tersebut [1]. Perlakuan dapat dilakukan secara kimia dengan menggunakan H_2SO_4 dan NaOH [6]. Penggunaan H_2SO_4 pada *treatment* dapat menghasilkan xilosa dan produk samping yang mengandung furfural yang bersifat toksik. Sedangkan dengan penggunaan NaOH lebih reaktif dan memiliki harga yang lebih ekonomis.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase dan produksi glukosa meningkat pada fermentasi substrat jerami padi dengan fungi *Aspergillus niger* yang diiradiasi sinar gamma pada dosis optimal 500 Gy [7]. Efisiensi delignifikasi dapat ditingkatkan dengan melakukan perlakuan awal secara fisik yaitu dengan iradiasi. Iradiasi pengion dapat memodifikasi dan mengganggu struktur lignoselulosa dan dapat menjadi metode *pretreatment* biomassa lignoselulosa yang efektif untuk produksi gula [8].

Degradasi selulosa oleh kapang selulolitik dilakukan melalui aktivitas enzim selulase untuk menghasilkan selobiosa dan glukosa [9]. *T. viride* ialah salah satu kapang yang potensial dalam menghasilkan selulase [10]. Aktivitas mikroorganisme dapat ditingkatkan melalui proses fisik yaitu dengan cara iradiasi sinar gamma. Iradiasi gamma dosis rendah dapat menstimulasi pertumbuhan kapang [11].

Pada penelitian ini, akan diproduksi enzim selulase yang dihasilkan dari *T. viride* yang diiradiasi sinar gamma. Enzim yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk mendegradasi substrat jerami padi dan batang rumput gajah. Hidrolisis lignoselulosa dapat dilakukan dengan terdapat dua cara, yaitu: hidrolisis kimiawi (asam) dan hidrolisis enzimatik [12]. Proses hidrolisis selulosa kimiawi, relatif mahal serta dapat mengakibatkan degradasi produk monosakarida yang dihasilkan sehingga produk yang dihasilkan rendah. Sedangkan pada hidrolisis enzimatik melibatkan proses yang lebih ramah lingkungan, efisien, dan murah karena tidak memerlukan energi tinggi [13]. Selain hidrolisis enzimatik, hidrolisis secara fermentasi dapat mengubah selulosa menjadi glukosa oleh mikroba. Metode fermentasi yang sering digunakan ialah *Solid State Fermentation* (SSF). Metode SSF memiliki keuntungan yaitu meminimalisir kontaminasi dari bakteri atau kapang lain karena kadar air yang rendah, ekonomis, kondisi media yang mirip dengan habitat kapang [14]. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan aktivitas enzim selulase dari kapang *T. viride* yang diiradiasi sinar gamma dari sumber radiasi Co-60 serta produksi glukosa pada substrat yang diberi perlakuan NaOH dan diiradiasi sinar gamma Co-60 melalui hidrolisis enzimatik dan fermentasi padat. Parameter yang dianalisis meliputi aktivitas enzim selulase, kadar glukosa, kadar lignin, kadar hemiselulosa dan kadar selulosa.

BAHAN DAN METODE

Preparasi kultur kapang *T. viride* dan perlakuan iradiasi gamma

Kultur kapang *T. viride* dalam media PDA yang berumur 4-7 hari diiradiasi sinar gamma pada dosis 0 (kontrol), 250, 500, 750 dan 1000 Gy. Perlakuan iradiasi gamma di fasilitas Gamma Chamber 4000A menggunakan sumber Co-60 dengan laju dosis 0,4 kGy/jam. Setelah perlakuan iradiasi gamma, kapang *T. viride* dipindah tanam ke permukaan PDA dalam cawan petri yang berdiameter 12 cm dan diinkubasi selama 4 hari. Kultur kapang *T. viride* sekitar 0,5x0,5 cm dipindahkan ke dalam 30 mL medium PDB (*potatoes dextrose broth*) dan diinkubasi dalam *shaker* pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 4 hari sehingga diperoleh kultur cair (*starter*). Kemudian diukur aktivitas enzim selulase untuk mendapatkan dosis optimum dari kapang *T. viride*. Pada penentuan aktivitas enzim selulase menggunakan metode DNS.

