

## KINETIKA FERMENTASI SELULOSA MURNI OLEH *Trichoderma reesei* QM 9414 MENJADI GLUKOSA DAN PENERAPANNYA PADA JERAMI PADI BEBAS LIGNIN

[Kinetics of Pure Cellulose Fermentation by *Trichoderma Reesei* QM 9414 to Glucose and Its Application of on Lignin Free Rice Straw]

M. Iyan Sofyan <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Staf Pengajar Teknologi Pangan, Fakultas Teknik Universitas Pasundan, Bandung

Diterima 5 September 2004 / Disetujui 7 Februari 2005

### ABSTRACT

The objectives of this research were: 1) to determine aeration rate and substrate concentration of pure cellulose to produce maximum glucose by *Trichoderma reesei* QM 9414 at 30 °C, and agitation 150 rpm; 2) to study the kinetics of pure cellulose fermentation by *Trichoderma reesei* QM 9414 to glucose and its implication upon fermentation of the lignin free rice straw. The experiment was arranged in factorial randomized complete design in three times replication. Treatments consisted of three levels of aeration (1,00 vvm; 1,5 vvm; 2,0 vvm) and three levels of substrate concentration (0,75 ; 1,00 ; 1,25 % w/v). The results showed that at the exponential phase the average specific growth of *Trichoderma reesei* QM 9414 was 0,05374 hour<sup>-1</sup>, the maximum glucose product concentration of pure cellulose was 0.1644 gL<sup>-1</sup>, and the oxygen transfer was 0,0328 mg L<sup>-1</sup> hour<sup>-1</sup>. According to t-test, the kinetics of pure cellulose fermentation model just the same as the lignin free rice straw fermentation.

The enzymes produced by *Trichoderma reesei* QM 9414 in pure cellulose fermentation media followed the Michaelis-Menten model. The enzyme kinetic parameters were the maximum growth rate was 37x10<sup>-3</sup> hour<sup>-1</sup> and Michaelis-Menten constant was ½ maximum  $\mu = 17,5 \times 10^{-3}$  hour<sup>-1</sup>. The volumetric oxygen transfer ( $K_L a$ ) using rice straw was 0,0337 mg.hour<sup>-1</sup>. The value of  $K_L a$  could be used for conversion from bioreactor at laboratory scale to commercial scale design.

**Key words :** Kinetics Fermentation, *Trichoderma reesei*, cellulose, lignin, rice

### PENDAHULUAN

Keunggulan komparatif bidang pangan di Indonesia cukup baik, mengingat sumber daya manusia dan sumber daya alam termasuk lahan, cukup tersedia. Akan tetapi komponen-komponen keunggulan komparatif tersebut belum sepenuhnya dikembangkan dan dipadukan menjadi keunggulan kompetitif agar dapat menghasilkan komoditi yang memadai baik secara kualitas maupun kuantitas. Kenyataan yang ada lebih menunjukkan bahwa sektor pangan di antaranya belum mampu memenuhi kebutuhan glukosa dalam negeri. Selulosa merupakan biomassa yang paling banyak di muka bumi, meliputi lebih kurang 40% atau sekitar 4x10<sup>10</sup> ton selulosa disintesis tiap tahun oleh tumbuhan melalui fotosintesis [Coughlan dan Russel, 1985]. Selulosa total yang terdapat dalam jerami padi 60,25%, serbuk gergaji 63,62%, dan tandan kosong kelapa sawit sebesar 62,98% [Sujono et al., 1987].

Ada beberapa alternatif yang dapat dilakukan untuk pemenuhan kebutuhan glukosa, di antaranya dengan lebih mendayagunakan limbah lignoselulosik, berupa limbah-limbah pertanian sisa panen, seperti jerami padi, serbuk gergaji, bagase tebu, dan bonggol jagung yang tersedia dalam jumlah yang cukup banyak.

Produksi bahan kering jerami padi sawah 3,86 ± 1,05 ton per hektar, sedangkan jerami padi gogo sebesar 2,76 ± 1,07 ton per hektar [Sujono et al., 1987].

Jerami padi, selama ini pemanfaatannya masih terbatas dan kebanyakan hanya digunakan untuk pakan ternak. Jerami padi kurang disenangi oleh ternak, karena mempunyai kadar protein kasar sangat rendah (4,2%), dengan kadar serat kasar cukup tinggi (35,1%) yang menyebabkan energi yang dapat dicernanya rendah. Rendahnya kandungan energi dapat dicerna, disebabkan sangat tingginya kadar lignin (6,95%), selulosa (33%) dan silikat (16%).

Dengan berkembangnya teknologi, hidrolisis selulosa dengan menggunakan enzim selulase akan menghasilkan glukosa [The-AN HSU et al., 1980; Zayed dan Meyer, 1996]. Sirup glukosa digunakan dalam industri makanan dan minuman, terutama dalam industri permen, selai, pengalengan buah-buahan, dan industri farmasi. Hidrolisis dari selulosa dengan enzim selulase diharapkan terurai sempurna menjadi glukosa, fruktosa, dan unsur mineral.

Jerami padi mengandung selulosa bersama-sama dengan lignin dalam bentuk senyawa lignoselulosa. Jerami padi yang baik harus dibebaskan ligninnya dengan NaOH sehingga didapat selulosa. Jadi

dengan membebaskan selulosa dari lignin, jerami padi dapat dipakai sebagai alternatif sumber selulosa yang murah dan melimpah (Wang et al., 1979).

Mikroba yang mampu mendegradasi selulosa antara lain *Trichoderma reesei* QM 9414 yang dapat tumbuh dan menghasilkan enzim selulase [Schafner dan Toledo, 1991]. Enzim  $\beta$ -glukosidase dapat menghidrolisis selubiosa dan oligosakarida menjadi glukosa.

