



TUGAS AKHIR - SB - 141510

AKTIVITAS ENZIM ENDOGLUKANASE (EG) DAN LIGNIN PEROKSIDASE (LiP) DARI *Penicillium* sp. PADA MEDIA PERTUMBUHAN BEKATUL DAN TONGKOL JAGUNG

Arzulinda Maulidar Rahmasyitha
0131124000022

Dosen Pembimbing
Dr. Enny Zulaika, MP.

PROGRAM STUDI S1
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS ILMU ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018



TUGAS AKHIR SB - 141510

AKTIVITAS ENZIM ENDOGLUKANASE (EG) DAN LIGNIN PEROKSIDASE (LiP) DARI *Penicillium* sp. PADA MEDIA BEKATUL DAN TONGKOL JAGUNG

Arzulinda Maulidar Rahmasyitha
0131124000022

Dosen Pembimbing
Dr. Enny Zulaika, MP.

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS ILMU ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018



FINAL PROJECT - SB - 141510

ACTIVITY OF ENDOGLUCANASE (EG) AND LIGNIN PEROXIDASE (LiP) ENZYME FROM *Penicillium* sp. IN RICE BRAN AND CORNCOB MEDIA

Arzulinda Maulidar Rahmasyitha
0131124000022

Supervisor
Dr. Enny Zulaika, MP.

BIOLOGY DEPARTMENT
FACULTY OF SCIENCE
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2018

LEMBAR PENGESAHAN

**AKTIVITAS ENZIM ENDOGLUKANASE (EG) DAN
LIGNIN PEROKSIDASE (LiP) DARI *Penicillium sp.*
PADA MEDIA BEKATUL DAN TONGKOL JAGUNG**

TUGAS AKHIR

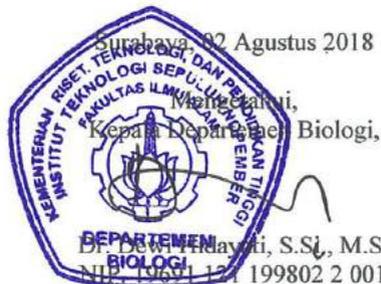
Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Sains
pada
Departemen S-1 Biologi
Fakultas Ilmu Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**ARZULINDA MAULIDAR RAHMASYITHA
NRP. 0131124000022**

Disetujui Oleh Pembimbing Tugas Akhir:

Dr. Enny Zulaika, MP. (Pembimbing)



Aktivitas Enzim Endoglukanase (EG) dan Lignin Peroksidase (LiP) dari *Penicillium* sp. Pada Media Bekatul dan Tongkol Jagung

Nama Mahasiswa : Arzulinda Maulidar
Rahmasyitha
NRP : 0131124000022
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr.Enny Zulaika, MP.

Abstrak

*Bekatul dan tongkol jagung memiliki kandungan lignin dan selulosa yang tersusun oleh unsur nitrogen dan karbon. Sehingga bekatul dan tongkol jagung dapat digunakan sebagai media pertumbuhan fungi. Beberapa spesies jamur menghasilkan enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) pada *Penicillium* sp. dengan media pertumbuhan bekatul dan tongkol jagung. Aktivitas enzim endoglukanase (EG) diukur menggunakan metode DNS, sedangkan aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) diukur dengan metode oksidasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan LiP pada *Penicillium* sp. yang tertinggi pada media bekatul adalah sebesar 0,135 U/ml dan 32,131 U/ml. Pada media tongkol jagung aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan LiP tertinggi adalah sebesar 0,104 U/ml dan 26,695 U/ml.*

Kata Kunci: Bekatul, lignoselulosa, *Pennicillium* sp., tongkol jagung.

**Activity of Endoglucanase (EG) and Lignin Peroxidase (LiP)
Enzyme From *Penicillium* sp. in Rice Bran and Corncob
Medium**

Student Name : Arzulinda Maulidar
Rahmasyitha
NRP : 0131124000022
Department : Biologi
Supervisor : Dr.Enny Zulaika, MP.

Abstract

Rice bran and corncob contains lignin and cellulose composed of nitrogen and carbon. So rice bran and corncob can be used as medium of fungi growth. Some fungal spesies can produce endoglucanase (EG) enzymes and lignin peroxidase enzyme. This study aims to determine the activity of cellulase enzyme and ligninase in *Penicillium* sp. with the growth media of bran and corn cob. Cellulase enzyme activity was measured using DNS method, while ligninase enzyme activity was measured by oxidation method. The results shows activity endoglucanase enzyme (EG) and lignin peroxidase of *Penicillium* sp. in rice bran medium was higher of 0,135 U / ml and 32,131 U / ml. Corncob media, activity endoglucanase (EG) enzyme and lignin peroxidase of *Penicillium* sp. was higher of 0,104 U/ml and 26,695 U/ml.

Key word: Bran, lignin, cellulose , *Pennicillium* sp., corncob

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, rasa syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tugas Akhir dengan judul **“Aktivitas Enzim Endoglukanase (EG) dan Lignin Peroksidase (LiP) dari *Penicillium* Sp. Pada Media Pertumbuhan Bekatul dan Tongkol Jagung”**. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei - Juni 2018. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Tak lupa penulis sampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam melaksanakan penyusunan Tugas Akhir sehingga dapat terselesaikan dengan baik. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Enny Zulaika, MP. sebagai pembimbing serta ibu Wirdhatul Muslihatin, S.Si.,M.Si, dan ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si.,M.Si selaku dosen penguji dan khususnya untuk ibu Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si.,M.Si selaku pembimbing awal sebelum melanjutkan studi lanjut.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan Tugas Akhir ini. Kritik dan Saran yang membangun sangat berarti bagi penulis untuk memperbaiki Tugas Akhir. Semoga Tugas Akhir ini bermanfaat untuk kemajuan ilmiah kedepan.

Surabaya, 2 Agustus 2018

Arzulinda Maulidar Rahmasyitha

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	vii
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Permasalahan	2
1.3 Batasan masalah	2
1.4 Tujuan	2
1.5 Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Limbah organik lignoselulosa	3
2.1.1 Limbah Bekatul	3
2.1.2 Limbah Tongkol Jagung	4
2.2 Lignoselulosa	5
2.2.1 Selulosa	5
2.2.2 Lignin	7
2.3 Enzim	8
2.3.1 Enzim Selulase (Endoglukanase (EG))	9
2.3.2 Enzim Ligninase (Lignin peroksidase (LiP))	11
2.4 Aktivitas enzim	13

2.5	Kapang Pendegradasi Selulosa dan Lignin	14
2.4.1	<i>Pennicillium</i> sp.	15
BAB III METODOLOGI		
3.1	Waktu dan tempat penelitian	17
3.2	Alat, bahan, dan cara Kerja	17
3.2.1	Subkultur isolat uji	17
3.2.2	Preparasi suspensi spora	17
3.2.3	Pembuatan media basal- <i>Chloramphenicol</i>	17
3.2.4	Tahap <i>pre-treatment</i> bekatul dan tongkol jagung	18
3.2.5	Pembuatan larutan DNS	18
3.2.6	Produksi kapang pada medium bekatul dan tongkol jagung	18
3.2.7	Ekstraksi enzim kasar	19
3.2.8	Uji aktivitas enzim	19
3.3	Rancangan penelitian dan analisis data	20
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		
4.1	<i>Pre-treatment</i> substrat bekatul dan tongkol jagung	21
4.2	Pertumbuhan <i>Pencillium</i> sp. pada media bekatul dan tongkol jagung	22
4.3	Aktivitas enzim endoglukanase (EG)	24
4.4	Aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP)	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
		31
DAFTAR PUSTAKA		
		33
LAMPIRAN		
		41
BIODATA PENULIS		
		55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur selulosa yang terdiri selulosa, lignin, dan hemiselulosa (Mussato <i>et al.</i> , 2010)	5
Gambar 2.2 Struktur kimia selulosa (Bastman <i>et al.</i> ,1989)..	6
Gambar 2.3 Kelompok fibril yang menyusun struktur Kristal dan amorf selulosa (Enari <i>et al.</i> , 1983) .	7
Gambar 2.4 Struktur lignin (Okafor <i>et al.</i> , 2007)	8
Gambar 2.5 Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis (Novita <i>dkk.</i> , 2011).....	10
Gambar 2.6 Penampakan koloni <i>Penicillium</i> sp. pada media PDA (a), Penampakan morfologi dibawah mikroskop (b).....	16
Gambar 4.1 Tongkol jagung (A) dan bekatul (b) setelah <i>pre-treatment</i>	21
Gambar 4.2 Kultur produksi <i>Penicillium</i> sp. umur 14 hari pada media tongkol jagung (A) san bekatul (B)	23
Gambar 4.3 Kurva standar glukosa	24
Gambar 4.4 Grafik aktivitas enzim EG pada media bekatul dan tongkol jagung	26
Gambar 4.5 Grafik aktivtas enzim LiP pada media bekatul dan tongkol	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Komposisi lignoselulosa (Aboyade <i>et al.</i> , 2011) 5
Tabel 2.2	Perbedaan karakter pada enzim ligninase (Singh <i>et al.</i> , 2006)..... 12

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Skema Kerja	41
Lampiran 2 Tabel Kurva Standar Glukosa.....	48
Lampiran 3 Hasil Aktivitas Enzim	48
Lampiran 3 Foto Pengamatan.....	52

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Limbah pertanian merupakan sumber daya alam terbarukan yang melimpah. Limbah pertanian mengandung biomassa tanaman yang paling mendasar yaitu lignin dan selulosa. Selulosa merupakan komponen utama yang terdapat pada tanaman dengan jumlah yang tinggi, dan komponen lainnya yaitu hemiselulosa dan lignin yang merupakan materi terbarukan yang melimpah di dunia setelah selulosa (Oliveira *et al.*,2006). Beberapa proses telah dikembangkan untuk memanfaatkan limbah pertanian sebagai bahan baku untuk produksi bahan kimia dan nilai tambah produk seperti ethanol, enzim, dan protein sel tunggal. Aplikasi limbah pertanian dapat memberikan alternatif substrat dan pemecahan masalah pencemaran lingkungan dari pembuangan limbah (Pandey *et al.*,2000).

Penggunaan enzim yang berasal dari mikroorganisme untuk hidrolisis polisakarida seperti lignin dan selulosa secara luas sudah diteliti karena mengingat sangat pentingnya produk hidrolisis pada saat proses fermentasi untuk produksi bahan bakar, bahan kimia, makanan, dan pakan ternak. Lignin dan selulosa merupakan komponen utama pada tanaman yang mampu didegradasi secara enzimatik dengan enzim selulase, dan ligninase oleh mikroorganisme (Kuhada *et al.*,1998). Mikroorganisme produsen enzim selulase dan ligninase diantaranya adalah kapang (Pham *et al.*,1998).

Penicillium sp. merupakan kelompok fungi berfilamen yang mampu menghasilkan enzim selulase dan ligninase, sehingga mampu mendegradasi lignin dan selulosa (Irma dan Kuswytasari 2012; Mustofa dan Kuswytasari, 2012). Kemampuan *Penicillium* sp. dalam mendegradasi lignin dan selulosa dapat menjadi agen hayati dan media pertumbuhan mikroorganisme *composting* fungi.

Bekatul merupakan hasil samping penggilingan padi yang memiliki kandungan lignin dan selulosa yang terdiri atas

mencapai 34,2% selulosa, dan kandungan lignin hingga 23,4% (Howard *et al.*, 2003).

