

PRODUKSI SELULASE OLEH KAPANG *Aspergillus* sp. HASIL
ISOLASI DARI LIMBAH PENGOLAHAN SAGU (*Metroxylon* sp.)
DENGAN VARIASI KONSENTRASI INOKULUM PADA FERMENTASI
TERENDAM STATIS

Anisa Rachma Sari¹, Endang Kusdiyantini², MG Isworo Rukmi²

¹Program Studi Biologi, Departemen Biologi, FSM Undip

²Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, FSM Undip

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Semarang, 50275 Tlp. (024) 7474754 ; Fax. (024) 76480690

Email : anisarachmasari8@gmail.com

ABSTRACT

Sago processing waste is one of agro-industry waste, which contains cellulose 19,55% and lignin 25%. Genus *Aspergillus* has been widely known as cellulase-producing fungi. Isolation of *Aspergillus* from sago processing waste is expected to get a potential isolates *indegenous* cellulolytic fungi. Cellulase (EC 3.2.1.4) is an enzyme that can break down cellulose into glucose monomer form, with consists of three components that work in synergy are endoglucanase, eksoglucanase and -glucoside. This study aims to obtain isolates of *Aspergillus* sp. cellulolytic potential from sago processing waste and cellulase production of the cellulolytic isolates in various concentrations of inoculum. The study was conducted using completely randomized design (CRD) 1 factor of 4 levels of inoculum concentration treatments were 0%, 2,5%; 5%; and 10% with three replications. The observed variables are biomass, CMCase activity and FPase activity. Data were analyzed by ANOVA with a significance level 95%. The result of isolation, two isolates of *Aspergillus* namely *A. flavus* and *A. paradoxus* with cellulolytic index respectively 2,63 and 2,06. Cellulase activity isolate of *A. flavus* either endoglucanase (CMCase) or total cellulase (FPase) are not affected by the concentration of inoculum.

Keywords: cellulase, sago waste, Aspergillus, inoculum

ABSTRAK

Limbah pengolahan sagu merupakan salah satu limbah agroindustri, yang banyak mengandung selulosa 19,55% dan lignin 25%. Kapang genus *Aspergillus* telah banyak diketahui sebagai kapang penghasil selulase. Isolasi kapang *Aspergillus* dari limbah pengolahan sagu diharapkan mendapatkan isolat potensial kapang selulolitik *indegenous*. Selulase (EC 3.2.1.4) merupakan enzim yang dapat mengurai selulosa menjadi monomernya berupa glukosa, dengan terdiri dari tiga komponen yang bekerja secara sinergi yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan -glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat kapang *Aspergillus* sp. selulolitik potensial dari limbah pengolahan sagu dan produksi selulase dari isolat selulolitik tersebut pada berbagai konsentrasi inoculum. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor 4 taraf perlakuan konsentrasi inoculum yaitu 0% ,2,5% ; 5% dan 10% dengan 3 kali ulangan. Variabel yang diamati yaitu biomassa kapang, aktivitas CMCCase dan aktivitas filter paper (FPase). Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dengan taraf signifikan 95%. Hasil isolasi dua isolat kapang *Aspergillus* yaitu *A. flavus* dan *A. paradoxus* dengan indeks selulolitik masing-masing 2,63 dan 2,06. Aktivitas selulase isolat kapang *A. flavus* baik endoglukanase (CMCase), maupun total selulase (FPase) tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inoculum.

Kata kunci: selulase, limbah sagu, Aspergillus, inoculum

PENDAHULUAN

Limbah pengolahan sagu merupakan salah satu limbah agroindustri dari empulur sagu (*Metroxylon* sp.) setelah proses pengolahan pati. Komposisi berat kering dari limbah tersebut yaitu pati 66%, serat kasar 14%, selulosa 19,55% dan lignin 25% (Chew and Shim, 1993 in Awg-Adeni *et al.*, 2010). Kumoro *et al.* (2008 in Ling, 2011), menambahkan beberapa kandungan lain dari limbah sagu kering (% w/w) yaitu protein 0,98%, kelembaban 6,10% dan abu 4,16%. Material dari limbah tadi sebagian atau seluruhnya susah didegradasi di lingkungan, menyebabkan menjadi terakumulasi. Selulosa adalah polimer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan -1,4 glikosidik. Jumlah unit glukosa dalam molekul selulosa dan derajat polimerisasi bervariasi, berkisar dari 250-10.000 tergantung pada sumber dan metode treatment (Klemm *et al.*, 2005 in Sukumaran *et al.*, 2005). *Pretreatment* terhadap substrat selulosa perlu dilakukan untuk membantu pelepasan struktur lignin dan peningkatan aksesibilitas enzim. Beberapa metode *pretreatment* yang dapat dilakukan yaitu penggilingan, radiasi energi tinggi, hidrolisis basa atau asam, perlakuan menggunakan gas hidrogen peroksida dan biologis (Sridevi *et al.*, 2015).

