

PENGARUH LAMA INKUBASI DENGAN *Tricoderma reesei* TERHADAP KONSENTRASI GULA TERLARUT DALAM BUBUR BATANG SORGUM MANIS

Jasman^{*1}, Selendria H. R¹, Sudirman¹, dan Andam S. Ardan²

¹Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia.

²Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia.

*jasman@staf.undana.ac.id (+6281339421892)

ABSTRAK

Penelitian mengenai pengaruh lama inkubasi dengan *T. reesei* terhadap konsentrasi gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis sebagai bahan baku pembuatan bioetanol telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi dengan *T. reesei* terhadap konsentrasi gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis dan untuk mengetahui lama waktu inkubasi dengan *T. reesei* yang menghasilkan konsentrasi gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis paling tinggi. Penelitian ini dimulai dengan pengadaan sorgum manis kemudian persiapan bubur batang sorgum manis. Batang sorgum manis diinokulasi dengan jamur *T. reesei* dengan variasi waktu 0, 24, 48, 72, 96, dan 120 jam. Selanjutnya masing-masing sampel dianalisis kadar gulanya dengan refraktometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama inkubasi dengan *T. reesei* berpengaruh terhadap kandungan gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis. Konsentrasi gula terlarut tertinggi diperoleh pada lama inkubasi 24 jam.

Kata kunci: sorgum manis, *Tricoderma reesei*, inkubasi, gula terlarut.

PENDAHULUAN

Salah satu jenis bahan bakar nabati yang sudah lama dikembangkan untuk menggantikan bahan bakar minyak (BBM) adalah bioetanol yang dibuat dari biomassa (tanaman) melalui proses fermentasi. Bioetanol merupakan hasil proses fermentasi glukosa dari bahan yang mengandung komponen pati atau selulosa. Bioetanol diproduksi dari bahan baku berupa biomassa seperti jagung, singkong, sorghum, kentang, gandum, dan tebu. Selain itu, bioetanol dapat juga diproduksi dari limbah biomassa seperti tongkol jagung, jerami, limbah rumput laut, dan limbah sayuran lainnya (Prihandana, dkk., 2007). Salah satu tanaman yang memiliki prospek sangat baik sebagai sumber bahan baku bioetanol adalah sorgum manis (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Tanaman ini memiliki keunggulan berupa umur yang lebih pendek serta kebutuhan air dan pupuk yang lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman

lain yang selama ini digunakan sebagai sumber energi (Reddy, dkk., 2006). Sorgum manis merupakan salah satu jenis tanaman serelia yang mempunyai potensi besar untuk dikembangkan di Indonesia karena mempunyai daerah adaptasi yang luas. Tanaman sorgum toleran terhadap kekeringan dan genangan air, dapat berproduksi pada lahan marginal, serta relatif tahan terhadap gangguan hama atau penyakit.

Komposisi batang sorgum manis adalah air sebesar kira-kira 70% berat basah, karbohidrat terlarut sekitar 58,2% berat kering, dan karbohidrat tak terlarut yaitu selulosa dan hemiselulosa sebesar 22,6% berat kering (Billa dkk., 1997). Jika nira sorgum manis dijadikan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol maka hanya gula terlarut yaitu sukrosa, glukosa, dan fruktosa yang dikonversi menjadi etanol. Selulosa dan hemiselulosa tidak dapat dikonversi, sehingga sebenarnya *yield* etanol yang dicapai tidak maksimal. Hasil etanol dari batang sorgum manis tampaknya

masih memungkinkan untuk ditingkatkan dengan cara mendegradasi komponen selulosa dan hemiselulosa yang ada di dalamnya menjadi gula terlarut yakni glukosa dan xilosa sebelum dikonversi menjadi etanol. Komponen selulosa dan hemiselulosa dapat diuraikan menjadi glukosa dan xilosa dengan bantuan organisme selulolitik, misalnya *Trichoderma reesei*. *T. reesei* adalah sejenis jamur *mesophilic* dan berserabut yang memiliki kemampuan menghasilkan banyak enzim selulolitik (selulase dan hemiselulase). Selulase yang dihasilkan mikroba ini telah diterapkan dalam industri untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa. Selanjutnya, glukosa yang dihasilkan dapat digunakan untuk berbagai keperluan, antara lain difermentasi menjadi bioetanol yang dapat digunakan sebagai bahan bakar (*biofuel*) (Koike dkk., 2013).