Produksi enzim kasar selulase

Produksi enzim dilakukan dengan 50 g/L substrat jerami padi dalam larutan nutrisi garam mineral. Setiap liter medium ini mengandung 13,25 g PDB, 0,5 g K₂HPO₄, 0,5 g KH₂PO₄ dan 0,1 g MgSO₄.7H₂O. Pengaturan pH medium dilakukan melalui penambahan 1N HCl atau 1N NaOH sampai pH 5. Medium ini disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Starter kapang *T. viride* dengan dosis optimum sebanyak 5% diinokulasikan ke dalam medium steril, kemudian diinkubasi dalam *shaker* pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 3 hari. Enzim selulase diekstraksi dengan cara sentrifugasi 12000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan enzim kasar selulase.

Iradiasi substrat jerami padi dan batang rumput gajah

Substrat bahan lignoselulosa yang digunakan terdiri dari jerami padi (JP), batang rumput gajah (BRG) yang diproduksi di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN. Semua bahan tersebut dipotong-potong dengan mesin pencacah dan dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dalam oven pada 60-70 °C selama 48 jam. Selanjutnya, dihaluskan dengan mesin penepung dan diayak.

Optimasi pH pada hidrolisis enzimatik

Substrat jerami padi yang telah diayak ditambahkan aquades kemudian diatur pH 4, 5, 6, 7, dan 8 dengan HCl 1N dan NaOH 1N kemudian ditambahkan dengan enzim kasar kapang *T. viride* pada dosis optimum, lalu diinkubasi pada *shaker* 100 rpm selama 3 hari. Supernatan yang dihasilkan dilakukan pengukuran glukosa.

Optimasi NaOH pada hidrolisis enzimatik

Larutan NaOH disiapkan dengan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%. Substrat jerami padi ditambahkan dengan masing-masing konsentrasi NaOH kemudian diatur pada pH 5 lalu ditambahkan dengan enzim kasar kapang *T. viride* pada dosis optimum, lalu diinkubasi pada *shaker* 100 rpm selama 3 hari. Supernatan yang dihasilkan dilakukan pengukuran glukosa.

Iradiasi substrat jerami padi dan batang rumput gajah

Substrat JP dan BRG masing-masing sebanyak 2 g dan larutan NaOH (optimum) pada perbandingan 1:1 (b/v) dicampurkan secara merata kemudian dimasukan ke dalam kantong plastik (*polyethylene*) dan ditutup rapat dengan *sealer*. Substrat tersebut diiradiasi sinar gamma pada 0 (kontrol), 100 dan 200 kGy. Substrat yang telah diiradiasi dilakukan hidrolisis enzimatik dan fermentasi padat (SSF).

Hidrolisis enzimatik

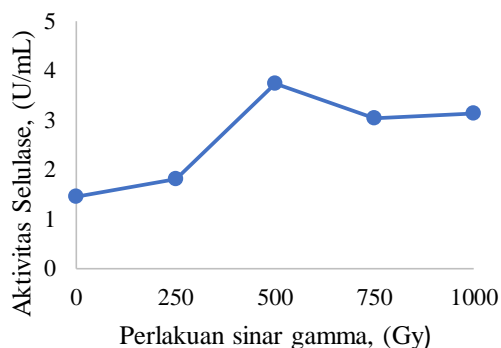
Sebanyak 2 g substrat jerami padi dan batang rumput gajah yang diiradiasi sinar gamma pada 0 (kontrol), 100 dan 200 kGy dilakukan hidrolisis enzimatik pada pH dan NaOH optimum. Substrat steril ditambahkan 30 mL enzim kasar selulase dan 10 mL buffer sitrat pH 5, kemudian diinkubasi dalam *shaker* pada 100 rpm selama 3 hari. Pemisahan endapan dan supernatan dilakukan dengan sentrifugasi pada 12000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan digunakan untuk menentukan jumlah glukosa yang dilepaskan dari substrat dan % hidrolisis selulosa. Sebanyak 2 g substrat jerami padi dan batang rumput gajah dengan dosis 0 kGy (kontrol) disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit lalu didinginkan. Kemudian, substrat yang telah diiradiasi sinar gamma 0, 100 dan 200 kGy ditambahkan dengan 1,5 mL larutan nutrisi yang sudah disterilkan dengan autoklaf dan setiap liter nya mengandung 13,25 g PDB, 0,5 g K₂HPO₄, 0,5 g KH₂PO₄ dan 0,1 g MgSO₄.7H₂O

dengan pengaturan pH sekitar 5 yang dilakukan dengan penambahan 1N HCl dan 1N NaOH. Setelah penambahan larutan nutrisi, diinokulasikan dengan starter kapang *T. viride* (dosis optimum) sebanyak 500 μ L. Kemudian, diinkubasi pada suhu ruang sekitar 28-32 °C selama 3 hari. Variabel pengamatan terdiri dari aktivitas enzim selulase, kadar glukosa, kadar selulosa, kadar air, kadar abu, kadar organik, dan nilai pH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Iradiasi sinar gamma pada *T. viride*