Aspergillus adalah genus dari fungi anamorphik (aseksual) yang bereproduksi dengan menghasilkan phialospora (konidia tumbuh dari fialid). Karakteristik dari genus ini ditandai dengan konidiofor yang khas, yaitu ada yang memiliki susunan uniseriate atau biseriate (Klich, 2002). Sebagian besar *Aspergillus* sp. dapat tumbuh baik pada suhu 27-37°C dengan kisaran pH luas. Kemampuan *Aspergillus* dalam memproduksi berbagai enzim seperti selulase, amilase, glukoamilase, lipase dan

protease dilaporkan berturut-turut oleh (Ilyas *et al.*, 2011 ; Chimata *et al.*, 2010 ; Anto *et al.*, 2006 ; Falony *et al.*, 2006 and Paranthaman *et al.*, 2009 in Ling, 2012). Kapang *Aspergillus* dapat diisolasi di tanah dan substrat organik yang membusuk tanpa menggunakan teknik khusus, karena bersporulasi secara produktif serta bergeminasasi secara cepat pada medium umum atau selektif (Labeda, 1990).

Selulase merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan -1,4 dalam rantai selulosa, yang dapat dihasilkan oleh kapang, bakteri dan hewan. Selulosa di alam, dihidrolisis oleh kapang aerob dengan kombinasi dari tiga jenis selulase yaitu endoglukanase (EC 3.2.1.4), eksoglukanase dan -glukosidase (EC 3.2.1.21) (Zhang and Zhang, 2013). Endoglukanase menghidrolisis rantai selulosa secara acak dengan memotong daerah amorf dan menghasilkan rantai oligosakarida sebagai substrat bagi eksoglukanase. Eksoglukanase menghidrolisis rantai oligosakarida yang terbentuk menjadi selobiosa disakarida. -glukosidase menghidrolisis selobiosa disakarida dan menghasilkan dua monomer glukosa (Iqbal *et al.*, 2010).

Produksi selulase dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, konsentrasi substrat, sumber karbon, pH dan konsentrasi inokulum. Suhu optimum yang digunakan dalam produksi selulase adalah 30°C. Konsentrasi substrat perlu dipertimbangkan untuk mencapai peningkatan produk selulase tanpa banyak terbentuk zat inhibitor yang akan menyebabkan pemborosan bahan baku dan medium produksi (Copeland, 2000). Sumber karbon berperan penting dalam metabolisme sel karena berfungsi sebagai sumber energi dan elemen struktural sel

fungi. Glukosa, sukrosa, fruktosa, maltosa dan pati dapat digunakan sebagai sumber C untuk produksi selulase (Hoa and Hung, 2013). pH dapat berpengaruh terhadap produksi enzim, karena sel-sel mampu menanggapi rangsangan fisik dan kimia dari lingkungan eksternal melalui mekanisme biokimia dan fisiologi. Inokulum merupakan populasi mikroorganisme atau sel bisa dalam bentuk bahan padat atau cair yang ditambahkan ke dalam medium fermentasi. Kriteria inokulum yang perlu diperhatikan adalah kultur mikrobial bebas dari kontaminan dan tersedia dalam jumlah yang cukup untuk tercapainya proporsi inokulum dengan medium fermentasi (Sood *et al.*, 2011).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi, Universitas Diponegoro dan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.

Cara Kerja

Isolasi Kapang Selulolitik

Isolasi kapang selulolitik dari limbah pengolahan sagu yang telah disimpan selama ± 2 tahun dilakukan dengan teknik *direct plating*, pada medium Czapek-Dox agar yang mengandung CMC 1% (w/v) dan kloramfenikol 50 ppm di dalam cawan petri. Petri diinkubasi pada suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 4-6 hari (Fouzia and Khan, 2011 *in* Pathania *et al.*, 2015). Koloni jamur yang menunjukkan perbedaan morfologi makroskopis (warna, bentuk dan persebaran koloni) diisolasi ke medium PDA miring diinkubasi pada suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 4-5 hari.

