

ISBN :978-602-73159-0-7

SEMINAR NASIONAL
KIMIA DAN PENDIDIKAN
KIMIA VII



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VII
“Penguatan Profesi Bidang Kimia dan Pendidikan Kimia
Melalui Riset dan Evaluasi”
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan P.MIPA FKIP UNS
Surakarta, 18 April 2015



MAKALAH
PENDAMPING

BIOKIMIA

ISBN : 978-602-73159-0-7

USAHA PENINGKATAN AKTIVITAS ENZIM DENGAN METODOLOGI PERMUKAAN RESPON PADA PEMBUATAN ENZIM SELULASE SECARA FERMENTASI PADAT PADA BAGAS DENGAN *ASPERGILLUS NIGER* L74

Hamid Abdillah^{1,*}, Abdullah Busairi², dan Slamet Priyanto³

¹Mahasiswa Program Magister Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

²Mahasiswa Program Magister Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

³Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

email: hamid@ums.ac.id

ABSTRAK

Enzim selulase merupakan enzim yang sangat penting untuk produksi etanol dari bahan lignoselulosa dan untuk keperluan lainnya. Bagas sangat cocok dipilih sebagai substrat fermentasi untuk produksi selulase karena murah, mudah didapat dan sudah terkumpul dalam jumlah besar. Fermentasi padat mempunyai kelebihan dibandingkan fermentasi terendam yaitu lebih tingginya yield dan aktivitas enzim. Produksi selulase dengan fermentasi padat telah diteliti oleh banyak pihak, tetapi untuk fungi dari spesies yang berbeda, substrat yang berbeda sangat mungkin memerlukan kondisi yang berbeda, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih spesifik untuk mengetahui karakteristik enzim dan untuk mengoptimisasi produksi selulase dengan jenis fungi dan substrat yang ada di Indonesia. Studi aktivitas dilakukan pada fermentasi padat menggunakan bagas oleh *Aspergillus niger* ITBCC L74 dengan Metode Permukaan Respon desain Box-Behnken dengan variasi kadar urea, kadar $MgCl_2$, dan pH pada temperatur $35^\circ C$ dan kandungan air 80%. Kondisi optimal diperoleh pada urea 4,5% b, $MgCl_2$ 1 mM, dan pH 3,5 dengan aktivitas enzim 0,630 unit/gram. Enzim yang dihasilkan mempunyai parameter kinetika enzim yaitu v_{max} 7,6497 g/L.menit dan K_m 1,73574E-05 L/g pada temperatur $50^\circ C$ dan pH 4,8 menggunakan substrat CMC.

Kata Kunci: Bagas, Selulosa, Fungi, Congo Red, Metode Permukaan Respon

PENDAHULUAN

Dengan makin menurunnya produksi minyak bumi Indonesia yang diikuti oleh

peningkatan konsumsi turunan minyak bumi, maka Indonesia perlu mencari alternatif sumber energi agar dapat diperoleh



PENGUATAN PROFESI BIDANG
KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA
MELALUI RISET DAN EVALUASI

ketahanan energi yang lebih baik. Salah satu sumber energi yang potensial di Indonesia adalah energi biofuel. Biofuel dapat diperoleh dari limbah lignoselulosa yang diproses menjadi glukosa lalu difermentasi menjadi etanol. Usaha-usaha produksi biofuel harus diarahkan kepada produksi biofuel yang cukup ekonomis untuk bersaing dengan bahan bakul fosil.

Kazi dkk. menyatakan bahwa biaya enzim masih mendominasi harga etanol jika diproduksi dengan cara biokimia. Untuk itu pengaruh berbagai faktor terutama yang dominan terhadap keberhasilan produksi enzim perlu diteliti untuk menghasilkan enzim yang murah ^[1].

Limbah pertanian seperti bagas dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan fungi penghasil enzim selulase ^[2]. karena murah, mudah didapat dan sudah terkumpul dalam jumlah besar. Besarnya limbah bagas tercermin dari besarnya luas lahan tebu di Indonesia yang mencapai 444,5 ribu hektar pada tahun 2008 ^[3].