Dosis optimum hasil iradiasi ditentukan melalui pengujian aktivitas enzim selulase. Aktivitas enzim selulase dari kapang *T. viride* pada berbagai dosis 0,250, 500,750 dan 1000 Gy tampak pada Gambar 1 di bawah menunjukkan



Gambar 1. Grafik pengaruh perlakuan sinar gamma terhadap aktivitas selulase pada *T. viride*

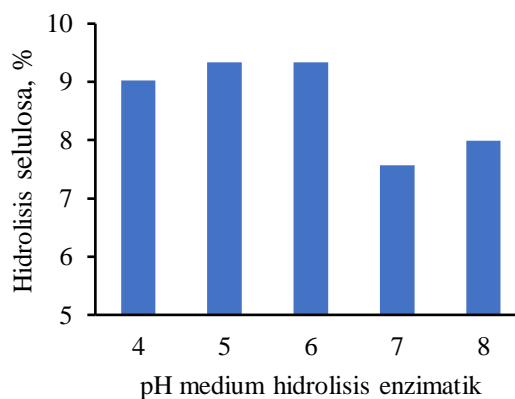
bahwa kapang *T. viride* yang diiradiasi gamma 500 Gy memiliki aktivitas enzim selulase yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa iradiasi. Pada dosis iradiasi 500 Gy memiliki aktivitas selulase sebesar 3,74 U/ mL, sedangkan tanpa iradiasi 1,46 U/ mL. Pada dosis 500 Gy merupakan dosis tertinggi yang menyebabkan kapang mengalami kerusakan sel yang lebih besar sehingga kapang tersebut memproduksi enzim yang lebih tinggi, oleh karena itu iradiasi dapat meningkatkan aktivitas enzim [15]. Sel memiliki mesin protein kompleks untuk mendeteksi dan menangani lesi yang disebabkan oleh radiasi. Protein detektor ini disebut sensor. Sensor mengaktifkan lebih banyak protein yang disebut transduser yang merekrut lebih banyak protein. Protein yang direkrut adalah efektor yang bertindak untuk memulihkan kerusakan sel

diantaranya adalah enzim, yakni biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis.

Akibat pemaparan sel dengan radiasi ionisasi akan langsung menimbulkan pembentukan radikal bebas dengan cepat [16]. Radikal bebas tersebut dapat mengganggu struktur dan fungsi dari komponen sel, sehingga memicu terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara radikal bebas yang terbentuk dengan antioksidan dalam sel. Sebagai akibat dari stress yang ditimbulkan, sel tersebut akan mengembangkan mekanisme proteksi untuk melawan efek oksigen reaktif dengan menghasilkan enzim yang lebih banyak [17]. Pada penelitian terdahulu diperoleh hasil bahwa fungi *Aspergillus niger* yang diiradiasi radiasi sinar Gamma dengan dosis 500 Gy pada fermentasi substrat jerami padi mampu meningkatkan aktivitas enzim selulase sebesar 4 kali dibandingkan dengan enzim selulase dari *Aspergillus niger* yang tidak diiradiasi [7]. Dalam hal ini mutasi akibat radiasi menyebabkan fungi terstimulasi kemudian memperbaiki bagian terinduksi untuk menghasilkan enzim yang lebih banyak daripada sebelum diiradiasi [16], [18].

Nilai pH pada awal hidrolisis enzimatik

Nilai pH merupakan faktor yang penting dalam mempengaruhi kerja enzim. Jika pH terlalu rendah maka enzim akan menjadi tidak aktif. Jika pH terlalu tinggi maka enzim akan terdenaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi pada enzim maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian efektifitas enzim menjadi berkurang sehingga aktivitas enzim juga menurun [19].