Konsentrasi glukosa yang terbentuk merupakan parameter dan parameter kinetika fermentasi lainnya yaitu laju pertumbuhan spesifik sel mikroba ( $\mu$ ), laju pembentukan produk ( $Q_p$ ), dan laju spesifik penurunan substrat ( $Q_s$ ), dan oksigen terlarut ( $O_T$ ) masih harus dicari dan dirumuskan.

Masalah yang dapat diidentifikasi adalah: (1) apakah terjadi efek interaksi antara laju aerasi dan konsentrasi substrat fermentasi selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 pada suhu 30°C, kecepatan pengadukan 150 rpm, dan pH 5,0 terhadap kadar glukosa ( $C_p$ ), konsentrasi inokulum ( $C_x$ ), penurunan substrat ( $C_s$ ), dan oksigen terlarut ( $O_T$ ), (2) seberapa akurat kinetika fermentasi selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 pada suhu 30°C, kecepatan pengadukan 150 rpm, dan pH 5,0 menjadi glukosa mendekati hasil fermentasi selulosa murni fermentasi jerami padi bebas lignin, dan (3) seberapa jauh kinetika fermentasi selulosa murni dapat diterapkan sebagai landasan rancang bangun bioreaktor skala industri, berdasarkan laju spesifik pertumbuhan *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $\mu$ ) laju spesifik penurunan substrat selulosa ( $Q_s$ ), laju spesifik pembentukan glukosa ( $Q_p$ ), dan koefisien volume perpindahan oksigen ( $K_{La}$ ).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh aerasi dan konsentrasi substrat pada kinetika fermentasi selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 menjadi glukosa, mencari pendekatan seberapa akurat hasil fermentasi selulosa murni dibandingkan dengan hasil fermentasi jerami padi bebas lignin, dan mencari pendekatan kinetika fermentasi selulosa murni yang dapat digunakan sebagai landasan rancang bangun bioreaktor skala industri berdasarkan laju spesifik pertumbuhan *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $\mu$ ), laju spesifik penurunan substrat selulosa ( $Q_s$ ), dan laju spesifik pembentukan glukosa ( $Q_p$ ).

## METODOLOGI

Penelitian terdiri dari tiga tahap: (1) menetapkan konsentrasi selulosa murni dan kecepatan aerasi yang terbaik pada fermentasi dengan *Trichoderma reesei* QM 9414 terhadap kadar glukosa ( $C_p$ ), konsentrasi inokulum ( $C_x$ ), penurunan substrat ( $C_s$ ), dan oksigen terlarut ( $O_T$ ), menetapkan kinetika fermentasi selulosa murni, berdasarkan  $C_p$ ,  $C_x$ ,  $C_s$ , dan  $O_T$  pada fermentasi dengan konsentrasi substrat dan kecepatan

aerasi terbaik; (2) menetapkan kinetika fermentasi jerami padi bebas lignin, berdasarkan kinetika fermentasi selulosa murni; dan (3) menetapkan kinetika fermentasi selulosa murni sebagai landasan rancang bangun bioreaktor skala industri.

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain: selulosa murni (Sigma Chemical), jerami padi, jenis IR 64 dari daerah Soreang Kabupaten Bandung. *Trichoderma reesei* QM 9414 biakan murni dari Laboratorium Mikrobiologi, ITB. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi peralatan laboratorium untuk fermentasi dan analisis bahan-bahan.

Persiapan medium dan inokulasi : biakan murni di inokulasi kedalam medium cair Potatato Dextro, sebanyak 300 ml dalam labu erlenmeyer 500 ml. Medium cair ini dilakukan pengocokan dengan shaker 150 rpm dan suhu 30°C sampai Optical Density (OD=2). Dengan menggunakan Counting Chamber, media cair tersebut diperoleh jumlah sel  $10^{10}$  sel/ml. Dipipet 1 ml dari media cair induk tersebut, dimasukkan kedalam 1 L substrat cair dalam fermentor berkapasitas 1 L yang telah disterilkan pada suhu 121°C selama 30 menit. Jumlah sel awal dalam substrat cair tersebut terdapat  $10^7$  sel/ml.

Fermentor New Brunswick 1 L yang digunakan berkapasitas 1 L. Sedangkan volume fermentor 1300 ml. Metode pengamatan glukosa digunakan metode Nelson dengan pengukuran menggunakan spectrophotometer yang hasilnya dibandingkan dengan kurva standard glukosa.

Metoda pengukuran biomassa dengan metode gravimetric dari drycell. Oksigen terlarut digunakan pengukuran langsung oksigen terlarut dengan alat dissolve oxygen (DO) meter.

Rancangan percobaan yang digunakan, adalah Rancangan Acak Lengkap bifaktorial 3x3 dengan tiga kali ulangan. Faktor pertama : kecepatan aerasi (A), terdiri atas tiga taraf: 1,0 vvm, 1,5 vvm, dan 2,0 vvm, sedangkan faktor kedua : konsentrasi selulosa murni (S) terdiri atas tiga taraf: 0,75%, 1,00%, dan 1,25%.

Data respons dikumpulkan selang 6 jam selama 21 kali : 0 jam, 6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam, 48 jam, 54 jam, 60 jam, 66 jam, 72 jam, 78 jam, 84 jam, 90 jam, 96 jam, 102 jam, 108 jam, 114 jam, dan 120 jam.

Peubah yang diukur yaitu (1) konsentrasi (produksi) glukosa ( $C_p$ ); (2) konsentrasi biomassa *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $C_x$ ); (3) konsentrasi substrat selulosa (tersisa) ( $C_s$ ); dan (4) oksigen terlarut ( $O_T$ ).