Pengamatan Mikroskopis Kapang *Aspergillus*

Isolat kapang yang diperoleh selanjutnya dibuat preparat dan diamati di bawah mikroskop. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada kultur berumur 4-5 hari pada PDA miring dengan inkubasi suhu ruang (Naveenkumar and Thippeswamy, 2013). Hasil pengamatan mikroskopis yang menunjukkan karakteristik *Aspergillus*, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas selulolitik untuk mengetahui apakah isolat mampu menghasilkan enzim selulase.

Uji Aktivitas Selulolitik

Isolat yang diduga *Aspergillus* diuji kembali untuk menetapkan kemampuan aktivitas selulolitiknya. Miselium kapang dari kultur isolat berumur 5 hari pada PDA miring diinokulasikan ke medium CMC agar dan diinkubasi suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari (Naveenkumar and Thippeswamy, 2013). Petri yang sudah ditumbuhi koloni kapang, selanjutnya dituangi larutan *congo red* 0,1% dibiarkan selama 20 menit. Larutan *congo red* dibuang, dan dituangkan larutan NaCl 1 M ke dalam cawan petri dibiarkan selama 20 menit. Aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan munculnya zona bening di sekitar koloni kapang. Indeks selulolitik dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks selulolitik} = \frac{\text{Diameter zona bening (mm)}}{\text{Diameter koloni kapang (mm)}}$$

Identifikasi *Aspergillus* Selulolitik

Aspergillus selulolitik terpilih diidentifikasi dengan pengamatan secara makroskopis maupun mikroskopis. Pengamatan makroskopis terhadap morfologi koloni dilakukan pada kultur yang ditumbuhkan pada medium MEA berumur 7 hari meliputi: warna koloni, tekstur koloni, diameter koloni, *growing zone*, *radial furrows*, *exudate drop* dan warna balik koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada perbesaran 400x meliputi: konidia (bentuk, ukuran dan warna), konidiofor

(permukaan dinding, ukuran dan warna), vesikel (bentuk dan ukuran), metula dan fialid. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis digunakan untuk determinasi isolat dengan menggunakan referensi dari Klich (2002) dan Samson *et al.*, (2010).

Persiapan Inokulum

Kultur *Aspergillus* selulolitik terpilih pada PDA miring berumur 3 hari diinokulasikan ke medium CDA miring dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Spora disuspensi dengan larutan Tween 80 0,1% (v/v) dalam akuades steril dan ditentukan kepadatannya hingga mencapai 10⁷ spora/mL, penghitungan spora dilakukan dengan menggunakan hemocytometer (Genilton *et al.*, 2015).

Produksi Selulase

Suspensi spora *Aspergillus* selulolitik terpilih dengan kepadatan 10⁷ spora/mL diinokulasikan ke dalam 100 mL medium Czapek Dox cair yang mengandung 2% (w/v) limbah bubuk pengolahan sagu yang sudah di *pretreatment* (Reddy *et al.*, 2015), dengan variasi konsentrasi sebesar 0%; 2,5%; 5% dan 10% (v/v). Fermentasi dilakukan pada suhu 30°C selama 6 hari dalam keadaan statis. Setiap perlakuan diulang 3 kali.

Pengukuran Biomassa Kapang

Pengukuran biomassa kapang dilakukan dengan metode berat gravimetri (Lakshmi and Narasimha, 2012). Akhir fermentasi, kapang *Aspergillus* dipisahkan dari medium dengan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman no 1. yang ditimbang hingga beratnya konstan. Miselium bersama kertas saring dikeringkan dengan oven pada suhu 70°C hingga didapatkan berat konstan. Berat kering miselium dihitung berdasarkan selisih berat kertas saring yang terdapat miselium dengan berat awal kertas saring.

Ekstraksi Selulase

Supernatan yang diperoleh pada akhir fermentasi dimasukkan ke tabung sentrifuse dan disentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit (Harini and Kumaresan, 2014). Hasil sentrifugasi filtrat disimpan dalam almari pendingin dan digunakan sebagai ekstrak enzim kasar.