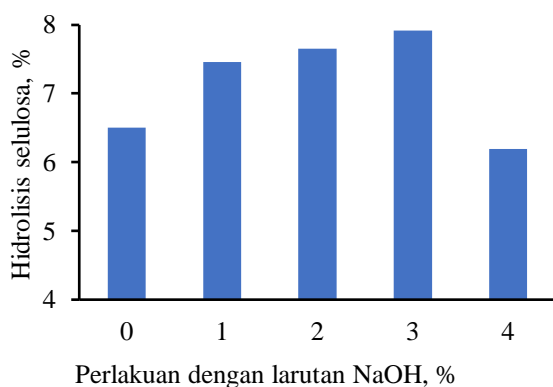


Gambar 2. Nilai pH awal medium terhadap hidrolisis jerami padi dengan enzim kasar selulase kapang *T. viride* 500 Gy

Berdasarkan Gambar 2, pH 4 dapat menghidrolisis selulosa 9,02% sedangkan pada pH 5 dan pH 6 dapat menghidrolisis selulosa sebanyak 9,3 %. Rentang pH yang dihasilkan masih dalam rentang pH optimum dalam aktivitas selulase yang diperoleh dari *T. viride* pada kisaran pH 4,5-6,5 [20]. Aktivitas enzim ditentukan oleh gugus aktif pada rantai samping enzim. Proses hidrolisis selulosa oleh selulase terjadi pada sisi aktif asam amino glutamat. Fraksi gugus (-COOH) dari asam amino glutamat akan bermuatan negatif membentuk (-COO⁻). Jika gugus karboksil dari enzim jumlahnya semakin meningkat maka protonasi oksigen glikosidik enzim akan semakin mudah terjadi karena jumlah gugus karboksil dari enzim yang meningkat. Hal ini menyebabkan aktivitas enzim meningkat [21].

Pengaruh perlakuan awal menggunakan larutan NaOH

Perlakuan awal larutan NaOH pada substrat jerami padi berpengaruh pada proses hidrolisis selulosa. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 3.

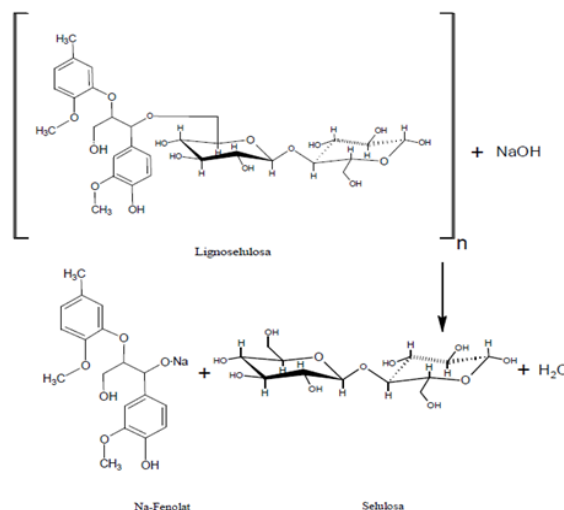


Gambar 3. Pengaruh perlakuan awal menggunakan larutan NaOH terhadap hidrolisis substrat jerami padi dengan enzim kasar selulase kapang *T. viride* 500 Gy

Pada konsentrasi NaOH 3% dihasilkan hidrolisis selulosa terbanyak dari konsentrasi lainnya. Proses pemutusan lignoselulosa juga menghasilkan selulosa, semakin tinggi kandungan selulosa yang terkandung dalam sebuah biomassa,

maka semakin tinggi pula kadar glukosa yang mampu dihasilkan (tahap hidrolisis). Konsentrasi NaOH 3% akan digunakan sebagai konsentrasi optimal perlakuan awal substrat jerami padi dan batang rumput gajah yang akan dihidrolisis.

Penambahan larutan NaOH untuk mengurangi kadar lignin dan meningkatkan kadar selulosa. Selulosa bersifat tidak larut dalam alkali NaOH, sedangkan lignin, hemiselulosa dan komponen serta lainnya bersifat larut. Kapang selulolitik mampu mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim selulase, yang akan menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa. Hidrolisis selulosa sempurna oleh enzim selulase akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa. Berdasarkan Gambar 4, ion OH⁻ dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na⁺ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat yang bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*) [22].