Pengujian signifikansi pengaruh perlakuan dilakukan dengan Uji F pada taraf nyata 5%, dan apabila pengaruh perlakuan signifikan, maka pengujian beda rata-rata pengaruh perlakuan dilakukan dengan uji beda nyata Duncan pada taraf nyata 5%.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Pengaruh konsentrasi substrat selulosa murni dan kecepatan aerasi oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 terhadap  $C_P$ ,  $C_X$ ,  $C_S$ , dan  $O_T$**

Analisis ragam menunjukkan bahwa pembentukan produk glukosa ( $C_P$ ), konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $C_X$ ), konsentrasi substrat ( $C_S$ ), dan oksigen terlarut ( $O_T$ ) dipengaruhi oleh interaksi antara konsentrasi substrat, dan aerasi pada setiap waktu pengamatan tercantum dalam Tabel 1.

Bertambahnya konsentrasi substrat dan meningkatnya aerasi sampai batas tertentu akan meningkatkan produksi glukosa ( $C_P$ ) pada setiap

pengamatan, kecuali pada pengamatan 24 dan 30 jam. Produk glukosa ( $C_P$ ) tertinggi dicapai pada pengamatan 90 jam dengan konsentrasi substrat 1.00% ( $s_2$ ), dan kecepatan aerasi 1.5 vvm ( $a_2$ ). Nampaknya fermentasi 90 jam ini merupakan puncak dari aktivitas jamur *Trichoderma reesei* QM 9414 merombak selulosa menjadi glukosa. Hal tersebut sesuai dengan peneliti terdahulu (Schafner dan Toledo, 1992; Zayed dan Meyer, 1996), yang menyatakan bahwa fermentasi sub merged selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 menjadi glukosa, dipengaruhi pula oleh kecepatan aerasi. Aerasi optimum untuk memelihara oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 sekitar 1.5 vvm dalam fermentor model microform CMF-128 S.

Tabel 1. Pengaruh aerasi dan substrat terhadap  $C_P$ , (g/L-1);  $C_X$  (g/L-1);  $C_S$  (g/L-1); dan  $O_T$  (mg/L-1)

| Respons | Waktu  | Aerasi (A) | SUBSTRAT (S)        |                    |                     |
|---------|--------|------------|---------------------|--------------------|---------------------|
|         |        |            | s1                  | s2                 | s3                  |
| CP      | 90 jam | a1         | 0.0997<br>b<br>(c)  | 0.1473<br>b<br>(a) | 0.1267<br>b<br>(b)  |
|         |        | a2         | 0.1333<br>a<br>(b)  | 0.1677<br>a<br>(a) | 0.1477<br>a<br>(b)  |
|         |        | a3         | 0.1387<br>a<br>(a)  | 0.1305<br>c<br>(a) | 0.0840<br>c<br>(b)  |
| CX      | 90 jam | a1         | 4.1943<br>b<br>(b)  | 4.8807<br>b<br>(a) | 4.9487<br>a<br>(a)  |
|         |        | a2         | 5.1253<br>a<br>(a)  | 5.6267<br>a<br>(a) | 5.3697<br>a<br>(a)  |
|         |        | a3         | 5.1937<br>a<br>(a)  | 5.0040<br>b<br>(a) | 5.0753<br>a<br>(a)  |
| CS      | 84 jam | a1         | 4.6800<br>b<br>(b)  | 4.4933<br>b<br>(b) | 8.1400<br>a<br>(a)  |
|         |        | a2         | 6.0333<br>a<br>(b)  | 4.2133<br>b<br>(c) | 7.9100<br>a<br>(a)  |
|         |        | a3         | 4.5333<br>b<br>(c)  | 5.8200<br>a<br>(a) | 5.3233<br>b<br>(b)  |
| OT      | 78 jam | a1         | 1.1607<br>b<br>(a)  | 1.5700<br>a<br>(a) | 1.9833<br>ab<br>(a) |
|         |        | a2         | 2.4267<br>a<br>(a)  | 1.3000<br>a<br>(b) | 1.4000<br>b<br>(b)  |
|         |        | a3         | 1.8700<br>ab<br>(a) | 2.0633<br>a<br>(a) | 2.6533<br>a<br>(a)  |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf kecil yang sama ke arah vertikal (tanpa kurung) dan huruf kecil yang sama ke arah horizontal (dalam kurung), tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan.

Konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 (Cx) tertinggi dicapai pada pengamatan 90 jam pada konsentrasi substrat 1% (s2), dan kecepatan aerasi 1,5 vvm (a2) yaitu a2s2 (5.6267 gL<sup>-1</sup>). Nampaknya pada jam 90 ini jumlah sel *Trichoderma reesei* QM 9414 terbanyak sehingga enzim selulase yang dihasilkan juga yang tertinggi dan akibatnya dicapai konsentrasi glukosa tertinggi. Hasil tersebut sesuai dengan peneliti terdahulu yang menyatakan konsentrasi selulosa murni (xylosa 1%) dapat mendorong produksi selulase (Schafner dan Toledo, 1992; Zayed dan Meyer, 1967).

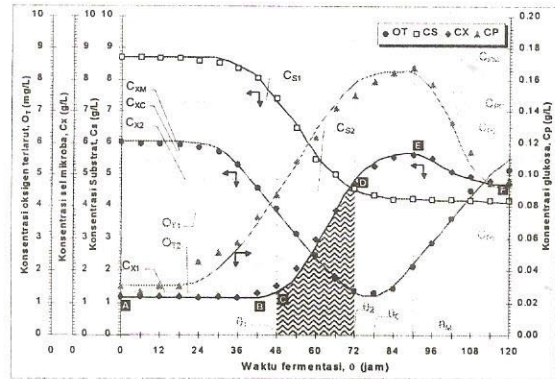
Selulosa tersisa (Cs) terendah dicapai dengan konsentrasi substrat 1,00 % dan kecepatan aerasi 1,5 vvm yang dimulai pada pengamatan 84 jam, sedangkan nilai O<sub>T</sub> terendah dicapai dengan konsentrasi substrat 1.00 % dan kecepatan aerasi 1.5 vvm pada pengamatan 78 jam.