Pengujian Selulase

a. Aktivitas CMCase

Ekstrak enzim kasar sebanyak 0,5 mL di dalam tabung reaksi ditambah dengan substrat 0,5 mL CMC 1%. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Reagen DNS sebanyak 3 mL ditambahkan ke dalam larutan dan dihomogenkan, dididihkan selama 5 menit. Campuran larutan selanjutnya didinginkan hingga mencapai suhu ruang dan nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada 540 nm (Ain *et al.*, 2012).

b. Aktivitas Filter Paper (FPase)

Ekstrak enzim kasar sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Satu potong kertas saring Whatman no. 1 (6 x 1 cm) direndam dalam tabung reaksi dengan 1 mL buffer natrium sitrat 0,05 M pH 4,8. Sebanyak 0,5 mL ekstrak enzim selanjutnya ditambahkan ke dalam rendaman kertas saring, dihomogenkan menggunakan vorteks dan ditutup dengan aluminium foil, diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Reagen DNS sebanyak 3 mL ditambahkan ke dalam larutan yang telah dihomogenkan, dididihkan selama 5 menit. Campuran larutan didinginkan hingga mencapai suhu ruang dan nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada 540 nm. Aktivitas enzim dinyatakan

dalam satuan unit (U). Satu unit aktivitas enzim dinyatakan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepaskan 1 mg gula pereduksi per menit pada suhu 50°C. Rumus Aktivitas Enzim (EA) adalah :

$$EA \text{ (mg/mL./menit)} = \frac{\text{glukosa} \times 1.000 \times P}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

Keterangan
 Glukosa = persamaan regresi kurva standar glukosa
 Waktu inkubasi = 30 menit
 P = faktor pengenceran (1)
 BM glukosa = berat molekul glukosa (180)

Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor. Variabel bebas adalah konsentrasi inokulum spora dengan 4 taraf perlakuan, yaitu 2,5%, 5%, 10% dan 0% (v/v), sedangkan sebagai variabel tergantung adalah biomassa kapang, aktivitas CMCase dan aktivitas filter paper (FPase). Matriks percobaan untuk ketiga parameter yang diamati adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Matriks Percobaan

Konsentrasi Inokulum (v/v)	Biomassa / CMCase / FPase			Rata-rata
	1	2	3	
C ₁				
C ₂				
C ₃				
C ₀				

Keterangan :
 C₁ = konsentrasi inokulum 2,5%
 C₂ = konsentrasi inokulum 5%
 C₃ = konsentrasi inokulum 10%
 C₀ = tanpa inokulum

Data yang didapat dianalisis dengan menggunakan Anova dengan taraf signifikansi sebesar 5%.

Hasil dan Pembahasan

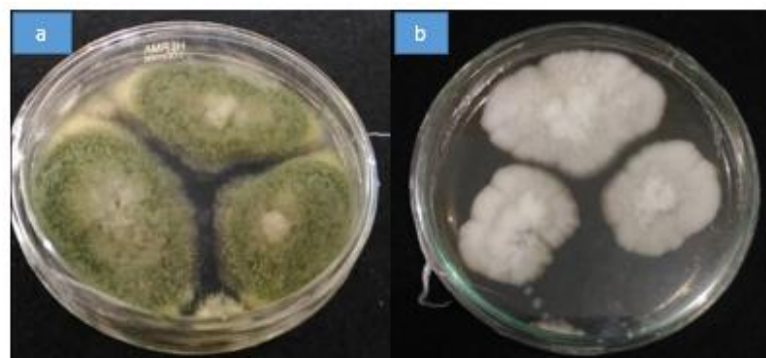
Isolasi Kapang *Aspergillus* Selulolitik

Isolasi kapang selulolitik dari limbah pengolahan sagu (*Metroxylon* sp.) yang berumur ± 2 tahun, mendapatkan 2 isolat *Aspergillus*, yaitu *Aspergillus* sp.1 dan *Aspergillus* sp.2. Menurut Zoppas et al. (2013), kapang *Aspergillus* dapat diisolasi dari tanah, air, dan jaringan tanaman yang membusuk. Isolat-isolat kapang *Aspergillus* yang diperoleh, selanjutnya diidentifikasi secara konvensional dengan pengamatan morfologi koloni (makroskopis) dan morfologi sel (mikroskopis) pada medium MEA berumur 7 hari inkubasi suhu ruang. Hasil pengamatan mikroskopis dan makroskopis dapat dilihat pada Tabel 2. Gambar 1. dan Gambar 2. menunjukkan koloni dan morfologi mikroskopis dari kedua isolat *Aspergillus*.