Fermentasi padat pada fungi lebih unggul daripada fermentasi terendam dalam hal yield dan aktivitas enzim ². Optimisasi kondisi fermentasi padat dengan fungi yang unggul dapat memberikan aktivitas enzim yang lebih tinggi. Aktivitas enzim yang tinggi akan memungkinkan produksi enzim yang lebih murah dan selanjutnya produksi etanol yang lebih murah sehingga harganya dapat bersaing dengan bensin.

Enzim selulase merupakan serangkaian enzim yang bekerja pada selulosa yang dapat mengubah selulosa menjadi glukosa. Serangkaian enzim ini diproduksi sebagai sistem selulase

berbagai enzim dari berbagai mikroorganisme, tanaman dan binatang. Serangkaian enzim tersebut adalah *endoglucanase* (EC 3.2.1.4), *exoglucanase* atau *cellobio-hydrolase* (EC 3.2.1.91), dan *β -glucosidase* (EC 3.2.1.21)^[2,4].

Beberapa fungi mampu memproduksi selulase. Genus *Aspergillus* merupakan fungi yang menghasilkan selulase yang aktivitasnya tinggi. *Aspergillus niger* mampu menghasilkan selulase yang aktivitasnya sangat tinggi dibanding spesies lain ^[5].

Fermentasi padat mempunyai kelebihan dibandingkan fermentasi terendam yaitu lebih tingginya *yield* dan aktivitas enzim. Optimisasi produksi selulase dengan fermentasi padat telah diteliti oleh banyak pihak ^[6]. Perlu dilakukan penelitian lebih spesifik untuk mengetahui karakteristik enzim dan untuk mengoptimasi produksi selulase dengan jenis fungi dan substrat yang ada di Indonesia.

Bagas termasuk bahan yang mempunyai rasio C/N yang tinggi. Penambahan nutrisi pada bagas diarahkan pada penambahan sumber nitrogen. Sumber mineral juga perlu ditambahkan karena penambahan nutrisi ini meningkatkan produktivitas secara signifikan, sedangkan penambahan sumber karbon diperkirakan tidak banyak meningkatkan produktivitas selulase. Komposisi yang tepat dari sumber nitrogen dan sumber mineral perlu diteliti dengan menggunakan desain percobaan yang efisien dan tepat. Penelitian seperti ini diharapkan dapat menghasilkan aktivitas selulase yang lebih tinggi.

Metodologi permukaan respons adalah gabungan cara matematika dan statistik yang

berguna pada pemodelan dan analisis masalah yang mana respons dipengaruhi oleh beberapa variabel untuk mengoptimisasi respons. Jika digunakan model respons orde dua maka persamaan respons menjadi:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1, i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (1)$$

Karena banyak faktor dan interaksinya mempengaruhi respons yang diinginkan, maka penggunaan metode permukaan respons (*response surface method* disingkat RSM) merupakan metode yang efektif dalam mengoptimisasi proses dengan persamaan multivariabel [7].

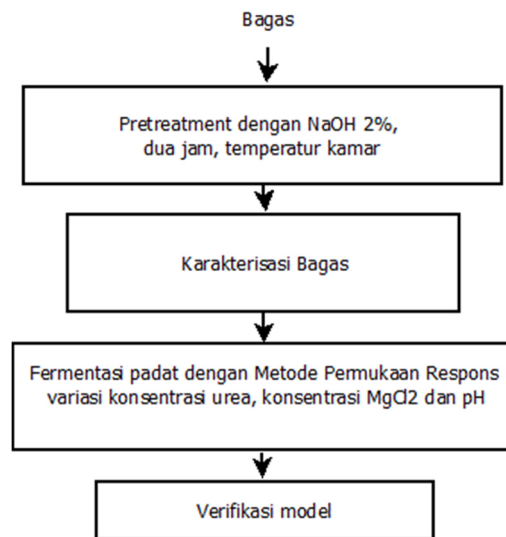
Metode Permukaan Respons desain Box-Bohnken dipilih karena model ini menghemat jumlah eksperimen mengingat percobaan fermentasi padat ini sangat rentan terhadap perbedaan kondisi dan memerlukan waktu pengujian yang lama dimana pengujian seluruh sampel harus dilakukan bersama-sama. Metode ini berhasil menyelesaikan banyak masalah optimisasi seperti pada optimisasi kadar nutrisi pada produksi dengan mikroorganisme [8].