Gambar 4. Pemutusan Ikatan Lignoselulosa dengan NaOH [22]

Hidrolisis enzimatik dan *solid state fermentation* dengan kapang *T. viride* 500 Gy

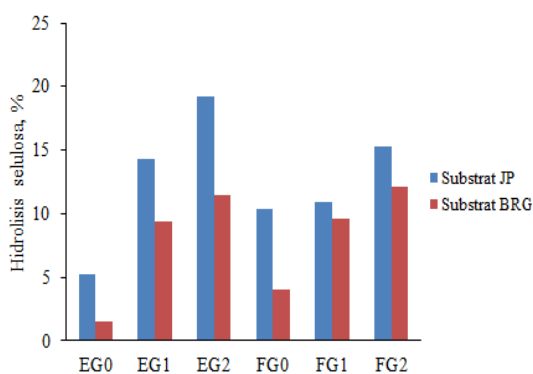
Berikut ini adalah Tabel 1 tentang karakteristik substrat jerami padi dan batang rumput gajah sebelum dilakukan iradiasi gamma.

Tabel 1. Karakteristik substrat jerami padi dan batang rumput gajah

No	Parameter	Jerami padi	Batang rumput gajah
1	pH	5,92±0,25	4,77±0,13
2	Kadar bahan organik, %	73,98±0,29	95,80±0,03
3	Kadar C organik, %	13,82±0,33	13,70±0,50

4	Kadar selulosa, %	24,75±2,61	45.06±0,37
5	Total N, %	0,56±0,00	0,56±0,00
6	Kadar abu, %	26,02±0,29	4,20±0,03

Berdasarkan Gambar 5 dapat diketahui bahwa pada metode enzimatik maupun fermentasi padat (SSF) menghasilkan hidrolisis selulosa yang semakin besar seiring meningkatnya dosis iradiasi. Pada dosis iradiasi 100 kGy dan 200 kGy menghasilkan selulosa yang lebih tinggi dan penurunan lignin dan hemiselulosa yang sangat signifikan dari pada dosis iradiasi 0 kGy. Hal tersebut membuktikan bahwa iradiasi berpengaruh pada hidrolisis selulosa.

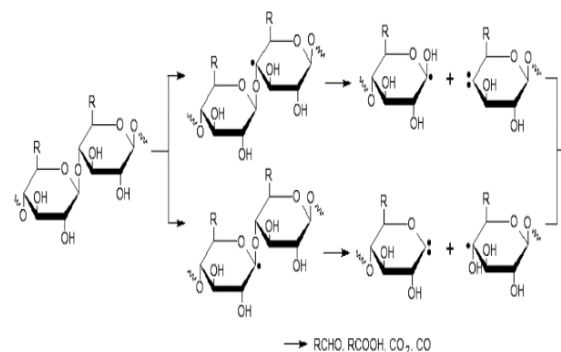


Gambar 5. Pengaruh iradiasi gamma terhadap hidrolisis substrat jerami padi dan batang rumput gajah dengan *T. viride* 500 Gy

Keterangan:

- EG0 = Dosis Iradiasi 0 kGy + Enzimatik
- EG1 = Dosis Iradiasi 100 kGy + Enzimatik
- EG2 = Dosis Iradiasi 200 kGy + Enzimatik
- FG0 = Dosis Iradiasi 0 kGy + SSF
- FG1 = Dosis Iradiasi 100 kGy + SSF
- FG2 = Dosis Iradiasi 200 kGy + SSF

Adanya penambahan NaOH pada proses *pretreatment* dapat menurunkan kandungan lignin yang cukup besar, karena reaksi pemutusan ikatan lignin menjadi lebih cepat. Degradasi selulosa limbah pertanian lebih tinggi terjadi pada kombinasi radiasi gamma dan *pretreatment* kimia dibandingkan dengan *pretreatment* kimia saja atau perlakuan iradiasi saja [23]. Pada penelitian lain menunjukkan bahwa *pretreatment* pada jerami padi dengan NaOH dan iradiasi *electron beam* dapat meningkatkan kandungan selulosa jerami padi dari 30,38 % menjadi 72,70 % [24]. Kandungan lignin yang ada dalam jerami padi menurun dari 7,93 % menjadi 3,66 %.