**Kinetika fermentasi pada selulosa murni**

Pada kondisi fermentasi substrat selulosa 1% (s2) dan aerasi 1,5 vvm (a2) oleh *Trichoderma reesei* QM 9414, dihasilkan empat kurva perkembangan (Gambar 1), masing-masing O<sub>T</sub>, Cs, Cp, Cx selama waktu fermentasi aerobik sehingga diperoleh hasil nilai-nilai parameter kinetika fermentasi pada fase eksponensial, yaitu: Cx<sub>1</sub> dan Cx<sub>2</sub>; Cp<sub>1</sub> dan Cp<sub>2</sub>; Cs<sub>1</sub> dan Cs<sub>2</sub>; dan nilai O<sub>T1</sub> dan O<sub>T2</sub>, kx, kp<sub>1</sub> dan kp<sub>2</sub>, C<sub>Xc</sub>, C<sub>Xm</sub>, C<sub>Pc</sub>, C<sub>Pm</sub>, θ<sub>c</sub>, dan θ<sub>m</sub>, sebagaimana tercantum dalam Tabel 2. Parameter kx, kp<sub>1</sub> dan kp<sub>2</sub> merupakan konstanta yang didapat dari hasil perhitungan dengan menggunakan persamaan berikut: untuk kx; Cx = C<sub>x0</sub> e<sup>kx(t-θ<sub>c</sub>)</sup>, kx merupakan indikator konstanta pertumbuhan mikroorganisme. Makin besar kx, semakin cepat pertumbuhannya.

Konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 (Cx) awal pada jam ke-0 (T<sub>0</sub>) sudah terdapat sekitar 1,16 g sel per liter. Dari jam ke-0 (T<sub>0</sub>) sampai jam ke-42 (T<sub>42</sub>), jumlah sel relatif masih tetap. Fase ini, disebut fase penyesuaian atau masa adaptasi. Setelah jam ke-42 (T<sub>42</sub>) terjadi fase percepatan pertumbuhan sel *Trichoderma reesei* QM 9414, jumlah sel naik sampai jam ke-72 (T<sub>72</sub>). Mulai jam ke-48 (T<sub>48</sub>) pertumbuhan sel *Trichoderma reesei* QM 9414 naik secara konstan, pertumbuhannya tetap konstan, fase ini disebut fase logaritmik atau fase eksponensial. Pada saat fase eksponensial dimulai yaitu pada jam ke-48 (T<sub>48</sub>) diperoleh jumlah sel (Cx<sub>1</sub>) sebesar 1,33 gL<sup>-1</sup>. Fase eksponensial dari *Trichoderma reesei* QM 9414 berakhir pada jam ke-72 (T<sub>72</sub>). Metabolit yang dihasilkan pada fase eksponensial disebut metabolit primer. Konsentrasi sel *Trichoderma reesei* QM 9414 pada akhir fase eksponensial (Cx<sub>2</sub>) mencapai 4,83 gL<sup>-1</sup>. Mulai jam ke-72 (T<sub>72</sub>) sampai jam ke-90 (T<sub>90</sub>), fase ini disebut fase pertumbuhan menurun mendekati nilai 0. Titik potong/singgung antara garis lurus eksponensial dengan garis stasioner disebut titik kritis (Cxc) dengan jumlah sel 5,40 gL<sup>-1</sup>. Pada jam ke-90 (T<sub>90</sub>) jumlah sel mikroba

dalam keadaan stasioner. Fase ini disebut fase stasioner atau fase non pertumbuhan. Metabolit yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 pada fase stasioner adalah metabolit sekunder. Pada fase stasioner terdapat jumlah sel yang maksimum yaitu Cx<sub>m</sub> dengan jumlah sel 5,68 gL<sup>-1</sup>. Fase stasioner berakhir pada saat jumlah sel menurun yang disebut fase pertumbuhan negatif.



Keterangan:  
 Cx<sub>1</sub> = konsentrasi sel mikroorganisme pada saat mulai fase eksponensial;  
 Cx<sub>2</sub> = konsentrasi sel mikroorganisme pada saat berakhirnya fase eksponensial;  
 daerah yang diarsir = batas Cx<sub>1</sub> dan Cx<sub>2</sub>;  
 tanda panah (menunjukkan arah ordinat

Gambar 1. Perkembangan perubahan konsentrasi produk glukosa (Cp), konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 (Cx), konsentrasi substrat (Cs), dan oksigen terlarut (O<sub>T</sub>) pada fermentasi selulosa murni dengan perlakuan aerasi 1.5 vvm dan substrat 1% (a2s2) dan kondisi fermentasi: suhu 30°C, kecepatan pengadukan 150 rpm, dan pH 5.0.