Variabel yang dipilih dalam produksi enzim pada penelitian ini adalah variabel yang diduga kuat sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim yaitu: konsentrasi urea (sumber nitrogen), pH, dan konsentrasi MgCl₂ (salah satu sumber mineral makro; dan untuk mendapatkan parameter kinetika reaksi enzimatik dari enzim selulase yang diperoleh dari fermentasi substrat bagas oleh strain terpilih secara fermentasi padat.

BAHAN DAN METODE

Penelitian menggunakan bagas yang berasal dari Pabrik Gula Mojoagung, Tulungagung, dan *Aspergillus niger* ITBCC_{L74} yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Bioproses Departemen Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung. Bahan-bahan lain diperoleh dari Merck, kecuali PDA diperoleh dari Oxoid.

Penelitian dilaksanakan dengan struktur seperti diuraikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir percobaan

Deskripsi singkat proses penelitian:

1. Bagas dikeringkan lalu dihancurkan hingga dapat melewati ukuran 40 mesh. Bagas diproses awal dengan larutan NaOH 2% dengan perbandingan 1:10 (b:v) selama dua jam. Bagas dibilas dengan air untuk menghilangkan NaOH dan dinetralkan dengan HCl encer hingga pH netral. Bagas dikeringkan hingga benar-benar kering di dalam oven pada temperatur 60°C.
2. Karakterisasi bagas hasil pretreatment dilakukan dengan metode Chesson-Datta

- untuk mengetahui kandungan selulosa, hemiselulosa, dan lignin, serta abu [9].
- Biakan strain murni *Aspergillus niger* ITBCC L74 yang sudah diremajakan di dalam *slant* PDA disimpan pada temperatur 4°C. Biakan strain murni *A. niger* pada *slant* PDA seluas 1 cm² dipindahkan ke larutan media inokulum secara aseptis. Media inokulum menggunakan 50 ml larutan glukosa 10g/l dalam erlenmeyer 250 ml. Kemudian 5 ml nutrisi tambahan diberikan menurut resep Mandels [10]. Inkubasi dilakukan pada temperatur 35°C selama 2 hari. Inokulum ini diuji *optical density* (OD) dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 690 nm. Jika OD₆₉₀ kurang dari 0,5 maka fermentasi dilanjutkan, apabila OD₆₉₀ lebih dari 0,5 maka suspensi spora harus diencerkan sehingga OD₆₉₀ tepat 0,5 dengan aquades secara aseptik. Selanjutnya inkubasi dilakukan pada media fermentasi padat yaitu bagas. Sepuluh gram bagas yang diatur supaya mempunyai kadar air 80% diinkubasi dengan inokulum sebanyak 2 ml di dalam Erlenmeyer 250 ml pada 35°C. Nutrisi yang ditambahkan sesuai resep Mandels [6] dengan perbandingan berat nutrisi terhadap berat bagas sama dengan terhadap berat glukosa, kecuali nutrisi MgSO₄ diganti dengan MgCl₂, dan tidak digunakannya pepton. Setelah mencapai waktu yang ditentukan enzim diekstrak dengan larutan buffer sodium sitrat pH 4,5 dengan perbandingan bagas kering terhadap buffer 1:10 b/v. Aktivitas

enzim diuji dengan metode Ghose [11] menggunakan kertas saring Whatman no. 1 sebagai substrat pada penangas air 50°C selama 1 jam dengan reagen *dinitrosalysilic acid* (DNS). Desain percobaan fermentasi padat menggunakan variabel sesuai desain Box-Behnken dari metode permukaan respons seperti dapat dilihat pada Tabel 1. Respon aktivitas selulase yang diperoleh digunakan sebagai data untuk diolah menjadi model. Dari model dapat diperoleh kondisi optimal bagi fermentasi padat.