Analisis Data

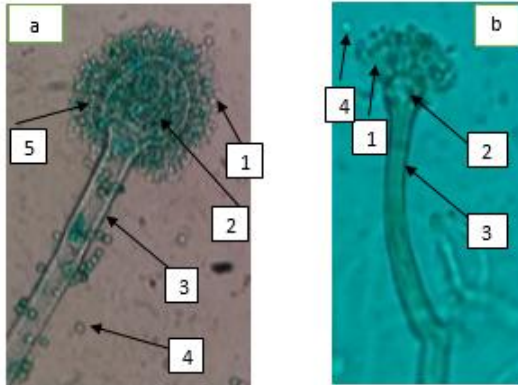
Tabel 2. Ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis isolat kapang *Aspergillus* selulolitik pada medium MEA umur 7 hari inkubasi suhu ruang

Deskripsi	Isolat	
	<i>Aspergillus</i> sp.1	<i>Aspergillus</i> sp.2
• Koloni pada medium MEA		
Warna koloni	hijau	putih susu
<i>Colony reverse</i>	kuning	kuning kecoklatan
Diameter koloni (mm)	73	60
Tekstur	velvety	cottony
• Konidia		
Bentuk	bulat	bulat
Warna	hijau	hialin
Ukuran (µm)	8,4	4,2
• Konidiofor		
Permukaan	kasar	Halus
Warna	hialin	Hialin
Panjang (mm)	2	0,28
Lebar (µm)	17	12,6
• Fialid	biseriate	uniseriate
• Metula	ada	tidak ada
• Vesikula		
Ukuran (µm)	42	12,6
Bentuk	globose	spathulate
• Sifat Tambahan		
<i>Growing zone</i>	tidak ada	tidak ada
<i>Radial furrows</i>	tidak ada	tidak ada
<i>Exudate drops</i>	ada, bentuk bulat dan warna kuning	tidak ada
<i>Hifa</i>	tidak bersepta	tidak bersepta
• Genus	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>
• Spesies	<i>flavus</i>	<i>paradoxus</i>



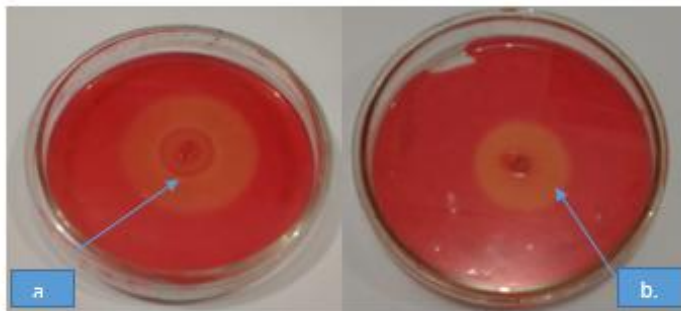
Gambar 1. Koloni (a). *A. flavus* (b). *A. paradoxus* pada medium MEA (berumur 7 hari inkubasi suhu ruang).

Berdasarkan Klich (2002) dan Samson *et al.*, (2010), isolat *Aspergillus* sp.1 teridentifikasi sebagai *Aspergillus flavus*, sedangkan isolat *Aspergillus* sp.2 adalah *Aspergillus paradoxus*.



Gambar 2. Hasil pegamatan mikroskop (a) *A. flavus* (b) *A. paradoxus* dengan perbesaran 400 kali pada medium MEA hari ke 7 inkubasi suhu ruang.

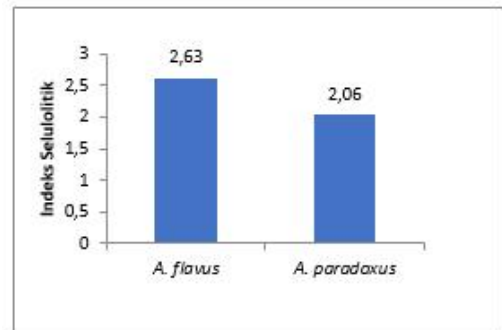
Keterangan: (1) fialid (2) vesikel (3) konidiofor (4) konidia (5) metula



Gambar 3. Aktivitas selulolitik kapang (a) *A. flavus* (b) *A. paradoxus* pada medium CMC agar inkubasi 7 hari, suhu ruang

Keterangan: tanda panah menunjukkan zona bening pada *Aspergillus* yang memiliki kemampuan selulolitik

Aktivitas selulolitik dari *A. flavus* dan *A. paradoxus* ditentukan dengan menghitung indeks selulolitik yang diperoleh dengan perbandingan diameter zona bening dan diameter koloni kapang pada medium CMC agar. Zona bening menunjukkan kemampuan *Aspergillus* dalam menghidrolisis CMC (Gambar 3.), yang merupakan sumber karbon utama dalam medium selektif selulolitik (Shahriarinoor *et al.*, 2011 in Irawan *et al.*, 2014).