Konsentrasi produk glukosa (Cp) awal pada T<sub>0</sub> diperoleh 0,031 gL<sup>-1</sup>. Mulai T<sub>18</sub> terjadi kenaikan glukosa. Konsentrasi glukosa naik terus sampai terjadi perpotongan dengan garis tegak lurus dari Cx<sub>1</sub> yaitu T<sub>48</sub> pada suatu titik yang disebut Cp<sub>1</sub> dengan konsentrasi glukosa 0,087 gL<sup>-1</sup>. Kenaikan berlanjut sampai terjadi perpotongan dengan garis tegak lurus dari Cx<sub>2</sub> dari T<sub>72</sub>, pada titik Cp<sub>2</sub> dengan konsentrasi glukosa 0,158 gL<sup>-1</sup>. Kurva produk ini akan berpotongan dengan garis tegak lurus dari waktu kritis (θ<sub>c</sub>) di suatu titik Cp<sub>c</sub> konsentrasi produk kritis dengan konsentrasi 0,1640 gL<sup>-1</sup>. Konsentrasi produk maksimum (Cp<sub>m</sub>) diperoleh pada T<sub>90</sub> yaitu sekitar 0,1644 gL<sup>-1</sup>. Konsentrasi glukosa ini akhirnya turun sampai 0,095 gL<sup>-1</sup>, karena sebagian dari glukosa dikonsumsi oleh sel *Trichoderma reesei* QM 9414. Pada kurva ini, baik produk (Cp) maupun konsentrasi sel (Cx) termasuk dalam kategori (a) pada fase pertumbuhan sel mikroorganisme yang berhubungan dengan fase pembentukan produk dalam pola kinetika fermentasi [3], sehingga fermentasi selulosa termasuk jenis metabolit primer dan metabolit sekunder.

Tabel 2. Komponen dan parameter kinetika fermentasi pada selulosa murni dan jerami padi bebas lignin

| Komponen                             | Selulosa Murni | Jerami Padi |
|--------------------------------------|----------------|-------------|
| <b>Konsentrasi sel mikroba</b>       |                |             |
| C <sub>x1</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 1.3300         | 1.5260      |
| C <sub>x2</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 4.8300         | 5.2800      |
| <b>Konsentrasi produk (glukosa)</b>  |                |             |
| C <sub>p1</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 0.0874         | 0.0716      |
| C <sub>p2</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 0.1580         | 0.1468      |
| <b>Konsentrasi substrat</b>          |                |             |
| C <sub>s1</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 7.3000         | 4.98        |
| C <sub>s2</sub> (gL <sup>-1</sup> )  | 4.5200         | 3.612       |
| <b>Konsentrasi oksigen terlarut</b>  |                |             |
| O <sub>T1</sub> (mgL <sup>-1</sup> ) | 3.8000         | 3.8660      |
| O <sub>T2</sub> (mgL <sup>-1</sup> ) | 1.3400         | 1.0228      |
| <b>Parameter lainnya</b>             |                |             |
| C <sub>xM</sub>                      | 5.6800         | 5,8600      |
| θ <sub>M</sub>                       | 90             | 72,40       |
| C <sub>pM</sub>                      | 0.1644         | 0,17092     |
| C <sub>pC</sub>                      | 0.1640         | 0,15648     |
| C <sub>xC</sub>                      | 5.4000         | 5,63400     |
| θ <sub>C</sub>                       | 78             | 63,60       |
| θ <sub>1</sub>                       | 48             | 27,60       |
| θ <sub>2</sub>                       | 72             | 57,60       |
| dy (dC <sub>p</sub> )                | 0.071          | 0,0753      |
| dx (dt)                              | 24             | 30,00       |
| dC <sub>x</sub>                      | 3.50           | 3,7540      |
| μ                                    | 0,05374        | 0,04138     |
| Q <sub>p</sub>                       | 0,00096        | 0,00074     |
| Q <sub>O2</sub>                      | 0,03328        | 0,02785     |
| k <sub>x</sub>                       | 0,01445        | 0,01128     |
| k <sub>p1</sub>                      | 0,00294        | 0,00251     |

Perubahan konsentrasi selulosa sejak T<sub>30</sub> sudah tampak sedikit turun. Garis perkembangan selulosa, berpotongan dengan garis tegak lurus dari θ<sub>1</sub>-C<sub>x1</sub> di satu titik Cs<sub>1</sub> dengan konsentrasi selulosa 7,30 gL<sup>-1</sup>. Garis perkembangan selulosa tersebut berpotongan dengan garis tegak lurus dari θ<sub>2</sub>-C<sub>x2</sub> di titik Cs<sub>2</sub> dengan konsentrasi 4,52 gL<sup>-1</sup>. Menurunnya konsentrasi selulosa berakhir pada T<sub>120</sub> dengan konsentrasi selulosa 4,17gL<sup>-1</sup>.

Konsentrasi oksigen terlarut pada 0 jam menunjukkan 6,01 mgL<sup>-1</sup>. Selanjutnya oksigen terlarut berkurang sampai T<sub>78</sub> dalam cairan. Pada T<sub>48</sub> terjadi titik potong garis kurva O<sub>T</sub> dengan garis tegak lurus dari titik

T<sub>48</sub>-C<sub>x1</sub> pada titik O<sub>T1</sub> dengan konsentrasi oksigen terlarut 3,80 mgL<sup>-1</sup>. Sejak O<sub>T1</sub> pada T<sub>48</sub>, oksigen terlarut terus menurun sampai T<sub>78</sub>. Hal ini menunjukkan bahwa oksigen terlarut (O<sub>T</sub>) dalam cairan, masih dipergunakan oleh *Trichoderma reesei* QM 9414, untuk pertumbuhan sel dan metabolisme selulosa menjadi glukosa. Pada T<sub>72</sub> konsentrasi oksigen terlarut menunjukkan 1,34 mgL<sup>-1</sup>. Mulai T<sub>72</sub> (mulai O<sub>T2</sub>) sampai T<sub>78</sub>, penurunan oksigen terlarut mulai berkurang, berarti penggunaan oksigen menjadi sedikit. Mulai T<sub>84</sub>, oksigen terlarut meningkat kembali sampai T<sub>120</sub>. Artinya pada waktu tersebut oksigen sudah sedikit dipergunakan oleh sel, karena sel sudah dalam keadaan fase non pertumbuhan, jumlah sel mikroba stasioner dan fase kematian.