Hidrolisis komponen selulosa dalam suatu bahan oleh mikroba selulolitik tentu memerlukan jangka waktu. Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi dengan *T. reesei* terhadap kandungan gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas timbangan analitik (Mettler Toledo, XPR10) alat-alat gelas, jarum ose, otoklaf (MODEL 75X ALL AMERICAN), pembakar bunsen, blender, pisau, botol kaca 150 ml, sentrifus, penangas air, cawan petri, stopwatch, laminar flow, kaca arloji, refraktometer Abbe, toples kaca, pinset, dan penjepit.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kapas, kertas saring batang sorgum manis, aquades, isolat *T. reesei*, media agar miring, larutan buffer sitrat pH 3,5, ekstrak ragi (*yeast extract*), *Bacteriological peptone*, amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CMC (*Carboxy methyl cellulose*) 1%, glukosa, larutan Fehling A (34,64 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 400 mL air suling) dan larutan Fehling B (77 gram KOH dan 175 gram kalium natrium tartrat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dalam 500 mL air suling).

Persiapan Jamur *T. reesei*

Isolat murni *T. reesei* diambil dari media PDA dalam tabung reaksi menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan. Sel-sel atau spora jamur yang telah diambil dengan jarum ose tersebut ditanam dengan cara menggoreskan ujung jarum ose yang mengandung sel jamur secara zig-zag pada permukaan media PDA di cawan petri. Pengerjaan dilakukan di laminar flow

dalam kondisi aseptis. Jamur diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari.

Persiapan larutan nutrisi

Persiapan larutan nutrisi dilakukan menurut prosedur Anwar dkk. (2010). Larutan buffer sitrat pH 3,5 dicampurkan dengan 1,0 g ekstrak ragi (*yeast extract*), 1,5 g *bacteriological peptone*; 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 2,0 g KH_2PO_4 ; 0,005 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 5 ml larutan *Carboxy methyl cellulose* 1%. Larutan kemudian diaduk hingga homogen

Perbanyakan biakan jamur *T. reesei*

Peralatan dan bahan berupa lampu spiritus, borer yang ujungnya dilengkungkan dan isolat *T. reesei* dipersiapkan. Labu erlenmeyer yang berisi larutan nutrisi dibuka kemudian borer diambil dan dilekatkan diatas api. Isolat *T. reesei* diambil menggunakan kawat ose yang telah dipanaskan pada api dari lampu spiritus lalu dicelupkan ke dalam larutan nutrisi hingga sel-sel atau spora jamur bercampur dengan larutan. Erlenmeyer yang berisi larutan nutrisi ditutup lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari sampai miselium jamur tumbuh.

Persiapan batang sorgum

Tanaman sorgum yang berumur 110 hari dipanen dan diambil batangnya. Batang tersebut dibersihkan dengan cara dicuci dengan air sampai bersih. Setelah itu batang sorgum dikupas kulit luarnya kemudian dipotong-potong kecil dan diblender hingga hancur. Hasil blender dikeluarkan dan dimasukkan kedalam gelas kimia.

Hidrolisis komponen lignoselulase

Hasil blender ditimbang sebanyak 35 gram lalu ditambahkan 80 ml aquades steril, 8 ml suspensi *T. reesei*, dimasukkan ke botol steril 140 ml kemudian ditutup dengan kapas. Campuran diaduk hingga homogen lalu diinkubasi selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, dan 120 jam. Setelah waktunya cukup, suspensi disentrifugasi dan filtratnya disimpan untuk analisis konsentrasi gula.

Penentuan kadar gula

Konsentrasi gula terlarut di dalam bubur batang sorgum manis diukur menggunakan refraktometer. Metode kerja refraktometer ini dengan memanfaatkan teori refraksi cahaya. Sampel ditetaskan pada prisma refraktometer lalu skala refraktometer diamati. Angka pada skala dibaca saat warnanya gelap di satu bagian

dan terang di bagian yang lain. Kadar gula sampel dinyatakan dalam % Brix.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi gula terlarut di dalam bubur batang sorgum manis sebelum dan sesudah diinkubasi dengan *T. reesei* dapat dilihat pada Tabel 1. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa setelah diinkubasi dengan *T. reesei* selama 24 jam, konsentrasi gula dalam sampel meningkat dari 7,54%Brix menjadi 9,84%Brix. Peningkatan konsentrasi gula tersebut diduga disebabkan oleh adanya reaksi hidrolisis selulosa menjadi glukosa oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh *T. reesei*. Glukosa maupun xilosa yang dihasilkan dari hidrolisis ini menambah konsentrasi gula terlarut di dalam bubur batang sorgum manis. Peningkatan konsentrasi gula sebesar 30,5%Brix dari konsentrasi gula awal kira-kira sebanding dengan proporsi selulosa dan hemiselulosa di dalam batang sorgum manis.