Tongkol jagung merupakan hasil limbah pertanian yang memiliki kadar lignoselulosa yakni 26,81% selulosa dan 15,52% lignin (Prasetyawati *dkk.*, 2015). Kandungan bekatul dan tongkol jagung yang mempunyai kandungan lignin dan selulosa tinggi dapat dijadikan sebagai media pertumbuhan *Penicillium* sp. untuk memproduksi enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) dalam mendukung viabilitasnya.

1.2 Permasalahan

Permasalahan yang akan dikaji pada penelitian ini adalah berapakah aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) *Penicillium* sp. menggunakan media pertumbuhan bekatul dan tongkol jagung pada waktu tertentu.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada :

1. Metode pengukuran aktivitas enzim endoglukanase (EG) dengan metode DNS dan lignin peroksidase (LiP) dengan metode oksidasi.
2. Waktu inkubasi adalah 15 sampai dengan 21 hari.

1.4 Tujuan

Mengetahui aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) dari *Penicillium* sp. pada media pertumbuhan bekatul dan tongkol jagung pada waktu inkubasi 15 sampai dengan 21 hari.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang perbedaan aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) dari *Penicillium* sp. pada media pertumbuhan bekatul dan tongkol jagung pada waktu inkubasi 15 hingga 21 hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Organik Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan hasil samping atau residu dari berbagai industri seperti industri pulp kertas, industri kayu dan industri pertanian. Lignoselulosa sendiri merupakan bahan biopolimer dan komponen penyusun utama kayu dan tanaman. Lignoselulosa merupakan komponen yang sukar terdegradasi dibandingkan jenis polisakarida yang lain (Syafrizal *dkk.*, 2007). Limbah organik lignoselulosa yang melimpah di alam dan belum dimanfaatkan secara maksimal adalah bonggol jagung dan bekatul. Limbah pertanian tersebut mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang berperan sebagai inducer enzim selulase dan ligninase (Risdianto *dkk.*, 2008). Kebanyakan limbah tersebut kaya akan glukosa yang secara alami mudah dimetabolisme oleh mikroorganisme, hal tersebut membuat proses menjadi lebih ekonomis. Lignoselulosa yang terkandung pada limbah tersebut dapat menjadi substrat kapang pendegradasi lignoselulosa yang dapat menghasilkan enzim selulase dan ligninase (Widiastuti *dkk.*, 2005).

2.1.1 Limbah Bekatul

Bekatul merupakan salah satu limbah pertanian yang besar jumlahnya dan sepenuhnya belum dimanfaatkan. Produksi bekatul bervariasi yaitu dapat mencapai 12-15 ton per hektar satu kali panen atau 4-5 ton bahan kering tergantung lokasi dan jenis varietas tanaman yang digunakan (Yunilas *dkk.*, 2009). Bekatul merupakan bagian tanaman padi yang sudah diambil buahnya (Soekoharto *dkk.*, 1990). Produksi bekatul yang dihasilkan sekitar 50% dari produksi gabah kering panen. Bekatul merupakan limbah pertanian terbesar serta belum pernah sepenuhnya dimanfaatkan (Yunilas *dkk.*, 2009).

Bekatul banyak diproduksi di Asia dengan pemanfaatan hanya sebagai pakan ternak, dan energi rumah tangga dan sisa

bekatu lainnya hanya menjadi sumber sampah biomassa (Huang *et al.*, 2008). Biomassa berselulosa dari bekatul terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Bekatul diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi mencapai 34,2% berat kering, 24,5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23,4% dengan kandungan nutrisi dalam basis kering 0,5 – 0,8% N; 0,16 – 0,27% P₂O₅; 1,4 – 2% K₂O; 0,05% - 0,1% S dan 4 – 7% Si. Komposisi kimia limbah pertanian maupun limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan, dan langkah pemrosesan (Anggriawan *dkk.*, 2010).

2.1.2 Limbah Tongkol Jagung

Tongkol jagung adalah bagian dalam organ betina tempat bulir duduk menempel. Istilah ini juga dipakai untuk menyebut seluruh bagian jagung betina (buah jagung). Tongkol terbungkus oleh kelobot (kulit buah jagung). Secara morfologi, tongkol jagung adalah tangkai utama malai yang termodifikasi, malai organ jantan pada jagung dapat memunculkan bulir pada kondisi tertentu. Tongkol jagung tersusun atas senyawa kompleks lignin, hemiselulosa, dan selulosa. Masing-masing merupakan senyawa-senyawa yang potensial dapat dikonversi menjadi senyawa lain secara biologi (Suprpto dan Rasyid, 2002). Banyak daerah di Indonesia yang mengkonsumsi jagung, antara lain Madura, Yogyakarta, Sulawesi Selatan, Maluku Utara, Nusa Tenggara Timur, dan lainnya. Seiring dengan kebutuhan jagung yang cukup tinggi, maka akan bertambah pula limbah yang dihasilkan dari industri pangan dan pakan berbahan baku jagung. Limbah yang dihasilkan diantaranya adalah tongkol jagung yang biasanya tidak dipergunakan lagi ataupun nilai ekonominya sangat rendah. Biomassa berselulosa dari tongkol jagung terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Bekatul diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi mencapai 26,81% berat kering, 30,91% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 15,52% dengan kandungan nutrisi

dalam basis kering 0,3% N; 6,0% H; 44,7% O; 0,08% S dan 49% C (Aboyade *et al.*, 2011). Komposisi kimia limbah pertanian maupun limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan, dan langkah pemrosesan.

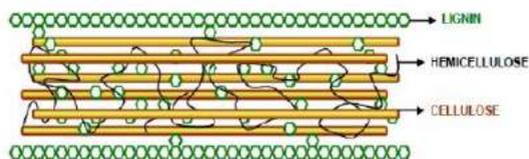
Tabel 2.1 Komposisi lignoselulosa bekatul dan tongkol jagung (Aboyade *et al.*, 2011).

Biomassa	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)
Bekatul	34,2	24,5	23,4
Tongkol Jagung	26,81	30,91	15,52

2.2 Lignoselulosa

2.2.1 Selulosa

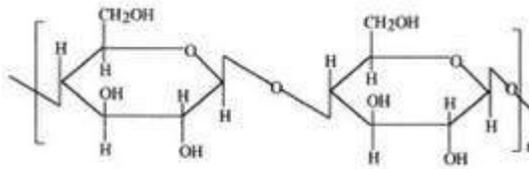
Selulosa adalah salah satu komponen utama dari lignoselulosa yang terdiri dari polimer linier glukosa. Selulosa dikelilingi oleh lignin dan hemiselulosa, membentuk struktur yang kuat (Mussatto *et al.*, 2010). Keberadaan ketiga komponen lignoselulosa tersebut dapat dilihat dari gambar 1 berikut ini :



Gambar 2.1 Struktur lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, lignin, dan hemiselulosa (Mussatto *et al.*, 2010).

Struktur selulosa seragam dan saling berikatan dengan ikatan glikosidik antara molekul glukosa yang satu dengan molekul glukosa yang lain (Hermiati *dkk.*, 2010, Anindyawati, 2009). Rantai-rantai tersebut dihubungkan oleh ikatan hidrogen

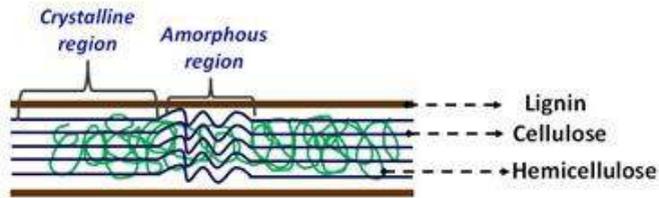
yang terdiri atas ikatan intermolekul dan intramolekul. Ikatan intermolekul terdiri antara gugus OH dari atom C nomor enam dengan atom O pada ikatan β -1,4-glukosida. Ikatan intra molekul terjadi antara gugus OH pada atom C nomor tiga dengan atom O pada cincin piranosa (Mark, 1980). Struktur kimia dari selulosa dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini.



Selulosa

Gambar 2.2 Struktur kimia selulosa (Bastman *et al.*, 1989).

Dalam dinding sel tumbuhan, selulosa terdapat dalam bentuk mikrofibril melalui ikatan inter, dan intra yang terdiri dari rantai molekul glukosa, sehingga membentuk struktur yang larut. Mikrofibril selulosa terdiri dari 2 tipe, yaitu kristalin dan amorf (Anindyawati *dkk.*, 2009). Bagian kristal selulosa terbentuk karena kelompok fibril yang teratur sedangkan bagian amorf selulosa terbentuk karena kelompok fibril yang tidak teratur (Enari *dkk.*, 1983) (Gambar 2.3). Menurut Gong dan Tsao (1979), secara umum selulosa sulit dihidrolisis karena memiliki tingkat struktur kristal yang tinggi dan lapisan lignin yang menyelubungi jaringan selulosa yang merupakan suatu penghalang. Bagian selulosa yang mudah dihidrolisis yaitu bagian amorf. Umumnya selulosa mengandung 15% amorf dan 85% kristalin.

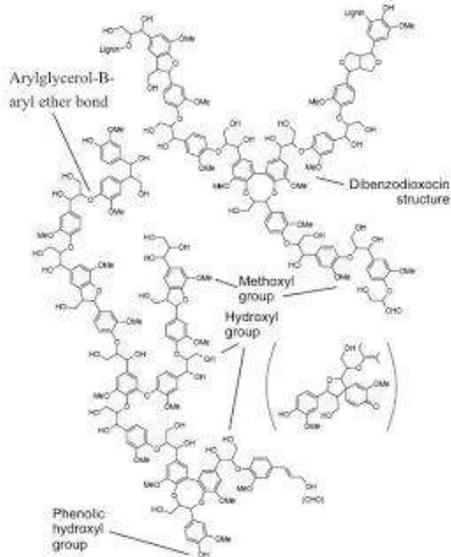


Gambar 2.3 Kelompok fibril yang menyusun struktur kristal dan amorf selulosa (Enari *et al.*, 1983).

2.2.2 Lignin

Lignin merupakan polimer yang strukturnya heterogen dan kompleks terdiri dari koniferil alkohol, sinaphil alkohol, dan kumaril alkohol (Singh *et al.*, 2006; Okafor *at al.*, 2007). Lignin merupakan komponen penting bagi tumbuhan setelah selulosa dan hemiselulosa sebagai penyedia kekuatan pohon dan pelindung dari biodegradasi. Kadar lignin jaringan kayu bervariasi antara 18% sampai 30%. Lignin terletak didalam lamella sekunder dinding sel tumbuhan. Lignin adalah produk massa tumbuhan yang secara biologi paling lambat dirusak (Schlegel *et al.*, 1994; Singh *at al.*, 2006).

Dalam lignin komponen koniferil alkohol, sinaphil alkohol, dan kumaril alkohol teranyam sebagai jala oleh ikatan C-C dalam beragam bentuk. Ikatan-ikatan ini sangat resisten terhadap pengaruh enzim. Lignin dalam tumbuhan merupakan produk akhir metabolisme dan hanya menjalankan fungsi mekanik saja. Secara biologi lignin dalam tumbuhan yang masih hidup diuraikan oleh beberapa fungi (Schlegel *at al.*, 1994).



Gambar 2.4 Struktur Lignin (Okafor *et al.*, 2007).

2.3 Enzim

Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi didalam sel. Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalis reaksi antara lain konversi energy dan metabolisme pertahanan sel (Richana *et al.*, 2000). Suatu bagian yang sangat kecil dari suatu molekul besar protein enzim berperan mengkatalis reaksi. Bagian kecil yang disebut bagian aktif (*active site*) ini melalui suatu mekanisme khas dan selektif dalam hubungan yang disebut kunci dan anak kunci (*lock and key*), dapat berikatan dengan substrat. Selain bagian katalitik yang merupakan bagian reaktif karena mengandung gugus fungsi, bagian sisanya yang besar dari molekul enzim juga dibutuhkan untuk berkangsungnya reaksi katalis.