**Kinetika fermentasi jerami padi bebas lignin**

Kurva perkembangan C<sub>p</sub>, C<sub>x</sub>, C<sub>s</sub>, dan O<sub>T</sub> terhadap waktu fermentasi aerobik pada selulosa jerami padi bebas lignin disajikan pada Gambar 2. Nilai-nilai parameter kinetika pada fase eksponensial, yaitu : C<sub>x1</sub> dan C<sub>x2</sub> ; C<sub>p1</sub> dan C<sub>p2</sub>; C<sub>s1</sub> dan C<sub>s2</sub> ; dan nilai O<sub>T1</sub> dan O<sub>T2</sub>, k<sub>x</sub>, k<sub>p1</sub> dan k<sub>p2</sub>, C<sub>xC</sub>, C<sub>xM</sub>, C<sub>pC</sub>, C<sub>pM</sub>, θ<sub>C</sub>, dan θ<sub>M</sub>, disajikan dalam Tabel 2 .

**Laju pertumbuhan (growth rate) Trichoderma reesei QM 9414 versus konsentrasi oksigen terlarut**

Konsentrasi oksigen terlarut dalam substrat jerami padi bebas lignin sangat mempengaruhi pertumbuhan *Trichoderma reesei* QM 9414. Pada saat *Trichoderma reesei* QM 9414 tumbuh cepat pada fase eksponensial maka konsentrasi oksigen terlarut turun drastis, karena adanya kecepatan pengambilan oksigen oleh mikroba *Trichoderma reesei* QM 9414.

Persamaan dan nilai K<sub>La</sub> untuk masing-masing ulangan ditunjukkan pada Gambar 3. nilai K<sub>La</sub> pada fermentasi selulosa jerami padi bebas lignin oleh *Trichoderma reesei* menjadi glukosa untuk masing-masing ulangan berturut-turut adalah 0,0664; 0,0227; 0,0291; 0,0574; 0,0700; dengan rata-rata 0,0337 jam<sup>-1</sup>.

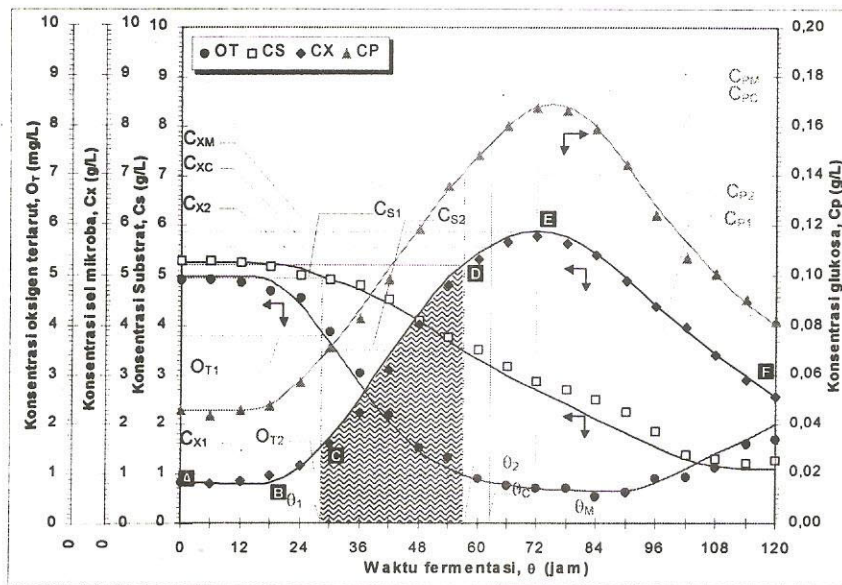
Kecepatan pengadaan oksigen oleh aerasi dan kecepatan pengadukan adalah = 0,1730 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> jam<sup>-1</sup>.

Kecepatan perpindahan oksigen ( $\frac{dO_t}{d\theta}$ ) pada media

jerami padi bebas lignin dengan *Trichoderma reesei* QM 9414 adalah = 0,0492 mg L<sup>-1</sup> jam<sup>-1</sup>.

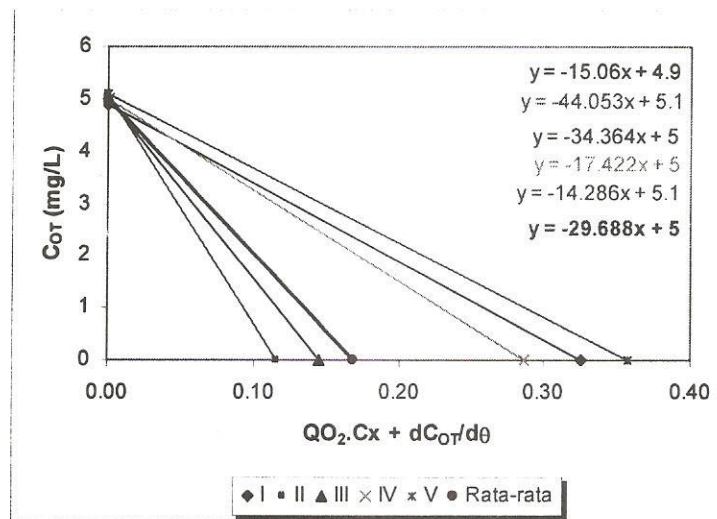
Kecepatan pengambilan oksigen ( $\frac{Y_x}{\sigma_2}$ ) oleh

*Trichoderma reesei* QM 9414 =0,5478, artinya setiap 0,5478 g sel mikroba *Trichoderma reesei* QM 9414 diperlukan 1 g oksigen atau koefisien hasil (yield) oksigen = 0,5478 g sel g<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>.