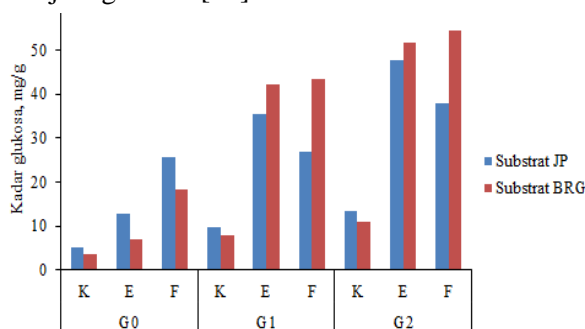


Gambar 6. Mekanisme reaksi selulosa dengan iradiasi gamma [25]

Gambar 6 menjelaskan sebagian besar selulosa terurai menjadi fragmen besar dan kemudian ke produk radiolisis akhir yang meliputi RCHO, RCOOH, CO₂, CO dan hilangnya air terikat dalam proses pemutusan rantai dan perubahan struktur sampel yang diiradiasi. Reaksi utama polimer hemiselulosa dan selulosa pada radiasi adalah pemotongan rantai utama yang merupakan akibat langsung interaksi sinar gamma dengan polimer yang menyebabkan kerusakan pada kekuatan polimer [25].

Kadar glukosa pada jerami padi dan batang rumput gajah

Berdasarkan Gambar 7 dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis iradiasi, glukosa yang dihasilkan mengalami peningkatan. Hal tersebut menandakan bahwa adanya iradiasi telah meningkatkan degradasi enzimatik selulosa menjadi glukosa [26].



Gambar 7. Pengaruh perlakuan sinar gamma dan metode hidrolisis terhadap produksi glukosa dari substrat jerami padi dan batang rumput gajah

Keterangan:

K = Kontrol

E = Hidrolisis Enzimatik

F = Fermentasi Padat

G0 = Dosis Iradiasi 0 kGy

G1 = Dosis Iradiasi 100 kGy

G2 = Dosis Iradiasi 200 kGy

Berdasarkan Gambar 7 pada dosis 0 kGy dengan metode enzimatik dan fermentasi padat jerami padi memproduksi glukosa lebih banyak dari batang rumput gajah. Hal tersebut karena pada jerami padi memiliki struktur lignin lebih lunak dari batang rumput gajah. Kapang lebih mudah mendegradasi jerami padi daripada batang rumput gajah. Setelah dilakukan *pretreatment* iradiasi gamma dosis 100 kGy dan 200 kGy batang rumput gajah dapat menghasilkan glukosa yang lebih banyak. Hal tersebut karena struktur batang rumput gajah mengalami kerusakan sehingga mempermudah kapang dalam mendegradasi selulosa. Ini disebabkan kandungan selulosa dan bahan organik dalam batang rumput gajah lebih tinggi daripada dalam jerami padi, sedangkan kadar abu dan bahan kering pada jerami padi lebih tinggi daripada batang rumput gajah. Oleh karenanya, batang rumput gajah lebih mudah didegradasi.

Hasil analisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) SPSS versi 20.0 dengan batas kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa dalam metode enzimatik dan fermentasi padat substrat batang rumput gajah mengalami perbedaan yang tidak signifikan, sedangkan pada substrat jerami padi mengalami perbedaan yang signifikan. Pada saat hidrolisis enzimatik, enzim kasar yang telah diproduksi dapat langsung bekerja ke dalam substrat, sedangkan pada fermentasi padat, kapang harus melewati fase pertumbuhan dalam menghasilkan enzim, sehingga dibutuhkan waktu lebih lama pada jerami padi jika ingin menghasilkan kadar glukosa yang setara dengan proses enzimatik.

Selain itu, kadar air juga mempengaruhi proses fermentasi. Kadar air yang berada di bawah level kritis (<60%) akan menyebabkan aktivitas mikroba menurun [27], sedangkan kadar air yang terlalu tinggi pada fermentasi padat akan menyebabkan udara yang terdapat pada pori-pori substrat digantikan dengan air, terciptanya anaerob dan penurunan dekomposisi substrat [28]. Berikut ini adalah kadar air pada substrat sebelum dan sesudah fermentasi. Berdasarkan Tabel. 2

kadar air yang dihasilkan setelah fermentasi mengalami kenaikan. Hal tersebut karena selama fermentasi berlangsung, mikroorganisme menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi yang dapat menghasilkan molekul air dan karbondioksida [29]. Sebagian besar air akan tertinggal dalam produk dan sebagian lagi akan keluar dari produk. Air yang tertinggal dalam produk inilah yang akan menyebabkan kadar air menjadi tinggi [30].