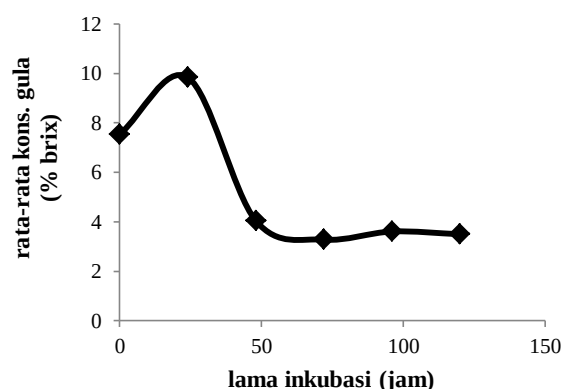
Pola perubahan konsentrasi gula terlarut di dalam bubur batang sorgum manis selama inkubasi dengan *T. reesei* dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan grafik pada Gambar 1 tampak bahwa kandungan gula terlarut meningkat dari awal masa inkubasi hingga jam ke-24. Setelah itu, kandungan gula menurun hingga di bawah konsentrasi awal. Dugaan sementara untuk fenomena ini adalah sejak awal inkubasi, *T. reesei* menghidrolisis selulosa dan hemiselulosa menjadi glukosa dan xilosa dan mencapai hasil maksimal pada jam ke-24. Setelah itu, selulosa maupun hemiselulosa di dalam bahan baku habis sehingga *T. reesei* beralih mengonsumsi glukosa atau xilosa yang ada untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu, konsentrasi gula terlarut berkurang terus hingga level paling rendah (kira-kira 3,28%Brix). Dugaan ini didasarkan pada teori bahwa jamur atau cendawan sebagai organisme heterotrof menggunakan sumber karbon dari bahan-bahan organik misalnya glukosa untuk pertumbuhannya (Pelczar dan Chan, 1986). Mekanisme hidrolisis molekul kompleks selulosa menjadi molekul sederhana yaitu glukosa oleh enzim selulase dapat dilihat pada Gambar 2.

Terdapat tiga jenis enzim yang tersusun di dalam kompleks enzim selulosa yaitu enzim *endo-1,4- β -D-glucanase* dan enzim *exo-1,4- β -D-glucanase* yang merupakan penyusun utama enzim selulase, serta sebagian kecil enzim *β -glucosidase*. Mekanisme kerja enzim kompleks selulase pada Gambar 2 menurut Mussatto and Teixeira (2010) adalah sebagai berikut: 1) *Endo-1,4- β -D-glucanase* (*endocellulase*, *carboxymethylcellulase* atau CMC ase), merupakan enzim yang bertugas untuk memecah ikatan internal pada struktur kristalin selulosa dan membuka rantai polisakarida. 2) *Exo-1,4- β -D-glucanase* (*cellobiohydrolase*), merupa-

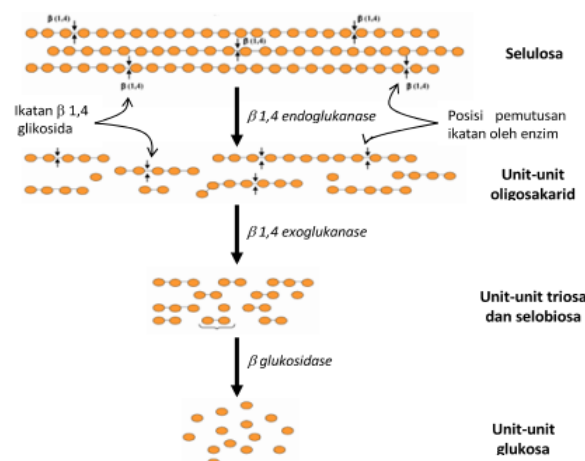
kan enzim yang bertugas untuk membelah 2-4 unit dari akhir rantai yang diproduksi oleh *endocellulase* dan menghasilkan tetrasakarida atau disakarida serta menghasilkan monosakarida berupa glukosa. 3) *β -glucosidase* (*cellobiase*), merupakan enzim yang jumlahnya relatif sedikit dalam selulase. Tugas *beta-glucosidase* ialah menghidrolisis produk dari enzim eksoselulase menjadi monosakarida (glukosa).