Keterangan:  
 Cx1 = konsentrasi sel mikroorganisme pada saat mulai fase eksponensial;  
 Cx2 = konsentrasi sel mikroorganisme pada saat berakhirnya fase eksponensial;  
 Daerah yang diarsir = batas Cx1 dan Cx2; Tanda panah menunjukkan arah ordinat

Gambar 2. Perkembangan perubahan konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 (Cx), konsentrasi substrat (Cs), konsentrasi produk glukosa (Cp) dan oksigen terlarut (Ot) pada fermentasi jerami padi bebas lignin dengan perlakuan aerasi 1.5 vvm dan substrat selulosa 1% dan kondisi fermentasi: suhu 30°C, kecepatan pengadukan 150 rpm, dan pH 5.0.

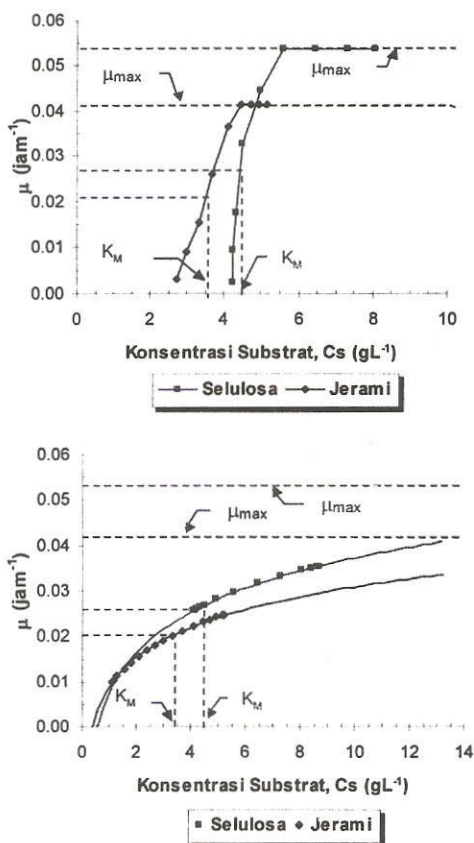


Gambar 3. Perhitungan Nilai  $K_{La}$  pada fermentasi selulosa jerami padi bebas lignin oleh *Trichoderma reesei* menjadi glukosa

**Evaluasi Parameter Kinetika Enzim**

Evaluasi parameter kinetika enzim yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 dilakukan dalam dua seri ulangan yang berbeda substrat yaitu substrat selulosa murni dan substrat jerami padi bebas lignin. Laju spesifik pertumbuhan *Trichoderma reesei* QM 9414, ( $\mu$ ), diplot terhadap konsentrasi substrat,  $C_s$ . Hasil plot ini digunakan untuk evaluasi

model kinetika enzim sehingga diperoleh besaran parameter kinetika, yaitu nilai  $\mu$  maksimum dan nilai  $K_M$  dari persamaan Michaelis-Menten. Nilai  $K_M$  sama dengan  $C_s$  jika nilai  $\mu = \frac{1}{2} \mu_{maksimum}$ . Nilai  $\mu_{maksimum}$  selulosa murni dan jerami padi berturut-turut yaitu 0,5378 jam<sup>-1</sup> dan 0,4138 jam<sup>-1</sup>, sedangkan nilai  $K_M$  selulosa murni dan jerami padi berturut-turut yaitu 4,498 dan 3,489.



Gambar 4. Kurva  $\mu$  terhadap  $C_s$

**Fermentasi selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 mengikuti model kinetika enzim Michaelis-Menten**

Untuk membandingkan respon terhadap produk glukosa ( $C_p$ ) dan konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414 dari substrat selulosa murni dan jerami padi bebas lignin dengan perlakuan yang sama, maka dilakukan uji-t. Dari uji-t tersebut ternyata hasilnya tidak nyata. Hasil tersebut menunjukkan pola kinetika fermentasi selulosa murni oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 menjadi glukosa dapat digunakan pada fermentasi jerami padi bebas lignin.

**Perhitungan scale-up**

Scale-up fermentasi selulosa murni dan jerami padi dari skala laboratorium (1 L) ke skala industri (1000 L) dibandingkan dengan scale-up pada fermentasi penicillin [Wang et al., 1979] sebagai berikut:

$$K_{La} = f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^a (V_s)^b \right]$$

dengan  $K_{La}$  = koefisien volume perpindahan oksigen ( $\text{jam}^{-1}$ );  $f$  = fungsi;  $P_g$  = daya motor agitator dalam hp;  $DQ3$  = volume industri; dan  $V_s$  = volume skala industri.

Untuk bioreaktor ukuran 1000 L, nilai konstanta  $b$  adalah 0,667. Dengan menggunakan rumus  $K_{La}$  tersebut, rumus  $K_{La}$  untuk selulosa murni dan selulosa jerami padi adalah sebagai berikut:

| Selulosa Murni                  |   |
|---------------------------------|---|
| $K_{La}$                        | $= f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^a (V_s)^b \right]$             |
| 0.0344                          | $= f \left[ \left( \frac{748/50}{1000} \right)^a (1,5)^{0,667} \right]$     |
| $a$                             | $= 0.866$   |
| sehingga rumus di atas menjadi: |   |
| $K_{La}$                        | $= f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^{0,866} (V_s)^{0,667} \right]$ |
| Selulosa Jerami Padi            |   |
| $K_{La}$                        | $= f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^a (V_s)^b \right]$             |
| 0.0337                          | $= f \left[ \left( \frac{748/50}{1000} \right)^a (1,5)^{0,667} \right]$     |
| $a$                             | $= 0.871$   |
| sehingga rumus di atas menjadi: |   |
| $K_{La}$                        | $= f \left[ \left( \frac{P_g}{D_Q^3} \right)^{0,871} (V_s)^{0,667} \right]$ |