Enzim digambarkan memiliki struktur tidak terlalu kaku. Sisi aktif enzim dapat terbentuk ketika substrat berinteraksi dengan enzim. Sisi aktif enzim berubah akibat beberapa interaksi lemah antara enzim dengan substrat. Rantai samping asam amino yang menyebabkan sisi aktif yang terbentuk menjadi suatu bentuk yang tepat sehingga memudahkan enzim untuk melakukan fungsi katalitiknya. Hanya substrat yang dapat terikat pada enzim dan menginduksi perubahan konformasi enzim yang cocok, yang baik bagi substrat.

Enzim merupakan molekul atmosfer yang mengandung sejumlah besar gugus asam dan basa di permukaannya. Muatan pada gugus tersebut bervariasi tergantung pada konstanta disosiasi asamnya dengan pH lingkungannya. Ini akan mempengaruhi muatan total dari enzim dan distribusi muatan pada permukaan luar, juga pada reaktivitas gugus yang aktif secara katalitik. Perubahan muatan oleh pH akan mempengaruhi aktivitas, stabilitas struktur dan kelarutan enzim. Apabila pH terlalu rendah maka terlalu banyak ion-ion H^+ yang mengelilingi enzim dan kemudian ion-ion H^+ akan tertarik pada enzim membentuk ikatan hidrogen. Sedangkan jika pH terlalu tinggi, maka terlalu banyak ion-ion OH^- , maka akan berinteraksi dengan daerah positif dalam enzim, yang mungkin daerah ini merupakan sisi aktif enzim. Akibat adanya kenyataan bahwa interaksi enzim dengan substrat sangat spesifik, maka terjadinya perubahan bentuk sisi aktif, secara langsung ataupun tidak langsung akan menyebabkan kerja enzim yang tidak tepat (Howard *et al*, 2003).

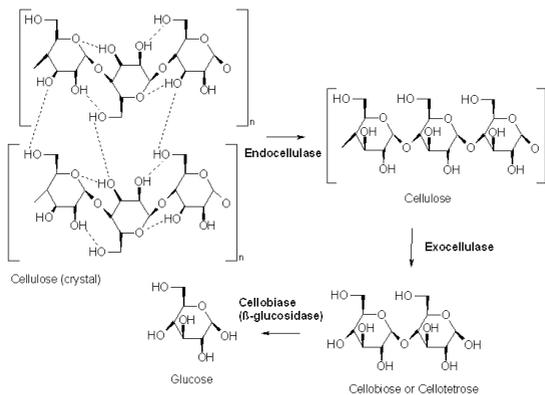
2.3.1 Enzim Selulase

Enzim merupakan kelompok protein yang sangat penting dalam proses biologis. Enzim dapat mengatur reaksi spesifik tertentu sehingga kehidupan dapat berjalan. Enzim mengikat molekul substrat membentuk kompleks enzim substrat yang bersifat sementara kemudian terurai membentuk enzim bebas dan produknya (Lehninger *et al.*, 1994). Salah satu enzim yang ada adalah enzim selulase. Enzim selulase mampu memutuskan

ikatan glikosidik beta-1,4 di dalam selulosa, selodekstrin, selobiosa, dan turunan lainnya. Enzim selulase yang diproduksi oleh mikroorganisme berupa enzim ekstraseluler dan proses hidrolisa selulosa dilakukan di luar sel mikroorganisme tersebut (Lynd *et al.*, 2002). Selulase dari mikroorganisme yang bersifat selulolitik adalah enzim yang terinduksi dan hanya diproduksi bila mikroorganisme ditumbuhkan pada selulosa atau glukon lain dengan ikatan beta-1,4 seperti selobiosa, laktosa, dan sophorosa (Ghose *et al.*, 1978).

Enzim selulase biasanya merupakan campuran dari beberapa enzim. Hermiati *dkk.* (2010) menyebutkan ada tiga kelompok enzim yang terlibat dalam proses hidrolisis selulosa, yaitu Endoglukanase atau carboxy methyl cellulose (CMC-ase) atau endo-1,4- β -glukanase, Eksoglukanase atau selobiohidrolase atau ekso-1,4- β -glukanase, dan β -glukosidase.

Hidrolisis selulosa oleh enzim selulase terjadi dalam dua tahap, dimana tahap awalnya merupakan tahap aktivitas dan kemudian dilanjutkan dengan tahap hidrolisis pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatis (Novita *dkk.*, 2011).

Tahapan hidrolisis selulosa yaitu degradasi selulosa menjadi selobiosa oleh endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase dilanjutkan dengan pemecahan selobiosa oleh β -1,4-glukosidase. Kebanyakan enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang selulolitik jumlah β -glukosidasenya kurang dari yang dibutuhkan untuk hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara efisien, sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa (Juhasz *et al.*, 2003).

Endoglukanase

Endoglukanase atau carboxy methyl cellulose (CMC-ase) atau endo-1,4- β -glukanase bekerja pada wilayah serat selulosa yang mempunyai kristalinitas rendah untuk memecah secara acak selulosa sehingga membentuk selodextrin, selobiosa, dan glukosa. Endoglukanase selalu ditemukan dalam mikroorganisme selulolitik baik fungi maupun bakteri. Pada umumnya endoglukanase bekerja pada selulosa amorf (larut) atau pada selulosa yang mempunyai kristalin rendah seperti karboksimetil selulosa (CMC). Melihat aktivitasnya sangat tinggi pada CMC, enzim ini disebut juga sebagai CMCase (Gong dan Tsao, 1979, Anindyawati, 2009).

2.3.2 Enzim Ligninase

Enzim ligninase terdiri dari lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), dan *laccase*. Enzim yang diproduksi kapang memiliki kombinasi yang berbeda sebagai strategi dalam mendegradasi lignin (Singh, 2006). Beberapa kapang mampu mensintesis satu atau dua jenis enzim.

Tabel 2.2 Perbedaan karakter pada Enzim ligninase (Singh *et al.*, 2006).

Karakter Pembeda	MnP	LiP	Laccase
Berat Molekul	38 - 62,5 kDA	40 kDA	60 - 80 kDA
Tipe Enzim	Peroksidase	Peroksidase	Fenol Oksidase
Peran dalam degradasi	unit fenolik	non fenolik	non fenolik dan fenolik
Bekerja dengan senyawa	H ₂ O ₂	H ₂ O ₂	O ₂

Lignin Peroksidase (LiP)

Lignin peroksidase (LiP) mengoksidasi unit non fenolik lignin melalui pelepasan satu elektron dan membentuk radikal kation yang kemudian terurai secara kimiawi. LiP memiliki kemampuan mengkatalis beberapa reaksi oksidasi antara lain pemecahan ikatan C α -C β rantai samping propil non fenolik komponen aromatik lignin, oksidasi benzil alkohol, oksidasi fenol, *hidroksil benzylic methylene groups* dan pemecahan cincin aromatic komponen non fenolik senyawa lignin (Tien and Kirk, 1984). LiP adalah enzim peroksidase ekstraselular yang aktivitasnya bergantung pada H₂O₂. LiP mengoksidasi senyawa aromatic (fenolik dan non-fenolik) dengan memindahkan satu elektron, menghasilkan phenoxy radical dan kation radical. Kemudian bereaksi secara spontan dengan molekul (bagian utama air) dan molekul oksigen. Hasilnya sebuah “*enzymatic combustion*” (pembakaran secara enzimatik) yang memecah ikatan C-C dan C-O, mendepolimerasi senyawa polimer dan membuka cincin aromatik (Akhtar *et al.*, 1997; Tien dan Kirk, 1984).

2.4 Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim dinyatakan sebagai Unit (U), didefinisikan sebagai kerja enzim untuk menghasilkan produk sebanyak 1 μmol /menit. Aktivitas enzim disebut juga sebagai kinetik enzim. Kinetik enzim adalah kemampuan enzim dalam membantu reaksi kimia. Kemampuan enzim ini dapat dihitung dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk, atau dengan menghitung kurangnya substrat dalam satuan waktu tertentu. Selain itu, dapat juga dihitung dengan peningkatan atau penurunan koenzim. Menghitung jumlah substrat, produk, atau koenzim di laboratorium tidak mudah karena jumlahnya yang sangat sedikit. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, pH, kadar substrat, kadar enzim, inhibitor, dan toksik enzim (Liebman *et al*, 1998).

Faktor yang mempengaruhi aktivitas Enzim:

a. Temperatur

Suhu inkubasi sangat mempengaruhi kerja dari enzim, suhu inkubasi yang lebih tinggi dari suhu optimum kerja enzim dapat menyebabkan terjadinya perubahan konformasi sisi aktif enzim yang disebabkan adanya denaturasi protein enzim. Sebagian besar enzim terdenaturasi pada suhu diatas 50 °C. Dalam batas-batas suhu tertentu, kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim akan naik bila suhunya naik. Reaksi yang paling cepat terjadi pada suhu optimum. Pada suhu 0oC enzim menjadi tidak aktif dan dapat kembali aktif pada suhu normal .

b. pH (Derajat Keasaman)

pH (Derajat Keasaman) enzim pada umumnya bersifat amfolitik, yang berarti enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal amino. Perubahan kereaktifan enzim diperkirakan merupakan akibat dari perubahan pH lingkungan. Perubahan pH dapat mempengaruhi asam amino kunci pada sisi aktif, sehingga menghalangi sisi aktif enzim membentuk kompleks dengan substratnya.

c. Konsentrasi Enzim

Kecepatan laju reaksi enzimatik berhubungan langsung antara konsentrasi enzim dengan substrat. Konsentrasi enzim secara langsung mempengaruhi kecepatan laju reaksi enzimatik, laju reaksi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

d. Konsentrasi substrat

Kecepatan reaksi enzimatik pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi substrat meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil hingga tercapai suatu titik batas yang pada akhirnya penambahan konsentrasi substrat hanya akan sedikit meningkatkan kecepatan reaksi.

e. Aktivator dan inhibitor

Beberapa enzim memerlukan aktivator dalam reaksi katalisnya. Aktivator adalah senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Komponen kimia yang membentuk enzim disebut juga kofaktor. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Zn, Fe, Ca, Mn, Cu, Mg atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut koenzim (Liebman *et al.*, 1988).

2.5 Kapang Pendegradasi Selulosa dan Lignin

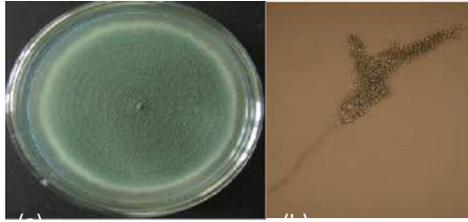
Beberapa kapang mendapatkan nutrisi dengan menyederhanakan karbohidrat kompleks menjadi lebih sederhana dengan bantuan enzim. Menurut Reese *et al.* (1950) untuk melakukan pertumbuhan, kapang membutuhkan N, P, dan K. Sedangkan ion-ion (Mg^{2+} , Zn^{2+} , dan Co^{2+}) tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan kapang, tetapi dibutuhkan untuk sintesa enzim selulase dan ligninase. Fe^{2+} , dan Mn^{2+} dapat berfungsi sebagai mineral penginduksi (Zhu *et al.*, 1981). Sedangkan kombinasi mineral Fe^{2+} atau Mn^{2+} dengan Zn^{2+} atau CO^{2+} akan meningkatkan aktivitas enzim yang dihasilkan (Mandels *et al.*, 1975).

2.5.1 *Penicillium* sp.