Tabel 1
Hubungan lama inkubasi dengan *T. reesei* dengan konsentrasi gula (%Brix)

No	Lama inkubasi (jam)	Rata-rata konsentrasi gula (% Brix)
1	0	7,54
2	24	9,84
3	48	4,05
4	72	3,28
5	96	3,61
6	120	3,50



Gambar 1. Pola perubahan konsentrasi gula terlarut di dalam bubur batang sorgum manis selama inkubasi dengan *T. reesei*.



Gambar 2. Mekanisme hidrolisis molekul selulosa oleh enzim selulase menjadi molekul-molekul glukosa (Mussatto dan Teixeira, 2010).

Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara efisien memerlukan aksi sinergis dari ketiga enzim yang terlibat (Behera dkk., 2017). Hasil dari katalisis *endoglucanase* dan *cellobiohydrolase* berturut-turut adalah *cellodextran* dan *cellobiose* bersifat sebagai penghambat bagi aktivitas enzim. Dengan demikian maka hidrolisis selulosa yang efisien memerlukan *beta glukosidase* yang bertugas memutuskan ikatan glikosida terakhir untuk menghasilkan glukosa sebagai produk akhir (Gupta dkk., 2013).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen bioetanol dari bubur batang sorgum manis dapat ditingkatkan dengan cara menginkubasi substrat terlebih dahulu dengan jamur *T. reesei*. Waktu inkubasi dapat direkomendasikan tidak lebih dari 24 jam.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa: waktu inkubasi dengan *T. reesei* mempengaruhi konsentrasi gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis, waktu inkubasi hingga 24 jam dapat meningkatkan konsentrasi gula terlarut dalam bubur batang sorgum manis, tetapi setelah lebih dari 24 jam, justru menurunkan konsentrasi gula terlarut, sehingga waktu inkubasi yang direkomendasikan adalah tidak lebih dari 24 jam, dan kenaikan konsentrasi gula terlarut dalam penelitian ini maksimal sebesar 30,50%Brix dari konsentrasi gula awal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih yang berlimpah peneliti haturkan kepada Pimpinan Universitas Nusa Cendana atas dukungan dana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, N., Arief, W., & Sugeng, W. (2010). *Optimasi produksi enzim selulase untuk hidrolisis jerami padi*, diunduh dari: www.digilib.its.ac.id/public/ITSResearch-11652-195209161980031002-Paper4.pdf.
- Behera, B., Sethi, B., Mishra, R., Dutta, S., & Thatoi, H. (2017). Microbial cellulases-diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *Jour. of Gen. Eng. and Biotech.*, Vol.15: 197-210.
- Billa, E., Koullas, D., Monties, B., & Koukios, E. (1997). Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Ind. Crops and Prod.*, Vol.6: 297-302.
- Gupta, R., Meheta, G., Deswal, D., S, S., Jain, K., Singh, A., & Kuhad, R. (2013). Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery. In R. Kuhad, & A. Singh.
- Koike, H., Aerts, A., LaButti, K., IV, G., & Baker, S. (2013). Comparative genomics analysis of *Trichoderma reesei* strains. *Ind. Biotech.*, Vol.9: 352-367.
- Mussatto, S., & Teixeira, J. (2010). Lignocellulose as a raw material in fermentation process. *App. Microbiol. and Microb. Biotech.*, Vol.2: 897-907.
- Pelczar, M., & Chan, E. (1986). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Prihandana, R., Kartika, N., Praptiningsih, G., Dwi, S., Sigit, S., & Roy, H. (2007). *Bioetanol ubi kayu: Bahan bakar masa depan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Reddy, B., Reddy, P., Kumar, A., Sharma K, K., Chetty, S., & Palaniswamy, A. (2006). *Sweet Sorghum: Food, Feed, Fodder and Fuel Crop*. India: ICRISAT.