Table 2. Kadar Air Sebelum dan Sesudah Fermentasi

Perlakuan	JP	BRG	JP	BRG	JP
	G0	G1	G0	G1	G0
Kadar Air Sebelum Fermentasi, %	67,85	64,48	67,85	64,48	67,85
Kadar Air Sesudah Fermentasi, %	82,31	80,92	82,31	80,92	82,31

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa iradiasi gamma dengan dosis 500 Gy mampu meningkatkan aktivitas enzim selulase dari kapang *T. viride*. Penambahan NaOH 3% pada substrat dalam proses hidrolisis dapat menghasilkan selulosa tertinggi sebesar 7,91 %. *Pretreatment* dengan iradiasi gamma dan proses hidrolisis pada substrat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis radiasi yang diberikan pada substrat menghasilkan glukosa yang lebih tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana dengan dana dari RAB (Rancangan Anggaran Belanja) Sub Ouput Kegiatan 2017 Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, PAIR-BATAN.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. Orchidea, K.W Andi, R.P.Dedy, F.S. Lisa, L. Khoir, P. Reza, dan D.M Cakra, “Pengaruh Metode Pretreatment pada Bahan Lignosellulosa terhadap Kualitas Hidrolisis yang Dihasilkan”, *Makalah Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono “Ketahanan Pangan dan Energi”*, pp.1-12, Juni, 24, 2010.

- [2] I. Kurniasari, I. Hartati I, M.E. Yulianti, "Kajian Hidrolisa Enzymatis Jerami Padi Untuk Produksi Bioetanol", *Momentum*, vol.4, no.1, pp.56-54, 2008.
- [3] K. Kodri, B.D. Argo, R. Yulianingsih, "Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reseei* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave", *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. vol 1, no. 1, pp.36-43, 2013.
- [4] N.K. Sari, "Produksi Bioetanol dari Rumpit Gajah Secara Kimia", *Jurnal Teknik Kimia*, vol. 4, no. 1, pp. 265-273, 2009.
- [5] Z. Zulharmitta, V. Leza, R. Harrizul, "Pembuatan Mikrokristalin Selulosa dari Batang Rumpit Gajah (*pennisetum purpureum* Schumach)", *Jurnal Farmasi Higea*, vol 3, no. 2, pp. 102-111, 2011.
- [6] J. Vadiveloo, B. Nurfariza, J.G. Fadel, "Nutritional Improvement of Rice Husks". *Anim Feed Sci Technol.*,no 56, pp. 299-355, 2009.
- [7] N. Mulyana, T.R.D. Larasati, N. Nurhasni dkk., "Peningkatan Aktivitas Enzim Selulase dan Produksi Glukosa Melalui fermentasi Substrat Jerami Padi dengan Fungi *Aspergillus niger* yang Diradiasi Sinar Gamma", *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Vol.11, No.1, Tahun 2015.
- [8] Y. Chunping, Z. Shen, G. Yu, dkk., "Effect and Aftereffect of γ Radiation Pretreatment On Enzymatic Hydrolysis of Wheat Straw", *Bioresource Technology*, no.99, pp. 6240-6245, 2008.
- [9] T. Anindyawati, "Potensi Selulase dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian untuk Pupuk Organik", *Berita Selulosa*, vol 45, no.2. pp.70-77, 2010.
- [10] I.W. Arnata, "Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*", *Thesis Master*, IPB, 2009.
- [11] A.E.M.R. Afify, A.A.E. Mohamed, M.I. Ghada, dkk., "Exposing of *Trichoderma* spp. to Gamma Radiation for Stimulating Pesticide Biodegradation Activity", *J. Plant Pathol Microb*, vol 4, no 9, pp. 1-5, 2013.
- [12] I.B.W. Gunam, K.Buda, I.M.Y.S Guna, "Pengaruh Perlakuan Delignifikasi dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi Terhadap Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264", *Jurnal Biologi*, vol.14, no.1, pp. 55-61, 2010.
- [13] E. Chasanah, R.D. Isna, R.M. Nisa, "Karakterisasi Enzim Selulase PMP 0126Y dari Limbah Pengolahan Agar", *Jurn.Pascapanen dan Biotekn. Kelautan dan Perikanan*, vol. 8, pp. 103-114, 2013.
- [14] B.S. Mienda, I. Ahmad, U. Abdulhamid, "Microbiological Features of Solid State Fermentation and its Applications", *Research in Biotechnology*, vol.2, no.6, pp.21-26, 2011.
- [15] P. Wahyudi, S. Untung, H. Harsoyo, dkk., "Pengaruh Pemaparan Sinar Gamma Isotop Cobalt-60 Dosis 0,25-1 kGy Terhadap Daya Antagonistik *Trichoderma harzianum* Pada *Fusarium oxysporum*", *Berk. Panel. Hayati*, no.10, pp.143-151, 2005.
- [16] T.R.D. Larasati, N. Mulyana, N. Nurhasni, dkk., "Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Kemampuan Degradasi Lignin *Phanerochaete chrysosporium* dan *Ganoderma lucidium*", *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, vol.17, no.1, pp.21-35, 2016.
- [17] M. Sreedhar, A. Chaturvedi, M.D. Aparna, dkk., "Influence of γ -Radiation Stress on Scavenging Enzyme Activity and Cell Ultra