Penicillium sp. merupakan salah satu genus dari Deuteromycetes (*imperflect fungi*). Kelompok Deuteromycetes disebut sebagai *imperflect fungi* karena reproduksi dan struktur seksualnya jarang dibentuk. Deuteromyces membentuk spora aseksual yang disebut sebagai konidia. Miselium cendawan ini berkembang biak, berseptata, dan bercabang (Alexopoulos *et al.*, 1996).

Penicillium sp. tumbuh pada sebagai substrat, seperti pada tanah, kayu, sampah kertas, buah sayur, dan susu. Suhu pertumbuhan kapang *Penicillium* sp. adalah 20-80°C (Nwodo *et al.*, 2008; Kathiresan and Mnivannan, 2006) dan dapat tumbuh pada kisaran pH 2-9 (Sindhu *et al.*, 2011). Sedangkan pH optimum *Penicillium* sp. untuk pertumbuhan kapang tersebut adalah pada rentang 5,0-7,0 (Ramli *dkk.*, 2009).

Penicillium sp. mampu menghasilkan berbagai enzim, diantaranya yaitu enzim selulase dan ligninase (Liu *et al.*, 2007; Long *et al.*, 2009). *Penicillium* sp. memproduksi enzim selulase dan ligninase secara optimum pada pH 5.0 - 8.0 (Sindhu *et al.*, 2011), pH 5 (Desouky *et al.*, 2007; Nwodo *et al.*, 2008), pH 6 (I-son *et al.*, 2010), pH 7, dan pH 8 (Pericin *et al.*, 2008). Sedangkan temperatur optimum *Penicillium* sp. menghasilkan enzim selulase dan ligninase adalah suhu 30 °C (I-son *et al.*, 2010, Karthikeyan *et al.*, 2010), suhu 35°C (Sindhu *et al.*, 2011) dan 40°C (Das dan Uma, 2009).



Gambar 2.6 (a) Penampakan koloni *Penicillium* sp. pada medium PDA (b) Penampakan mikrofologi *Penicillium* sp. di bawah mikroskop (Lyn,2012).

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei – Juni 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Subkultur Isolat Uji

Isolat kapang *Penicillium* sp., dengan kode isolat LM1025 didapatkan dari koleksi kultur murni Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS. Kapang dibuat menjadi 2 subkultur yaitu kultur stok dan kultur kerja. Subkultur dilakukan pada media agar miring *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah disterilkan dalam autoklaf suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari kemudian kultur stok disimpan di lemari es.

3.2.2 Preparasi Suspensi Spora

Kultur kerja yang berusia 7 hari pada media agar miring PDA dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml akuades steril ke dalamnya. Kemudian dilakukan pelepasan spora menggunakan jarum inokulasi secara aseptis. Tabung reaksi divortex untuk mendapatkan suspensi yang homogen. Jumlah spora dihitung menggunakan *Haemocytometer Neubauer* untuk mendapatkan 1×10^6 spora/ml yang akan digunakan sebagai inokulum (Yasmeen *et al.*, 2013).

3.2.3 Pembuatan Medium Basal – *Chloramphenicol*

Medium basal dalam 500 ml akuades dibuat dengan komposisi sebagai berikut (g/L) : ekstrak yeast 2 g; KH_2PO_4 , 1,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g. Komposisi medium disiapkan, setelah itu ditambahkan akuades. Medium dipanaskan menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen . Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf

selama 15 menit pada suhu 121°C , 1,5 atm. Penambahan 0,5 g chloramphenicol dilakukan sebelum sterilisasi.

3.2.4 Tahap *Pre-treatment* Substrat Bekatul dan Tongkol Jagung

Substrat yang digunakan untuk pada penelitian ini adalah bekatul dan tongkol jagung. Sebelum digunakan , bekatul dan tongkol jagung diberi pretreatment secara kimiawi dengan penambahan NaOH 2% dalam Erlenmeyer dengan perbandingan 1:10, dipanaskan pada *waterbath* dengan suhu 85°C selama 6 jam (Anwar *dkk.*, 2010; Reddi dan Narasimha, 2011). Lalu padatan disaring. Padatan bekatul dan tongkol jagung yang telah terpisah dibilas dengan air hingga pH larutan menjadi 7. Padatan bekatul dipanaskan dengan oven sampai kering pada suhu 65°C selama 3 hari, lalu didinginkan pada suhu kamar (Patradhiani *dkk.*, 2010; Widjaja *dkk.*, 2010; Irma dan Kuswytasari, 2012).

3.2.5 Pembuatan Larutan DNS

Larutan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dibuat dengan menimbang 1 g NaOH, dilarutkan dengan 60 ml akuades, ditambahkan 18,2 g Na-K Tartrat, 1 g asam 3,5-dinitrosalisilat (ditambahkan secara perlahan sambil diaduk hingga larut sempurna), kemudian ditambah 0,2 g fenol untuk menstabilkan warna dan 0,05 g Na₂SO₃. Lalu dipindahkan ke dalam labu ukur, kemudian diencerkan dengan akuades hingga 100 ml dan dikocok hingga homogen.

3.2.6 Produksi Kapang Pada Medium Bekatul dan Tongkol Jagung

Suspensi spora sebanyak 10⁶ sebanyak 2 ml dinokulasikan ke dalam substrat bekatul dan tongkol jagung. Pengulangan dilakukan sebanyak 3x dengan waktu inkubasi selama 14 hari , dan dilakukan pengujian dimulai pada hari ke-15 sampai 21 untuk uji aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP).

3.2.7 Ekstraksi Enzim Kasar

Ekstraksi enzim kasar dilakukan pada hasil inkubasi isolat pada medium produksi kapang dengan ditambahkan larutan pengeksrak tween 80 0,1 % pH 6 sebanyak 5:1 (Widjaja *dkk.*, 2009). Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit untuk menghasilkan filtrat enzim kasar (Charita *dkk.*, 2012). Ekstrak enzim kasar ini digunakan untuk pengukuran uji aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP).

3.2.8 Uji Aktivitas Enzim

Uji Aktivitas Enzim Endoglukanase (EG)

Aktivitas enzim endoglukanase (EG) diukur menggunakan metode DNS (Miller *et al.*, 1959). Ekstrak enzim kasar diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan 1 ml substrat CMC 1%, 1 ml 0,05M sodium buffer sitrat (pH 4,8) dan 1 ml DNS kemudian dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit sampai terjadi perubahan. Campuran kemudian didinginkan dan diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi dimasukkan pada persamaan kurva standard glukosa (Mustofa dan Kuswytasari ,2012). Dalam penelitian ini perhitungan aktivitas enzim endoglukanase (EG) dinyatakan dengan U/ml (Dybakker *et al.*, 2001). Perhitungan aktivitas enzim dilakukan pada hari ke-15 sampai 21. Rumus perhitungan aktivitas enzim endoglukanase menggunakan (Irma dan Kuswytasari, 2012).

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{\text{kadar glukosa} \times \text{fp}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

Keterangan :

Kadar glukosa : mg/ml

Fp : faktor pengenceran

BM glukosa : 180

Waktu inkubasi : menit

Uji Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase (LiP)

Aktivitas enzim LiP dianalisis berdasarkan reaksi oksidasi veratril alkohol menjadi veratril aldehid (Castillo *et al.*, 1997) pada panjang gelombang 310 nm. Komposisi bahan untuk uji aktivitas diperlukan komposisi bahan-bahan 0,1 ml 8 mM veratril alkohol, 0,2 ml 50 mM buffer asetat pH 3, 0,45 ml akuades, 0,05 ml 5 mM H₂O₂, dan 0,2 ml ekstrak enzim kasar. Semua bahan tersebut selanjutnya dimasukkan kedalam kuvet dengan ukuran 2 ml, lalu dikocok secara perlahan. Kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer (Tien and Kriek, 1984). Perhitungan aktivitas enzim menggunakan rumus (Kalra *et al.*, 2013):

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{A \times V_{\text{tot}} (\text{ml}) \times 10^9}{\epsilon \times \text{Vol enzim} (\text{ml}) \times t}$$

Keterangan :

A : Absorbansi (At-Ao)/k x b

V_{tot} : Volume total bahan (ml)

V_{enzim}: Volume Ekstrak enzim kasar

ε : Extinction koefisien veratril alkohol (9300 M⁻¹ cm⁻¹)

t : Waktu (menit)

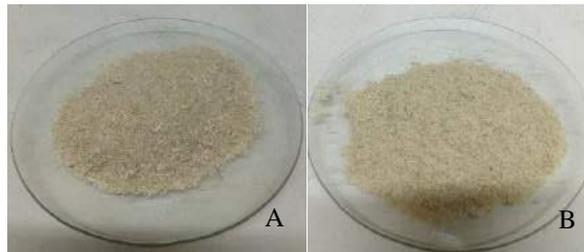
3.3. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif untuk mengetahui hasil uji aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) dari kapang *Penicillium* sp. pada waktu inkubasi hari ke-15 sampai 21.

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 *Pre-treatment* Substrat Tongkol Jagung dan Bekatul

Pre-treatment pada tongkol jagung dan bekatul dilakukan dengan tujuan untuk mempersiapkan media supaya mampu disakarifikasi oleh enzim dan difermentasi oleh *Penicillium* sp.. *Pre-treatment* pada tongkol jagung dan bekatul ditunjukkan dengan hasil media yang sudah kering dan ukuran padatan tongkol jagung dan bekatul menjadi lebih kecil melalui perlakuan fisik dan kimia (Gambar 4.1). Perlakuan fisik dengan menggunakan teknik pemotongan dan penggilingan akan menghancurkan sebagian ikatan jaringan serat kasar dengan memperluas permukaan substrat, sedangkan perlakuan kimia dilakukan dengan cara penambahan NaOH untuk memutus ikatan antara selulosa, hemiselulosa, lignin dan menghidrolisis ikatan lignoselulosa. Menurut Murni *dkk.* (2005) perlakuan penggilingan dan pemotongan dilakukan untuk pemecahan karbohidrat, mengurangi ukuran partikel, dan memutus ikatan kimia dari rantai panjang molekulnya. Sedangkan menurut Rilek *et al.*,(2017) perlakuan kimia menggunakan NaOH berfungsi sebagai *solven* yang merendam substrat dan memecah struktur lignin dan hemiselulosanya, yang mengakibatkan terjadi penambahan konsentrasi selulosa, dan didapatkan hasil yang sangat baik (97%) secara enzimatik pada proses sakarifikasi.



Gambar 4.1 Proses *pre-treatment* media pertumbuhan *Penicillium* sp. A. Tongkol Jagung B. Bekatul

Tongkol jagung dan bekatul hasil *pre-treatment* dinetralkan pHnya menggunakan aquades hingga pH 7, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven bersuhu 65°C selama 3 hari untuk mengurangi kadar airnya. Menurut Murni *dkk.* (2005) pengeringan menggunakan oven, freeze drier, dan blower dapat dilakukan pada pengolahan produk yang mengandung kadar air sehingga perlu pengurangan kadar air (dehidrasi) ,dan bahan yang mengandung antinutrisi yang mudah hilang dengan pemanasan, sehingga mampu menekan proses penguraian bahan organik.

Media pertumbuhan mikroorganismenya dari hasil pemanfaatan limbah pertanian yang mempunyai kandungan serat tinggi perlu dilakukan dengan meningkatkan nilai nutrisi melalui perlakuan dan pengolahan. Perlakuan yang dilakukan merupakan penghilangan dan pemutusan ikatan komponen serat dengan perlakuan secara fisik dan kimia, sehingga media bekatul dan tongkol jagung dapat dijadikan media pertumbuhan *Penicillium* sp. sebab sudah melalui tahap *pre-treatment* secara fisik dan kimia.