- Uji model dilakukan dengan memproduksi enzim selulase pada kondisi optimal yang diperoleh dari optimisasi dengan cara yang sama.

Tabel 1. Variabel percobaan RSM desain Box-Behnken

Variabel	-1	0	+1
Urea	1,5% ^b	3% ^b	4,5% ^b
MgCl ₂	1 mM	2,5 mM	4 mM
pH awal	3,5	4,5	5,5

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Bagas

Pretreatment bagas merubah warna dari coklat khas lignin menjadi kuning kecoklatan. Perubahan warna ini menunjukkan adanya perubahan pada struktur atau komposisi bagas. Komposisi bagas ditampilkan pada Tabel 2. Kandungan selulosa meningkat sekitar 50% dari nilai tipikal, kandungan hemiselulosa turun sekitar 50% dari nilai tipikal bagas, kadar abu meningkat sekitar dua kali lipat dari nilai tipikal, serta kadar lignin relatif tetap [12]. Perubahan ini

menunjukkan perlakuan awaltelah memberi pengaruh signifikan yang diperlukan bagas yaitu kenaikan rasio selulosa terhadap lignin. Walaupun kenaikannya lebih rendah daripada literatur, namun kandungan selulosa pada bagas yang telah mengalami *pretreatment* pada penelitian ini tetap mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan substrat pembuatan enzim selulase secara fermentasi padat [13].

Tabel 2. Hasil uji kandungan bahan selulosa pada bagas

Nama	Kandungan (%)
Selulosa	57,76
Hemiselulosa	12,94
Lignin	21,34
Abu	7,96

Fermentasi Padat dengan Metode Permukaan Respons

Fermentasi padat bagas dengan *A. niger* ITBCC L74 menggunakan metode permukaan respons Box-Behnken dilakukan selama fermentasi tiga hari, dengan kandungan air 80%.

Hasil uji aktivitas enzim FPase dari RSM desain Box-Behnken dapat dilihat pada Tabel 3. Selanjutnya data penelitian metode permukaan respons ini diolah menggunakan aplikasi komputer *Design Expert* versi 6 (2002) buatan *Stat-Ease, Inc*, Minneapolis. Hasil uji statistik awal menunjukkan korelasi model lebih mengarah kepada bentuk polinomial orde dua tanpa interaksi urea-pH.

Persamaan aktivitas sebagai fungsi tiga faktor tersebut tanpa interaksi kadar urea dan pH adalah ([urea] dalam persen berat dan [MgCl₂] dalam milimolar):

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas} = & 0,124 + 0,251 * [\text{urea}] - 0,0917 * \\
 & [\text{MgCl}_2] + 0,0104 * \text{pH} - 0,0158 * [\text{urea}]^2 + \\
 & 0,00741 * [\text{MgCl}_2]^2 - 0,0123 * \text{pH}^2 - 0,0587 * \\
 & [\text{urea}] * [\text{MgCl}_2] + 0,0454 * [\text{MgCl}_2] * \text{pH}
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

Tabel 3. Respon (aktivitas enzim) terhadap variabel RSM Box Behnken pada kadar air substrat 80%

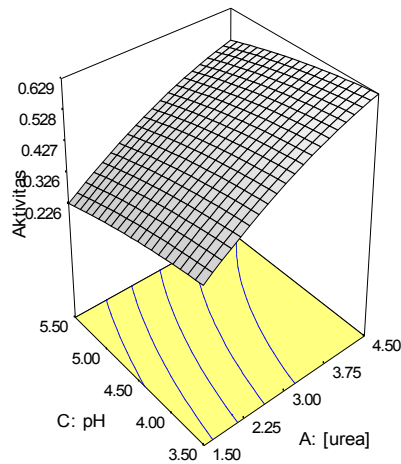
kadar urea (% b)	kadar MgCl ₂ (mM)	pH	Aktivitas aktual (unit/gram)	Aktivitas model (unit/gram)
1,5	1	4,5	0,2901	0,2944
1,5	2,5	3,5	0,3539	0,3452
1,5	2,5	5,5	0,3539	0,3713
1,5	4	4,5	0,4931	0,4803
3	1	3,5	0,5163	0,5192
3	1	5,5	0,4293	0,4090
3	2,5	4,5	0,4235	0,4206
3	2,5	4,5	0,4177	0,4206
3	4	3,5	0,2843	0,3046
3	4	5,5	0,4699	0,4670
4,5	1	4,5	0,5744	0,5874
4,5	2,5	3,5	0,3887	0,3742
4,5	2,5	5,5	0,3945	0,4003
4,5	4	4,5	0,2495	0,2451