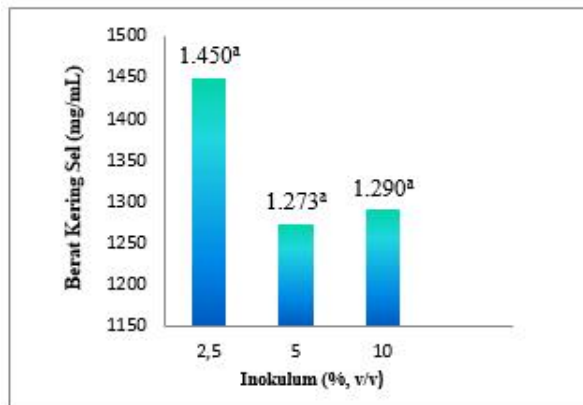
Gambar 4. Indeks sellolitik kapang *A. flavus* dan *A. paradoxus* dari limbah pengolahan sagu

Gambar 4. menunjukkan indeks selulolitik yang berbeda antara ke dua isolat kapang *Aspergillus* tersebut, hal ini menunjukkan aktivitas selulolitik isolat *A. flavus* (2,63) lebih tinggi dibandingkan *A. paradoxus* (2,06). Indeks selulolitik dari kedua isolat *Aspergillus* yang diisolasi dari limbah pengolahan sagu ini lebih tinggi daripada penelitian Purwadaria dkk. (2003), yaitu *A. flavus* yang mempunyai indeks selulolitik sebesar 1,4.

Biomassa Isolat *A. flavus* dengan Berbagai Konsentrasi Inokulum

Kemampuan *A. flavus* dalam mendegradasi bahan organik seperti selulosa menentukan pertumbuhannya. Pertumbuhan *A. flavus* diketahui melalui

metode gravimetri. Hasil pengukuran berat kering sel *A. flavus* ditunjukkan pada Gambar 4.5. Berat kering kapang *A. flavus* tertinggi diperoleh pada perlakuan inokulum 2,5%, yaitu 1.450 mg/mL (Gambar 5.), yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan konsentrasi inokulum yang lain.



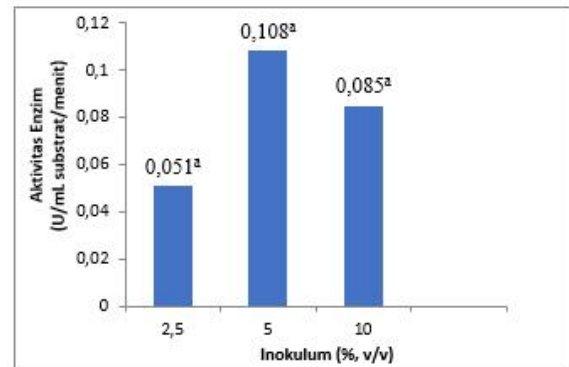
Gambar 5. Rerata berat kering sel *A. flavus* pada berbagai konsentrasi inokulum masa inkubasi 6 hari dalam keadaan statis pada suhu ruang

Keterangan: angka dengan superscript yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda tidak nyata dengan analisis sidik ragam pada taraf kepercayaan 95%

Berat kering sel *A. flavus* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis dari genus *Aspergillus* dan konsentrasi inokulum. Konsentrasi inokulum yang bertambah besar, menyebabkan aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi selulosa menjadi lebih cepat sehingga pertumbuhannya menjadi pesat. Pertumbuhan yang pesat pada mikroorganisme mengakibatkan pembentukan biomassa menjadi lebih besar (Riaz *et al.*, 2003 in Deb *et al.*, 2013).

Produksi Selulase oleh *A. flavus* dengan Berbagai Konsentrasi Inokulum

Produksi selulase oleh *A. flavus* diukur melalui aktivitas CMCase dan aktivitas FPase.



Gambar 6. Aktivitas CMCase isolat *A. flavus* pada konsentrasi inokulum berbeda setelah fermentasi terendam selama 6 hari dalam keadaan statis pada suhu ruang.