4.2 Pertumbuhan *Penicillium* sp. Pada Media Bekatul dan Tongkol Jagung

Pertumbuhan *Penicillium* sp. pada media bekatul dan tongkol jagung dilakukan untuk produksi enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) . Tahap produksi kapang *Penicillium* sp. dilakukan dengan metode fermentasi padat dengan waktu inkubasi selama 21 hari yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi dengan aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan lignin peroksidase (LiP) dalam media bekatul dan tongkol jagung. Menurut Candra *dkk.* (2011) fermentasi padat digunakan untuk produksi enzim dikarenakan perlakuannya yang sederhana dan dapat digunakan untuk masa inkubasi yang lama. Pertumbuhan *Penicillium* sp.hari ke-14 pada media bekatul dan tongkol jagung (Gambar 4.2) terlihat adanya miselium berwarna hijau muda bercampur putih dan permukaan yang halus yang tumbuh dipermukaan substrat pada kedua media yang menunjukkan

adanya pertumbuhan *Penicillium* sp (Gambar 4.2). Menurut Nwodo *et al.* (2008) *Penicillium* sp. membentuk koloni berwarna hijau lumut muda dengan warna putih dan memiliki penampakan koloni yang kompak dan halus seperti beludru.



Gambar 4.2 Kultur produksi *Penicillium* sp. umur 14 hari A. tongkol jagung B. bekatul

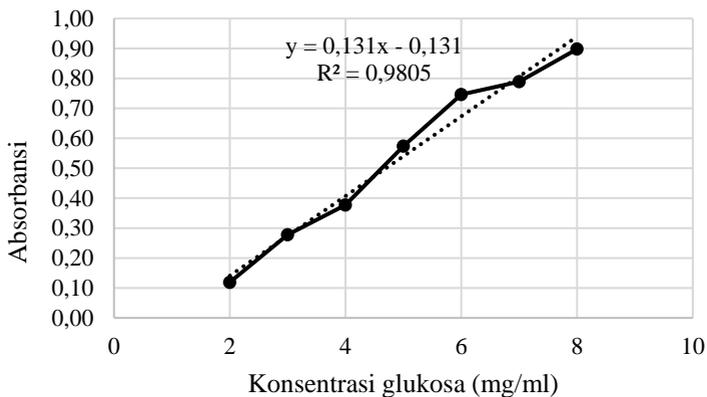
Kandungan lignin dan selulosa yang tinggi pada substrat tongkol jagung dan bekatul mampu dikonversikan menjadi senyawa biologi sehingga berpotensi untuk menjadi media pertumbuhan *Penicillium* sp.. Menurut Widiwurjani *dkk*, (2010) nutrisi yang diperlukan dalam pertumbuhan miselium dan perkembangan mikroorganisme jamur terdiri dari lignin, selulosa, hemiselulosa dan protein yang setelah terdekomposisi akan menghasilkan nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur.

Waktu inkubasi pertumbuhan *Penicillium* sp. pada media bekatul dan tongkol jagung dilakukan selama 14 hari karena waktu optimum *Penicillium* sp. dalam menghasilkan enzim selulase dan lignin yaitu pada hari ke-14. Menurut Irma dan Kuswytasari, (2012) waktu optimum kultur tunggal *Penicillium* sp. menghasilkan enzim selulase dan lignin pada media jerami padi, tongkol jagung, dan bagase tebu yaitu pada waktu inkubasi hari ke-14. Berdasarkan hasil pertumbuhan miselium *Penicillium* sp. pada media bekatul dan tongkol jagung, waktu inkubasi untuk

mendapatkan aktivitas enzim secara optimum adalah 14 hari setelah itu dilakukan uji aktivitas enzim.

4.3 Aktivitas Enzim Endoglukanase (EG)

Uji aktivitas enzim endoglukanase (EG) menggunakan kurva standar glukosa untuk menghitung konsentrasi gula pereduksi yang ada pada larutan sampel. Dengan menggunakan kurva standar glukosa, maka didapatkan konsentrasi gula pereduksi yang digunakan untuk menghitung aktivitas enzim endoglukanase. Persamaan kurva standar yang diperoleh yakni $y = 0,131x - 0,131$ dimana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah konsentrasi gula pereduksi hasil hidrolisis enzim (Gambar 4.3).



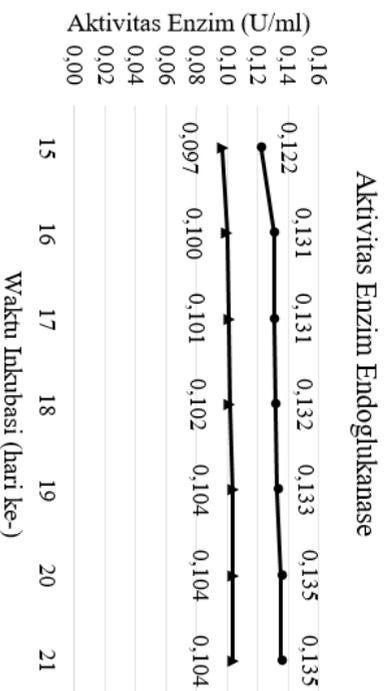
Gambar 4.3 Kurva standar glukosa

Menurut Isrami *et al.*, (2014) glukosa yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp. memiliki gugus aldehyd yang akan mengalami oksidasi dan 3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS) akan mengalami reduksi menjadi 3-amino-5nitrosalicylic acid yang memiliki warna kemerahan. Warna kemerahan inilah yang akan ditangkap oleh spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm.

Nilai aktivitas enzim endoglukanase (EG) meningkat selama pengamatan. Secara umum nilai aktivitas enzim endoglukanase (EG) pada media bekatul dan tongkol jagung yang dihasilkan cenderung meningkat namun tidak signifikan seiring lamanya inkubasi (Gambar 4.4).

Berdasarkan Gambar 4.4 aktivitas enzim endoglukanase tertinggi adalah aktivitas *Penicillium* sp. yang ditumbuhkan pada media bekatul yaitu 0,135 U/ml. Aktivitas tertinggi terjadi pada hari ke-21 masa inkubasi. Sedangkan pada media tongkol jagung aktivitas endoglukanase tertinggi terjadi pada masa inkubasi hari ke-19 yakni sebesar 0,104 U/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Sulistyarsi *dkk.*, (2016) yang menyatakan bahwa bertambahnya waktu inkubasi maka aktivitas enzim semakin tinggi, hal ini disebabkan pada waktu tersebut pertumbuhan mikroorganisme telah mencapai maksimal, dan semakin lama waktu fermentasi maka aktivitas enzim cenderung meningkat karena waktu fermentasi merupakan waktu yang dibutuhkan enzim untuk memecah protein menjadi protein yang larut, dan dalam hal ini enzim merupakan protein yang sensitif terhadap lingkungan sehingga faktor substrat yang digunakan juga mempengaruhi nilai aktivitas enzim.

Pada penelitian ini aktivitas enzim endoglukanase *Penicillium* sp. pada media bekatul lebih tinggi yaitu sebesar 0,135 U/ml diikuti dengan tongkol jagung sebesar 0,104 U/ml (Gambar 4.4) dikarenakan kandungan selulosa pada media bekatul lebih tinggi 32,4% daripada tongkol jagung sehingga pemecahan selulosa pada bekatul oleh enzim endoglukanase (EG) yang dihasilkan *Penicillium* sp. lebih tinggi.



Media	Waktu Inkubasi (hari ke-)										
	15	16	17	18	19	20	21				
Bekatul	0,122 ± 0,001	0,130 ± 0,002	0,131 ± 0,002	0,132 ± 0,002	0,132 ± 0,001	0,134 ± 0,000	0,135 ± 0,000				
Tongkol jagung	0,096 ± 0,006	0,099 ± 0,006	0,101 ± 0,006	0,102 ± 0,006	0,103 ± 0,005	0,103 ± 0,005	0,104 ± 0,001				

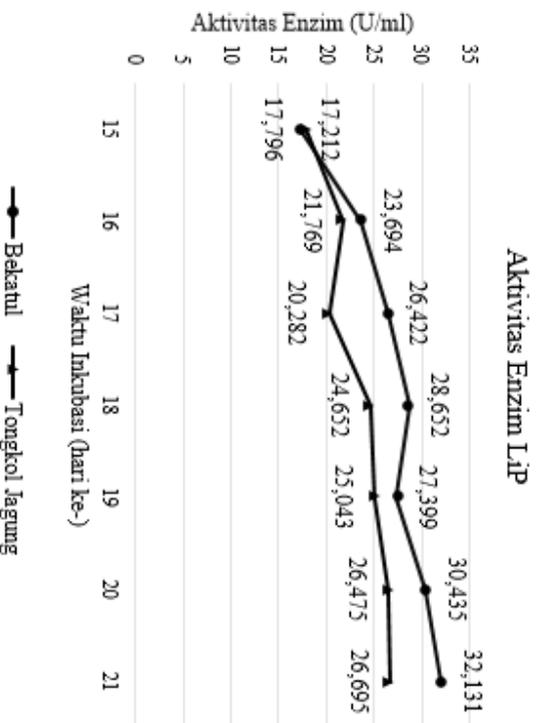
Gambar 4.4 Grafik aktivitas EG *Penicillium* sp. pada media bekatul dan tongkol jagung

Hal ini berkaitan dengan penelitian Irma *dkk.*, (2012) yang menunjukkan bahwa substrat mempengaruhi aktivitas enzim, kandungan selulosa pada substrat yang lebih tinggi menjadikan aktivitas enzim selulase yang dihasilkan tinggi dikarenakan terjadi pemecahan selulosa yang dimiliki substrat oleh enzim selulase, ditunjukkan dengan penelitiannya menggunakan *Penicillium* sp. yang ditumbuhkan pada media bagase tebu, jerami padi, dan tongkol jagung, yang menghasilkan aktivitas enzim selulase tertinggi pada media tongkol jagung yang memiliki kandungan selulosa tertinggi sebesar 0,595 U/ml.

4.4 Aktivitas enzim Lignin Peroksidase (LiP)

Uji aktivitas lignin peroksidase di dasarkan pada kemampuan lignin peroksidase (LiP) dalam mengoksidasi veratril alkohol menjadi veratril aldehid dengan adanya H_2O_2 (Delila, 2016). Veratril aldehid yang terbentuk yang akan ditangkap oleh spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 310 nm. Nilai aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) meningkat selama pengamatan. Secara umum nilai aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) pada media bekatul dan tongkol jagung yang dihasilkan cenderung meningkat seiring lamanya inkubasi (Gambar 4.5).

Berdasarkan Gambar 4.5 aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) tertinggi adalah aktivitas *Penicillium* sp. yang dikemas pada media bekatul yaitu 32,131 U/ml. Aktivitas tertinggi terjadi pada hari ke-21 masa inkubasi. Sedangkan pada media tongkol jagung aktivitas endoglukanase tertinggi terjadi pada masa inkubasi hari ke-21 yakni sebesar 26,695 U/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Barahani (2016) yang menyatakan bahwa waktu inkubasi terbaik media tongkol jagung yaitu maksimal 4 minggu dengan hasil aktivitas enzim LiP sebesar 555,56 U/ml. media dengan inokulum, sehingga ekstrak enzim yang dihasilkan sedikit dan nilai aktivitas menurun.