- Structure In Groundnut (*Arachis hypogaea* L.)”, *Applied Science Research*, vol.4, no.2, pp. 35- 44, 2013.
- [18] M.A. Zia, S. Rasul, T. Iftikhar, “Effect Of Gamma Irradiation On *Aspergillus Niger* For Enhanced Production Of Glucose Oxidase”, *Pak. Journ. Bot.* vol.44, no.5, pp. 1575 - 1580, 2012.
- [19] M. Sadikin, *Biokimia Enzim*, Jakarta, Widya Medika, 2002.
- [20] K. Kulp, *Carbohidrases*, New York, Academic press, 1975.
- [21] N. Idiawati, M.H. Eliska, A. Lucy, “Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu”, *Jurnal Natur Indonesia*, vol.16, no.1, pp.1-9, 2014.
- [22] E. Sari, E.D. Rahman, M. Martynis, dkk., ‘Perolehan Glukosa dengan Hidrolisis Enzimatis Dari Ampas Tebu Menggunakan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* Sebagai Bahan Baku Bioetanol”, *Jurnal Riset Kimia*, Vol.9, No. 1, pp.9-14, 2015.
- [23] R. N. Sari, S.Sugiyono, A.Luthfi, “Optimasi Waktu Proses Hidrolisis dan Fermentasi dalam Produksi Bioetanol dari Limbah Pengolahan Agar (*Graci-laria* sp.) Industri”, *Jurn. Pascapanen dan Biotek. Kelautan dan Perikanan*, vol 8, no. 2, pp.133-142, 2013.
- [24] S. Banchorndhevakul, “Effect of urea and urea-gamma treatments on cellulose degradation of thai rice straw and corn stalk”, *Radiat. Phys. Chem.*, vol.64, pp. 417-422, 2002.
- [25] F.R.P. Dehani, B.D. Argo, R.Yulianingsih, “Pemanfaatan Iradiasi Gelombang Mikro untuk Memaksimalkan untuk Proses Pretreatment Degradasi Lignin Jerami Padi (pada produksi bioetanol)”, *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* , vol. 1, no. 1, pp.13-20, 2013.
- [26] F. Khan, S.R. Ahmad, E. Kronfli, “ Gamma-Radiation Induced Changes in The Physical and Chemical Properties of lignocellulose”, *Biomacromolecules*, vol.8, no.7, pp. 2303 - 2309, 2006.
- [27] M.J. Taherzadeh, K.Karimi, “Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review”. *International Journal of Molecular Sciences*, vol.9, no.9, pp.1621-1651, 2008.
- [28] V.R. Rodriguez, C.T. Cruz, S.J.M. Fernandez, dkk., “Use of Sugarcane Bagasse Pith as Solid Substrate for *P. chrysosporium* Growth”, *Folia Microbiol.*, vol.44, pp.213-218, 1999.
- [29] M.S. Haddadin, J. Haddadin, O.L. Arabiyat, dkk., “Biological Conversion of Olive Pomace Into Compost by Using *Trichoderma Harzianum* And *Phanerochaete Chrysosporium*”, *Bioresour. Technol.*, vol.100, pp. 4773-4782, 2009.
- [30] S. Fardiaz, *Mikrobiologi Pangan*, Bogor: IPB Press, 1992.