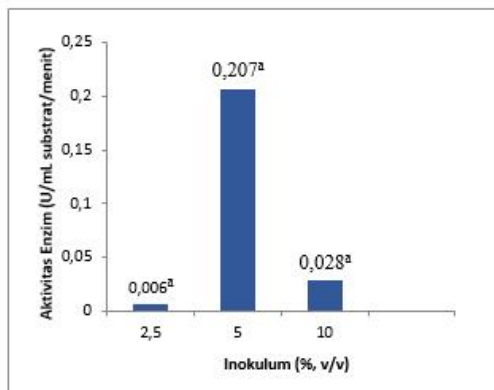
Keterangan: angka dengan superscript yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda tidak nyata dengan analisis sidik ragam pada taraf kepercayaan 95%

1. CMCase

Karboxy-methyl selulosa (CMC) digunakan sebagai substrat dalam pengujian aktivitas CMCase atau endoglukanase, yang akan menghidrolisis rantai selulosa secara acak dengan memotong daerah amorf dan menghasilkan rantai oligosakarida. Aktivitas CMCase isolat *A. flavus* Gambar 6.

Aktivitas CMCase tertinggi di peroleh pada perlakuan inokulum 5% v/v, yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan konsentrasi inokulum yang lain. Isolat *A. flavus* menunjukkan kemampuan menghasilkan endoglukanase yang mendegradasi selulosa. Menurut Lynd *et al.* (2002 dalam Dini dan Munifah, 2014), CMC

merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk amorphous, sehingga aktivitas selulase pada substrat tersebut menggambarkan aktivitas enzim endo-1,4- α -glukanase.



Gambar 7. Aktivitas FPase *A. flavus* pada konsentrasi inokulum berbeda setelah fermentasi terendam selama 6 hari dalam keadaan statis pada suhu ruang

Keterangan: angka dengan superscript yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang berbeda tidak nyata dengan analisis sidik ragam pada taraf kepercayaan 95 %

2. FPA

Aktivitas selulolitik pada substrat kertas saring Whatman no.1 menunjukkan aktivitas selulolitik total, yang terdiri dari kompleks endoglukanase dan eksoglukanase. Aktivitas FPase isolat *A. flavus* dari limbah sagu ditunjukkan pada Gambar 7.

Aktivitas FPase tertinggi ditunjukkan pada perlakuan inokulum 5% (v/v) sebesar 0,207 U/mL, yang tidak berbeda nyata dengan aktivitas FPase pada perlakuan inokulum yang lain. Substrat kertas saring Whatman no. 1 dihidrolisis oleh selulase baik endoglukanase maupun eksogluko-

nase, karena menurut Bedford and Patridge (2001), substrat yang berasal dari pulp kayu, seperti kertas saring diketahui memiliki campuran amorf dan kristalin yang mirip dengan selulosa.

Kesimpulan

isolasi kapang *Aspergillus* sp. selulolitik yang berpotensi tinggi dari limbah pengolahan sagu (*Metroxylon* sp.) didapatkan sebanyak dua isolat yaitu *A. flavus* dengan indeks selulolitik sebesar 2,63 dan *A. paradoxus* dengan indeks selulolitik 2,06. Aktivitas selulase yang dihasilkan kapang *A. flavus* hasil isolasi dari limbah pengolahan sagu (*Metroxylon* sp.) dalam menghidrolisis substrat yang berbeda yaitu CMC dan kertas saring Whatman no.1. tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inokulum.

Daftar Pustaka

- Ain, Q. U., S. Baig and M. Saleem. 2012. Production and Characterization of Cellulases of *Aspergillus niger* by Using Rice Husk and Saw Dust as Substrates. *Journal Botany* 44: 377-382.
- Ang-Adeni, D. S., Abd- Aziz, S. And M. A. Hassan. 2010. Bioconversion of Sago Residue into Value Added Products. *African Journal of Biotechnology*. 9(14): 2006- 2012.
- Bedford, M. R. And G. G. Patridge. 2001. Enzymes in Farm Animal Nutrition, second Edition. CAB International Companies, America.
- Copeland, R. A. 2000. Enzymes 2nd edition: a Practical Introduction to Structure, Mechanism and Data Analysis. A John Wiley & Sons, Inc. Publication, New York.
- Deb, P., Talukdar, S. A., Mohsina, K., Sarker, P. K. and SM. A. Sayem. 2013. Production and Partial Characterization of Extracellular Amylase Enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* P-001. *Springer Journal*. 2: 154-166.
- Dini, I. R. Dan I. Munifah. 2014. Produksi dan Karakterisasi Enzim Selulase Ekstrak Kasar dari Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Rumpuk Laut. *Jurnal Teknologi*