Media	Waktu Inkubasi (hari ke-)						
	15	16	17	18	19	20	21
Bekatul	17,212 ± 4,552	23,687 ± 6,852	26,422 ± 5,378	27,291 ± 4,994	27,398 ± 4,998	30,434 ± 5,395	32,131 ± 3,838
Tongkol jagung	17,796 ± 8,792	21,769 ± 5,039	20,282 ± 4,041	24,651 ± 1,950	25,043 ± 0,769	26,473 ± 1,676	26,695 ± 0,947

Gambar 4.5 Grafik aktivitas Lip *Penicillium* sp. pada media bekatul dan tongkol jagung

Sedangkan pada nilai aktivitas media tongkol jagung hari ke-17 mengalami penurunan yaitu sebesar 20,282 U/ml, hal ini disebabkan saat masa panen untuk uji aktivitas bagian media yang diambil hanya mengandung sedikit isolat dikarenakan tidak meratanya saat pencampuran. Hal ini berkaitan dengan penelitian yang dilakukan Sulistyarsi *dkk*, (2016) yang menunjukkan bahwa kadar protein yang dihasilkan menurun dikarenakan faktor substrat yang digunakan tidak mengalami pengayakan atau pemerataan dengan baik sehingga mikroorganisme sulit untuk melakukan hidrolisis.

Pada penelitian ini aktivitas enzim LiP *Penicillium* sp. pada media bekatul lebih tinggi yaitu sebesar 32,131 U/ml diikuti dengan tongkol jagung sebesar 26,695 U/ml (Tabel 4.3), hal ini berkaitan dengan penelitian Wulandari, *dkk* (2014) yang menunjukkan bahwa *Penicillium* sp. mampu menghasilkan aktivitas enzim ligninase tertinggi yaitu sebesar 1140 U/ml pada media bekatul.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan LiP tertinggi pada media bekatul adalah sebesar 0,135 U/ml dan 32,131 U/ml sedangkan pada media tongkol jagung aktivitas enzim endoglukanase (EG) sebesar 0,104 U/ml dan aktivitas enzim LiP 26,695 U/ml.

5.2 Saran

Potensi *Penicillium* sp. dalam menghasilkan aktivitas enzim endoglukanase (EG) dan LiP perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambah variasi enzim dan waktu inkubasi pada media bekatul dan tongkol jagung.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Akinwale O. A, Thomas J.H, Marion C, Edson L.M, Ralph S, Johannes H.K, and Johann F.G. 2010. Non-isothermal Kinetic Analys of The Devolatilization of Corn Cobs and Sugar Cane Baggase in an Inert Atmosphere. **Thermochemica Acta**. 517 (81-89).

Bamualim, A., Kuswandi, A.Azahari, dan B. Haryanto. 2008. **Sistem Usaha Tani Tanaman Ternak**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor.

Charitha, D., and Sunil, K. 2012. Production, Optimization and Partial purification of Cellulase by *Aspergillus niger* fermented with paper and timber sawmill industrial wastes. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**. 2 (1):120-128.

Chen, W.Y., Y.J. Tu, and H.K. Sheen. 2011. Disruption of sugarcane bagasse lignocellulosic structure by means of dilute sulfuric acid pretreatment with microwave-assisted heating. **Applied Energy**. Vol. 82 : 2726–2734.

Das, Arpan and U. Ghosh. 2009. Solid State Fermentation of Waste Cabbage by *Penicillium notatum* NCIM No 923 for Production and Characterization of Cellulase. **Journal of Science and Industrial Research**. Vol 68. 714-718.

Delila dan Liling. 2016. **Isolasi dan Seleksi Kapang Strain Lokal Penghasil Lignin Peroksidase dari Kulit Kakao Lapuk Perkebunan Kakao Sepawon Kabupaten Kediri**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas MIPA , Universitas Muhammadiyah.

Desouky, E. M. 2007. Production Of Cellulase by *Penicillium hordei* and Pectinase by *Aspergillus ustus* Under Solid State

Fermentation Condition. N. **Egypt Journal Microbiol.** Vol 17, 169-178.

Hermiati, Euis, Djumali Mangunwidjaja, Titi Candra Sunarti, Ono Suparno, dan Bambang Prasetya. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol. **Jurnal Litbang Pertanian.** 29 (4) : 126.

Huang C.T. and W.F. Lee. 2008. Immobilization of Trypsin by Thermal-Responsive Hydrogel for The Affinity Separation of Trypsin Inhibitor. **Desalination** 234: 195-203.

Idiawati, Nora , E. M Harfinda, and L. Arianie. 2014. Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu. **Jurnal Natur Indonesia.** 16(1) : 1–9.

Irma, A. dan Kuswytasari, N.D. 2012. Produksi Enzim Selulase Oleh *Pennicilium* sp. Pada Suhu, pH, dan Limbah Pertanian yang Berbeda. **Jurnal SAINS POMITS.** Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Isrami, F. dan A. L.N. Amini. 2014. Aktivitas Selulase dan Xilanase dari Komplek Enzim Lignoselulolitik Termostabil Hasil Penguraian Batang Pisang. **Jurnal Kimia Sains.** 17 (2): 17-22.

I-Son Ng, Chen-Weili, Shuang-Pichan, Jiun-Lychir, Potingchen, Chii-Gongtong, Su-Mayyu, and Tuan-Hua David Ho. 2010. High Level Production Of A Thermoacidophilic B- Glucosidase From *Penicillium Citrinum* YS40-5 by Solid – State Fermentation With Rice Bran . **Bioresource Technology.** 101: 1310–1317.

Juhasz, T. K. Kozma, Z. Szengyel, and K. Reczey. 2003. Production of β -Glucosidase in Mixed Culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30. **Food Technol. Biotechnol.** 41 (1): 49–53.

Karla, K., R. Chauhan, M. Shavez, and S. Sachdeva. 2013. Isolation of Laccase Producing *Trichoderma* Spp. And Effect of PH and Temperature On Its Activity. **International Journal of Chemtech Research**. 5 (5) : 2229-2235.

Kang, S.W., Park, Y.S., Lee, J.S., Hong, S.I., Gadgil, N.J., Daginawala, T., and Chakakrabarti, S.W. 2004. Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger*_KK2 from lignocellulosic biomass. **Bioresour. Technol.** 91: 153-156.

Karthikeyan, N, M. Sakthivel and P. Palani. 2010. Screening, Identifying of *Penicillium* K-P Strain and Its Cellulase Producing Conditions. **Journal of Ecobiotechnology**.10: 4- 7.

Kasmiran, Ariani., dan Tarmizi. 2012. Aktivitas Enzim Selulase Dari Kapang Selulolitik Pada Substrat Ampas Kelapa. **Lentera** Vol.12,No,1.

Kathiresan K. and S. Manivannan. 2006. Cellulase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated from Coastal Mangrove Rhizosphere Soil. **Research Journal of Microbiology**. 1 (5): 438-442.

Lisna, A.P., Harlis., Retni, S.B. 2018. **Uji Kemampuan Jamur Selulolitik dari Ekstrak Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) pada Pengomposan Limbah Jerami Padi Sebagai Bahan Pengayaan Parktikum Mikrobiologi Terapan**. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jambi.

Liebman, Joel.F and A. Greenberg. **Mechanistic Principles of Enzyme Activity**. VCH Publishers, Vol.9.

Liu, Ian and Jichu Yang. 2007. Cellulase Production By *Trichoderma koningii* AS3.4262 In Solid - State Fermentation

Using Lignocellulosic Waste From The Vinegar Industry. **Food Technol. Biotechnol.** 45 (4) 420– 425.

Long C., Y. Ou, P. Guo, Y. Li, J. Cui, M. Long dan Z. Hu. 2009. Cellulase Production By Solid State Fermentation Using Bagasse With *Penicillium decumbens* L-06. **Annals of Microbiology.**59; 517-523.

Lynd, L.R., P.J.Weimer, W.H. van Zyl and I.S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Mol.Bio.Review.** 66: 506-577.

Mark J., and L. George. 1980. **Metaphor We Live.** Chicago: The University of Chocago Press.

Murni, R., Suparjo, Akmal, B.L. Ginting. 2008. **Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah Untuk Pakan.** Laboratorium Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi.

Mussato, S.I., and J.A. Teixeira. 2010. Lignocellulose as Raw Material in Fermentation Processes. **Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology:** 897-907.

Mustofa, D.H, dan Kuswytasari, N.D. 2012. Studi Aktivitas Enzim Selulase dari Varian Isolat Kapang Wonorejo Surabaya dalam Media Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*). **Jurnal SAINS POMITS.** Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Nadiem, Anwar., Arief W., Sugeng W. 2010. Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma Reesei* Dan *Aspergillus Niger*.

Jurnal SAINS POMITS. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Nwodo Chinedu S., C. Obinna Nwinyi dan V.I. Okochi. 2008. Properties of Endoglucanase of *Penicillium chrysogenum* PCL501. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences.** 2 (3): 738-746.

Oliveira, L.A., A.L.F. Porto, and E.B. Tambourgi. 2006. Production of Xylanase and Protease by *Penicillium Janthinellium* CRC 87M-115 from Different Agricultural Wastes. **Biosources Technology** 97: 862-867.

Pandey, A.; Soccol, C. R.; Nigam, P.; Soccol, V. T.; Vandenberghe, L. P. S.; Mohan, R., 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technol.**, 74 (1): 81-87.

Patradhiani, R., Utami, I.S., dan Widjaja, A. 2010. Studi Bahan Baku Berlignoselulosa Untuk Produksi Gula Xilosa Murah Diikuti Proses Fermentasi Menghasilkan Etanol. **Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses.** Universitas Diponegoro: Semarang.

Pericin, D., S. M. Darev - Popovic , L. Radulovi - Popović, and Marija Š. 2008. Valuate Pumpkin Oil Cake As Substrate For The Cellulase Production by *Penicillium roquefort* in Solid State Fermentation. Roumanian. **Biotech.** Vol. 13.

Prasetyawati, Dwi Putri. 2015. **Pemanfaatan Kulit Jagung dan Tongkol Jagung (Zea mays) sebagai Bahan Dasar Pembuat Kertas Seni dengan Penambahan Natrium Hidroksida dan Pewarna Alami.** Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Ramli, M. M., dan Tafsin A.D. Hasjmy. 2009. Pertumbuhan *Optimum Penicillium Spp.* dan *Cunninghamella Spp* Yang Diisolasi Dari Pakan Dan Efek Toksiknya Pada Mencit (*Mus musculus*). **Media Peternakan**, April 2009, Hlm. 40-46.
- Richana, N. P., Lestari, N. C., and Widowati, S. 2000. Karakterisasi Bahan Berpati (Tapioka, Garut Dan Sagu) dan Pemanfaatannya Menjadi Glukosa Cair. **Pros. Sem.Nas Ind. Pangan**, Surabaya, 10-11 Oktober, 396-406.
- Rilek, N.M, N.Hidaya., Y.Sugiarto. 2017. Hidrolisis Lignoselulolitik Hasil Pre-Treatment Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis Jacq*) menggunakan H_2SO_4 pada Produksi Bioetanol. **Jurnal Teknologi dan Manajemen Argoindustri**. Vol 6 No 2:76-82.
- Rosidah, Umi. 2016. **Tepung Ampas Tahu sebagai Media Pertumbuhan Bakteri *Serratia marcescens***. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Rowe, R.C, *et al.* 2009 . **Handbook Of Pharmaceutical Excipients, 5th Ed.** The Pharmaceutical Press, London.
- Samsuri M., B. Prasetya, dan E. Hermiati. 2004. Biodegradasi Bagasse oleh Jamur Pelapuk Putih (White Rot Fungi) dan Potensi Pemanfaatannya untuk Etanol. **Kimia Dalam Industri dan Lingkungan. Prosiding Nasional Indonesia XIII**: Yogyakarta. Hal 405- 410.
- Sulisyarsi, A., Pujiati, M.W.Ardhi. 2016. Pengaruh Kosentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Crude Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger*. **Procedding Biology Education Conference**. Vol.13(1):781-786.