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**Kesimpulan**

Pada fermentasi selulosa murni menjadi glukosa oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 diperoleh kondisi terbaik diperoleh pada aerasi 1,5 vvm, konsentrasi substrat 1,00 % w/v, dan waktu fermentasi 90 jam. Kecepatan spesifik pertumbuhan sel mikroba ( $\mu$ ) = 0,05374  $\text{jam}^{-1}$ , dan menghasilkan produk glukosa maksimum ( $C_{PM}$ ) = 0,1644  $\text{g/L}$ , kecepatan spesifik pembentukan produk fermentasi ( $Q_p$ ) = 0,00096 % L per sel  $\text{jam}^{-1}$ , kecepatan pengambilan oksigen oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $Q_{O_2.Cx}$ ) = 0,03328, dan koefisien volume perpindahan oksigen ( $K_{La}$ ) = 0,0378  $\text{jam}^{-1}$ .

Fermentasi jerami padi bebas lignin menjadi glukosa oleh *Trichoderma reesei* QM 9414, pada fase eksponensial terjadi laju spesifik pertumbuhan ( $\mu$ ) rata-rata sebesar  $0,04138 \text{ jam}^{-1}$ . Konsentrasi produk maksimum ( $C_{PM}$ ) =  $0,1709 \text{ gL}^{-1}$  dan laju spesifik pembentukan produk ( $Q_p$ ) =  $0,00074 \text{ \% L per sel jam}$ , kecepatan pengambilan oksigen oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 ( $Q_{O_2.CX}$ ) =  $0,02785$ , koefisien volume perpindahan oksigen ( $K_{La}$ ) =  $0,0337$ .

Akurasi kinetika fermentasi selulosa murni bisa diterapkan dalam fermentasi jerami padi bebas lignin berdasarkan nilai  $t_{hitung}$  untuk konsentrasi produk glukosa,  $C_p$ , (1.763) dan konsentrasi *Trichoderma reesei* QM 9414,  $C_X$ , (0.621) kurang dari  $t_{tabel}$ ; 20, 0.05 (2.086)

Enzim yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* QM 9414 dalam media fermentasi selulosa murni mengikuti model kinetika Michaelis-Menten dengan nilai  $\mu$  maksimum  $37 \times 10^{-3} \text{ jam}^{-1}$  dan konstanta Michaelis-Menten ( $K_M=K_S$ ) sebesar  $\frac{1}{2} \mu$  maksimum sebesar  $17,5 \times 10^{-3} \text{ jam}^{-1}$ .

Rancang bangun bioreaktor dari skala laboratorium berdasarkan nilai  $K_{La}$  diperoleh kecepatan

pengadukan =  $150 \text{ rpm}$ ;  $NDL = 750$ ;  $\left(\frac{Q}{V}\right)_L = 1,5 \text{ vvm}$ ;

diameter bioreaktor,  $D_i = 9,65 \text{ cm}$ ; diameter impeller =  $3,21 \text{ cm}$ ; dan tinggi bioreaktor,  $H_r = 19,9 \text{ cm}$ . Skala niaga dengan volume  $1000 \text{ L}$ , untuk selulosa murni nilai  $a = 0,866$  dan untuk jerami padi  $a = 0,871$ ; kecepatan

pengadukan =  $10,4 \text{ rpm}$ ;  $ND_L = 1275$ ;  $\left(\frac{Q}{V}\right)_L = 0,51 \text{ vvm}$ ;

diameter bioreaktor,  $D_i = 86 \text{ cm}$ ; Diameter impeller =  $9,65 \text{ cm}$ ; dan tinggi bioreaktor,  $H_r = 172 \text{ cm}$ .

## Saran

Jerami padi dapat dimanfaatkan sebagai sumber selulosa untuk menghasilkan glukosa.

Perlu daicari jenis lapuk atau stimulant lapuk yang menghasilkan glukosa lebih tinggi dari *Trichoderma reesei* QM 9414. Untuk memperoleh glukosa dari jerami padi secara optimal, perlu penelitian lebih lanjut dengan metode hidrolisa menggunakan  $H_2SO_4$  72% dan  $H_2SO_4$  pekat, dan diuji dengan spektrofotometer dalam waktu 8 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Coughlan M.P. and G.E. Russel. 1985. The Properties of Fungal and Bacterial Cellulases with Comment on Their Production and Application. *Biotechnol. Gen. Eng.* 3:39 – 69.
- Schafner, D.W. and R.T. Toledo. 1991. Cellulase Production in Continuous Culture by *Trichoderma reesei* on Xylose-Based Media. *Biotechnol. Bioeng.* 39(8):865-869.
- Sujono, M., Ahmad Musofie, Ristianito Utomo, Niniek Kusuma Wardhana dan J.B. Schiere. 1987. Limbah Pertanian Sebagai Pakan dan Manfaat lainnya, *Bioconversion Project Workshop*, Grati.
- The-an Hsu. 1980. Kinetic Studies of Cellodextrins Hydrolysis by Exocellulase from *Trichoderma reesei*. *Biotechnol. Bioeng.* 22:2305-2320.
- Wang D. I. C., C.L. Cooney, A.L. Demain, P. Dunnill, A.E. Humphrey and Lilly, N. D. 1979. *Fermentation and Enzyme Technology*, John Wiley & Sons, Inc, New York, USA