- dan Industri Pertanian Indonesia*. 6(3): 69-75.
- Genilton, S. F. J., Mariza, S. A., Caroline, S., Diego, S., Kally, A., Pinto, S., and G. Adolfo. 2015. Strategies to Increase Cellulose Production With Submerged Fermentation Using Fungi Isolated From the Brazilian Biome. *Acta Scientiarum Health Science*. 37(1): 15-22.
- Harini, S. and R. Kumaresan. 2014. Production of Cellulose From Corn Cobs by *Aspergillus niger* Under Submerged Fermentation. *International Journal of Chemical Technology Research*. 6(5): 2900-2904.
- Hoa, B. T. and P. V. Hung. 2013. Optimization of Nutritional Composition and Fermentation Conditions for Cellulase and Pectinase Production by *Aspergillus oryzae* using Response Surface Methodology. *International Food Research Journal*. 20(6): 3269-3274.
- Iqbal, H. M. N., Asgher, M., Ahmed, I. And S. Hussain. 2010. Media Optimization for Hyper-production of Carboxymethyl Cellulase using Proximally Analyzed Agro-Industrial Residu with *Trichoderma harzianum* under SSF. *IJAVMS*. 4(2): 46-55.
- Irawan, B., Kasiamdari, R. S., Sunarminto, B. H. And E. Sutariningsih. 2014. Preparation of Fungal Inoculum for Leaf Litter Composting from Selected Fungi. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 9(3): 89-95.
- Klich, M. A. 2002. Identification of Common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, the Netherlands, Netherlands.
- Labeda, D. P. 1990. Isolation of Biotechnological Organisms From Nature. Mc-Graw Hill Publishing Company, New York.
- Lakshmi, A. S. And G. Narasimha. 2012. Production of Cellulases by Fungal Cultures Isolated from Forest Litter Soil. *Annals of Forest Research*. 55(1): 85-92.
- Ling, T. W. 2012. Bioconversion of Sago Waste Using *Aspergillus* sp. for the Production of Reducing Sugars. *Skripsi*. Fakultas of Resource Science and Technology, Universitas Malaysia Sarawak, Malaysia.
- Naveenkumar, K. J. and B. Thippeswamy. 2013. Isolation and Screening of Potential Cellulolytic Fungi From Areca Nut Husk Waste. *International Journal CURR Science*. 8: 125-132.
- Pathania, N., U. C. Pachouri and A. Kumar. 2015. Isolation, Biochemical and Molecular Characterization of Cellulase Producing Fungi. *International Journal of Advanced Research*. 3(10): 842-858.
- Purwadaria, T., P. A. Marbun, A. P. Sinurat dan P. P. Ketaren. 2003. Perbandingan aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 8(4): 213-219.
- Reddy, G. P. K., Narasimha, G., Kumar, K. D., Ramanjaneyulu, G., Ramya, A., Kumari, B. S. And B. J. Reddy. 2015. Cellulase Production by *Aspergillus niger* on Different Natural Lignocellulosic Substrates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(4): 835-845.
- Samson, R. A., Houbraeken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C. and B. Andersen. 2010. Food and Indoor Fungi. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre Utrecht, Netherlands.
- Sood, S., Bhat, S., Shinghai, R. And A. Kumar. 2011. Upstream Processing Inoculum Preparation in: Murray Moo-Young (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, second edition. *Elsivier*. 2: 151-164.
- Sridevi, A., G. Narasimha, G. Ramanjaneyulu, K. Dileepkumar, B. R. Reddy and P. S. Devi. 2015. Saccharification of Pretreated Sawdust by *Aspergillus niger* Cellulase. *Biotechnology*. 5: 883-892.
- Sukumaran, R. K., Singhanian, R. R. And Pandey, A. 2005. Microbial Cellulases Production, Applications and Challenges. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 64: 832-844.
- Zhang, X. Z. And H. P. Zhang. 2013. Cellulases: Characteristic, Sources, Production and Applications. John Willey & Sons, Inc. Published, New York.
- Zoppas, F. M., Meneguzzi, A. and F. Tramotina. 2013. Alternatives fo Cellulase Production in Submerged Fermentation with Agroindustrial Waste. *International Journal of Modern Engineering Research*. 3(4): 2347- 2381.