Suprpto, H.S. dan Rasyid, M.S. 2002. *Bertanam Jagung*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Sánchez, O.J., and Cardona, C.A. 2008. Trends In Biotechnological Production Of Fuel Ethanol From Different Feedstocks. **Bioresour. Technol.** 99(13): 5270- 5295.

Shankar, S.K., and V.H. Mulimani. 2007. α -Galactosidase Production by *Aspergillus oryzae* in Solid-State Fermentation. **Biosources Technology** 98: 958-961.

Sindhu Raveendran, Nair Gopalan Suprabha and Shankar Shashidhar. 2011. Media Engineering For The Production Of Cellulase From *Penicillium Species* (SBSS 30) Under Solid State Fermentation. Research Article, **Biotechnol. Bioinf. Bioeng.** 343-349.

Sun, Y., and Cheng, J. 2002. Hydrolysis Of Lignocellulosic Materials For Ethanol Production: a Review. **Bioresour. Technol.** 83(1): 1-11.

Widiastuti, R., E. Kusumaningtyas, dan R. Maryam. 2005. Viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus* dan Campurannya dalam Tepung Beras. **Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**.

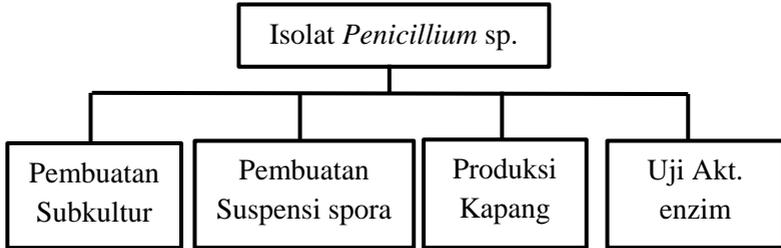
Widjaja, A., Hendy, F., dan Yusra, F. 2010. **Pre-treatment Jerami Padi untuk Menghasilkan Gula Xilosa dengan Menggunakan Crude Enzim Xilanase**. Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa. B45.

Widiwurjani. 2010. **Menggali Potensi Seresah Sebagai Media Tumbuh Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)**. Surabaya: Unesa University Press.

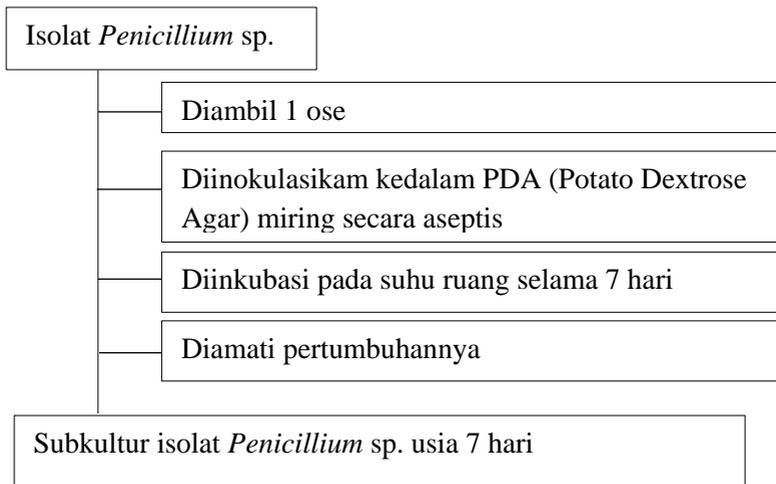
Wulandari, A.P., Ema W., dan Ida I. 2014. Biodegradasi Jerami Padi Oleh *Penicillium* sp. Dengan Variasi Ukuran Partikel Jerami Padi. **Jurnal Selulosa**. 14: 107-113.

LAMPIRAN

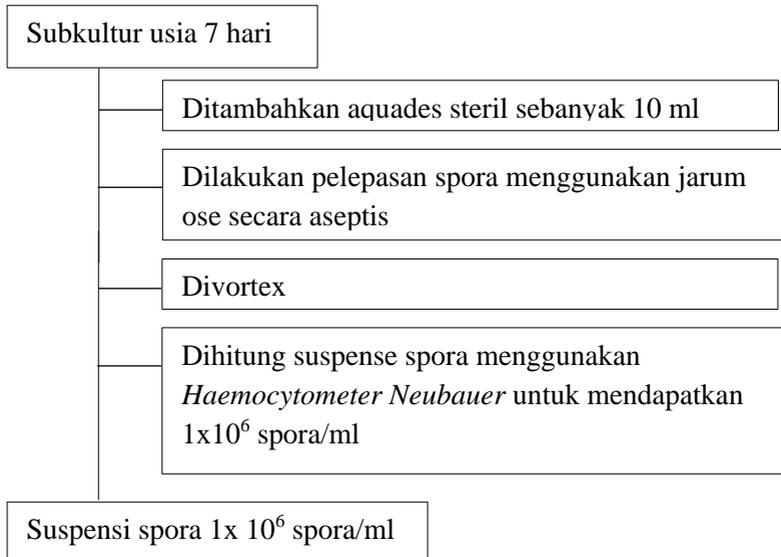
Lampiran 1. Skema Kerja



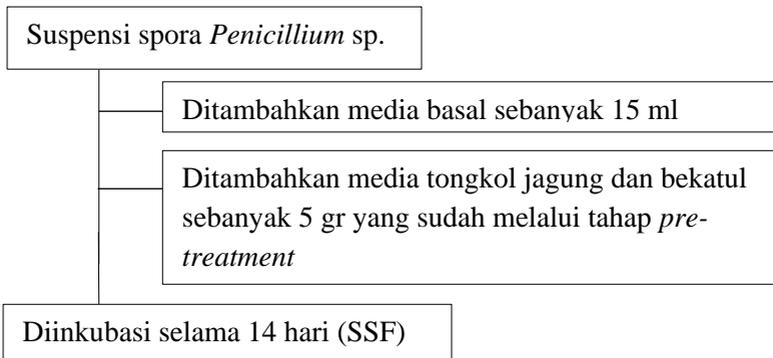
1. Pembuatan Subkultur



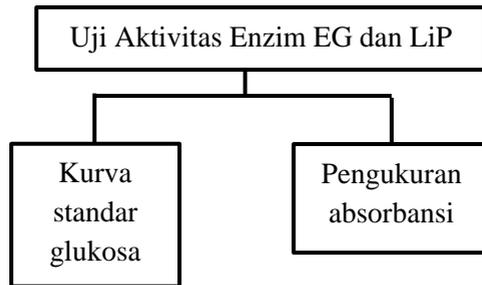
2. Pembuatan Suspensi Spora



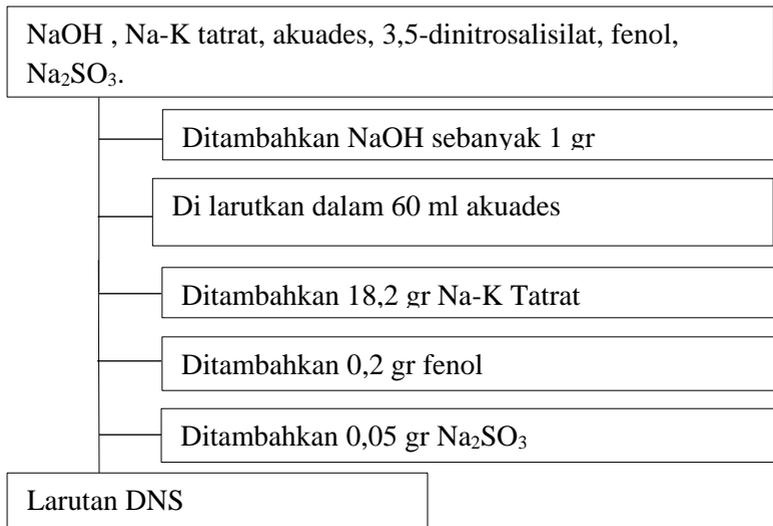
3. Produksi Kapang



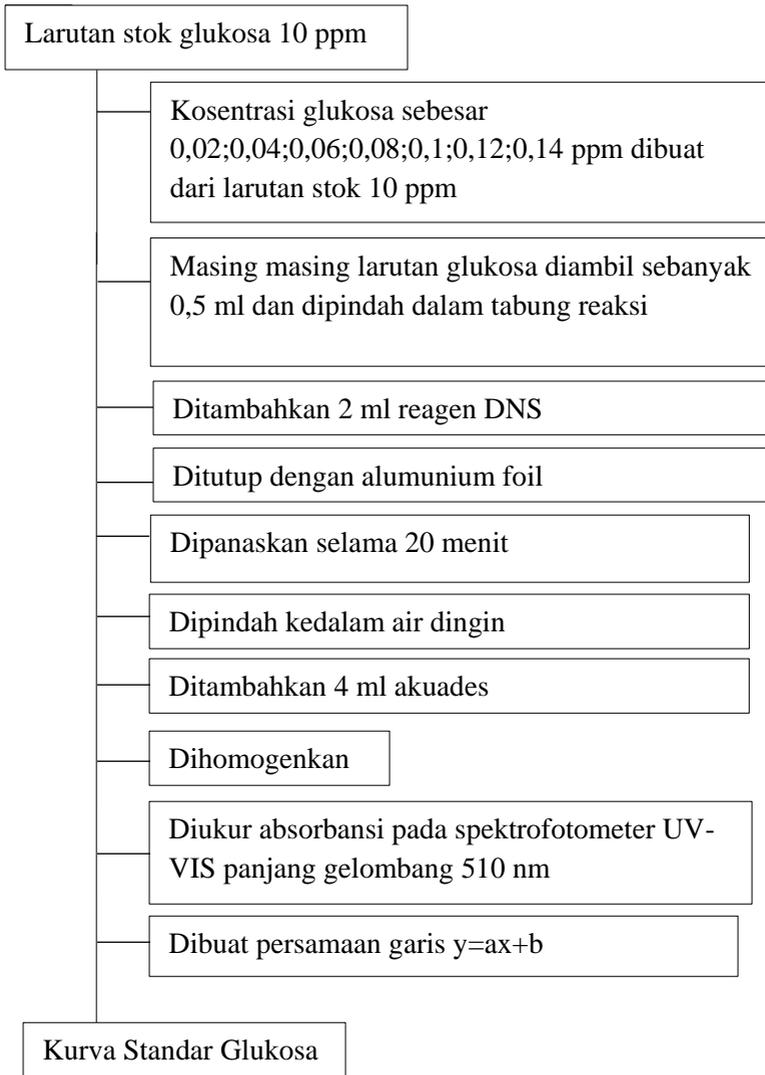
4. Uji Aktivitas enzim



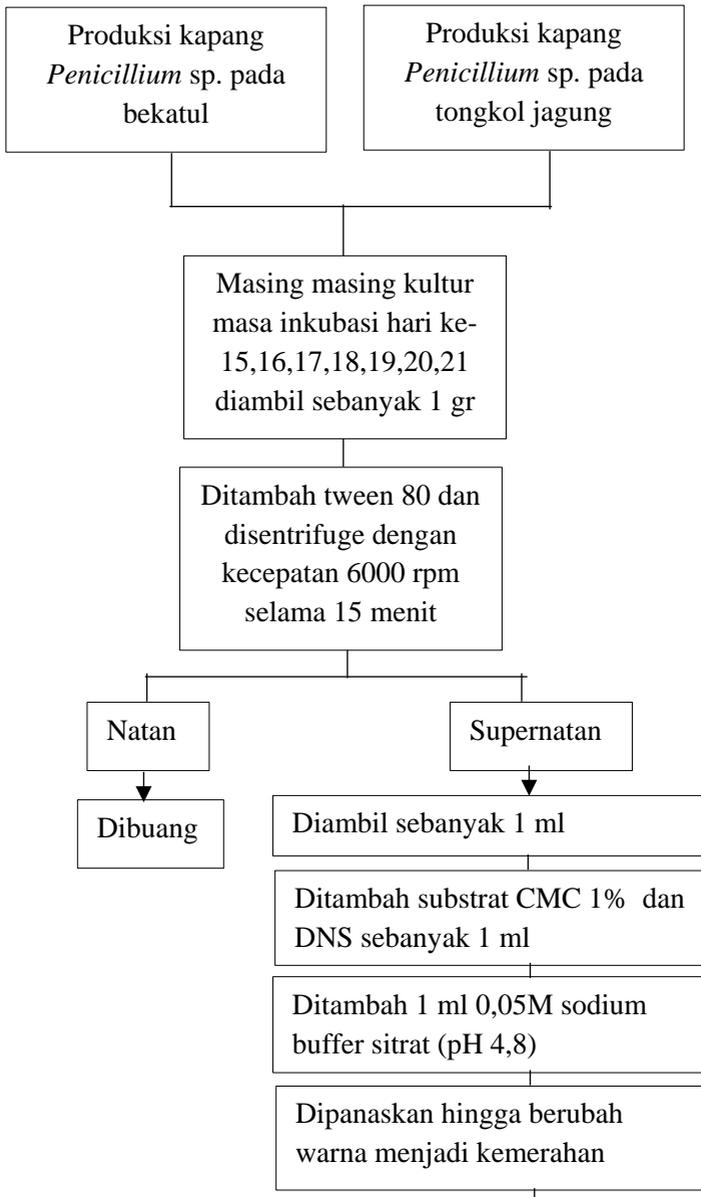
Pembuatan larutan DNS

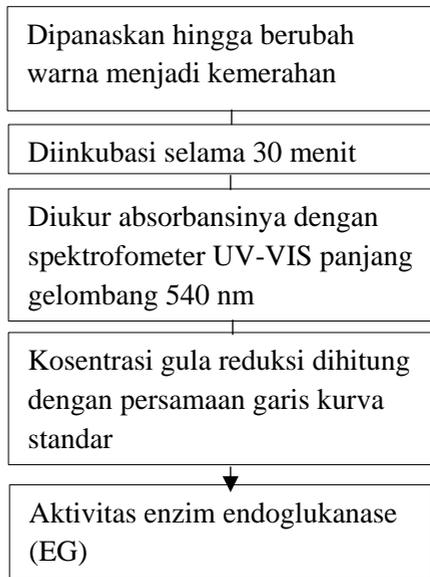


a. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

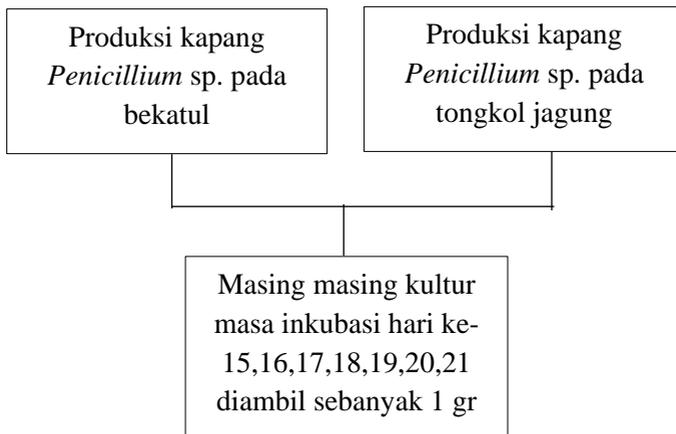


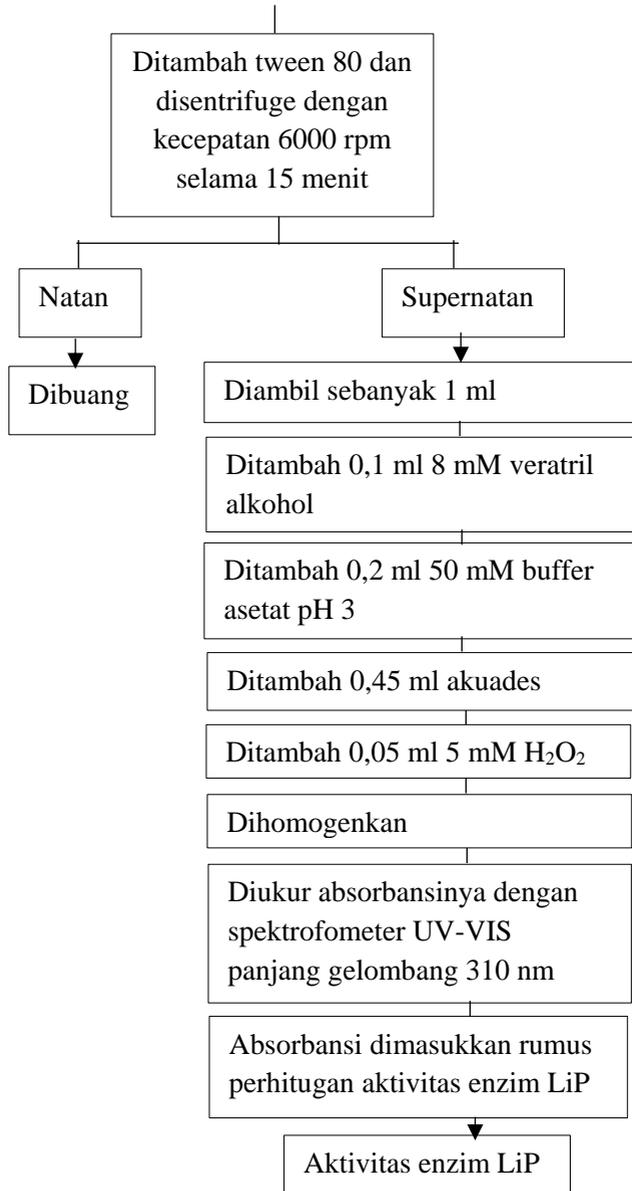
b. Uji aktivitas enzim endoglukanase (EG)





c. Uji aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP)





Lampiran 2. Tabel Kurva standar glukosa

Konsentrasi (mg/ml)	Abs
0,02	0,119
0,04	0,278
0,06	0,377
0,08	0,574
0,10	0,746
0,12	0,789
0,14	0,898

Lampiran 3. Hasil Aktivitas Enzim

Enzim endoglukanse (EG)

Media bekatul

Inkubasi hari ke-	Ulangan	Absorbansi	mg/ml	U/ml
15	1	0,732	6,587	0,121
	2	0,744	6,679	0,123
	3	0,733	6,595	0,122
16	1	0,806	7,152	0,132
	2	0,804	7,137	0,132
	3	0,778	6,938	0,128
17	1	0,803	7,129	0,132
	2	0,779	6,946	0,128
	3	0,816	7,229	0,133
18	1	0,819	7,251	0,134
	2	0,782	6,969	0,129
	3	0,817	7,236	0,134
19	1	0,800	7,106	0,131

	2	0,820	7,259	0,134
	3	0,815	7,221	0,133
20	1	0,822	7,274	0,134
	2	0,826	7,305	0,135
	3	0,825	7,297	0,135
21	1	0,824	7,290	0,135
	2	0,833	7,358	0,136
	3	0,831	7,343	0,135

Media Tongkol Jagung

Inkubasi hari ke-	Ulangan	Absorbansi	mg/ml	U/ml
15	1	0,594	5,534	0,102
	2	0,572	5,366	0,099
	3	0,501	4,824	0,809
16	1	0,602	5,595	0,103
	2	0,523	4,992	0,092
	3	0,611	5,664	0,104
17	1	0,531	5,053	0,093
	2	0,615	5,694	0,105
	3	0,617	5,709	0,105
18	1	0,621	5,740	0,106
	2	0,539	5,114	0,094
	3	0,619	5,725	0,106
19	1	0,557	5,251	0,097
	2	0,631	5,816	0,107
	3	0,625	5,770	0,106
20	1	0,626	5,778	0,107

	2	0,599	5,267	0,097
	3	0,630	5,809	0,107
21	1	0,613	5,679	0,105
	2	0,617	5,709	0,105
	3	0,603	5,603	0,103

Enzim Lignin Peroksidase (LiP)

Media Bekatul

Inkubasi hari ke-	Ulangan	Absorbansi (At-A0)	U/ml
15	1	0,9	15,322
	2	1,817	13,909
	3	1,316	22,405
16	1	1,33	22,643
	2	1,023	17,416
	3	1,821	31,002
17	1	1,423	24,226
	2	1,912	32,551
	3	1,321	22,49
18	1	1,556	26,451
	2	1,336	22,745
	3	1,917	32,637
19	1	1,925	32,773
	2	1,346	22,915
	3	1,557	26,508
20	1	2,011	34,237
	2	1,927	32,807

	3	1,425	24,26
21	1	2,017	34,339
	2	1,627	27,699
	3	2,018	34,356

Media tongkol jagung

Inkubasi hari ke-	Ulangan	Absorbansi (At-A0)	U/ml
15	1	0,449	7,644
	2	1,334	22,881
	3	1,343	22,864
16	1	1,442	24,55
	2	1,451	24,805
	3	0,937	15,952
17	1	1,117	19,017
	2	1,455	17,025
	3	1,457	24,805
18	1	1,550	26,388
	2	1,324	22,541
	3	1,470	25,026
19	1	1,421	24,192
	2	1,508	25,673
	3	1,484	25,265
20	1	1,666	28,636
	2	1,521	25,895
	3	1,487	25,163
21	1	1,520	25,878
	2	1,624	27,733
	3	1,555	26,474

Lampiran 3. Foto Hasil Pengamatan



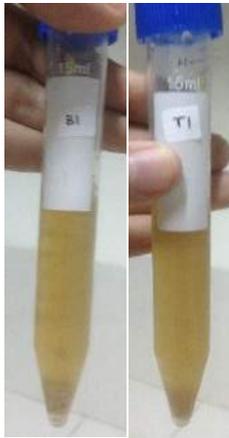
Subkultur Isolat *Penicillium* sp. usia 7 hari



Media bekatul (kiri) dan tongkol jagung (kanan) setelah *pre-treatment*



Kultur produksi kapang *Penicillium* sp. usia 15 hari pada media bekatul (kanan) dan tongkol jagung (kiri)



Hasil ekstraksi enzim kasar pada media bekatul (kiri) tongkol jagung (kanan)



Uji enzim lignin peroksidase (LiP) (kiri) dan endoglukanase (EG) (kanan)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Lamongan, 18 September 1994. Memulai pendidikan di SDN Made 04 Lamongan. Setelah lulus, ia memulai jenjang menengah pertama di SMPN 1 Lamongan. Setelah lulus SMP ia memulai jenjang menengah keatas di SMAN 2 Lamongan dan mengambil jurusan Ilmu Pengetahuan Alam. Setelah lulus SMA pada tahun 2012 penulis melanjutkan kuliah di Departemen Biologi Fakultas Ilmu Alam (FIA) Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Pada saat masa perkuliahan penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan jurusan. Selain itu penulis juga menjadi asisten di beberapa mata praktikum seperti mikrobiologi lingkungan, dan genetika. Penulis juga melakukan kerja praktek di bidang mikrobiologi yaitu tentang produksi tanaman bawang merah di PETROKIMIA Gresik. Karena memiliki ketertarikan di bidang mikrobiologi penulis mengambil tugas akhir pada bidang Mikrobiologi dan Bioteknologi dengan riset bekatul dan tongkol jagung sebagai medium pertumbuhan kapang. Penulis sangat berharap bahwa laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua orang dan dapat menjadi referensi untuk mahasiswa yang lainnya.