Tabel 4 menunjukkan model tanpa interaksi urea-pH yang dipilih sebagai model untuk penelitian ini mempunyai nilai kepercayaan tinggi. *F-value* model sebesar 36,90 menunjukkan model signifikan. Hanya ada kemungkinan 0,05% *F-value* model sebesar ini terjadi karena noise. Nilai "Prob>F" kurang dari 0,10 mengindikasikan bentuk model signifikan. *Lack of Fit F-value* sebesar 27.37 menunjukkan *Lack of Fit* tidak signifikan relatif terhadap error murni. Ada peluang sebesar 14.20% bahwa *Lack of Fit F-value* sebesar ini terjadi akibat *noise*. Selisih antara

Predicted dan *Adjusted R squared* yang kurang dari 20% menunjukkan model dapat diterima. Dari keseluruhan hasil ini dapat disimpulkan bahwa model signifikan dan dapat diterima.

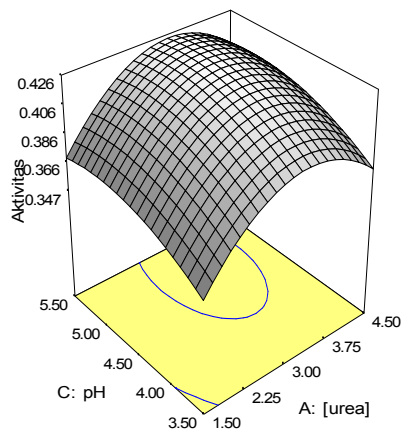
DESIGN-EXPERT Plot

Aktivitas
X = A: [urea]
Y = C: pH
Actual Factor
B: [MgCl₂] = 1.00



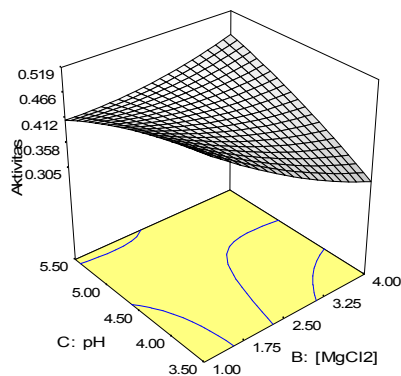
DESIGN-EXPERT Plot

Aktivitas
X = A: [urea]
Y = C: pH
Actual Factor
B: [MgCl₂] = 2.50



DESIGN-EXPERT Plot

Aktivitas
X = B: [MgCl₂]
Y = C: pH
Actual Factor
A: [urea] = 3.00



Gambar 2. Diagram permukaan tiga dimensi dan kontur aktivitas enzim selulase pada kadar MgCl₂ 1 mM, 2,5 mM, dan 4 mM, kadar air 80%.

Hasil penelitian dengan model kuadrat penuh menunjukkan ketiga faktor yaitu kadar urea, kadar MgCl₂, dan pH mempunyai pengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim. *Magnitude* dari koefisien linier urea jauh lebih besar daripada *magnitude* koefisien pH, dan lebih besar daripada *magnitude* koefisien MgCl₂. Berdasarkan besarnya pengaruh koefisien kuadrat faktor urea yang paling tinggi pengaruhnya, disusul pH dan MgCl₂. Dapat disimpulkan bahwa pengaruh urea paling dominan.

Tidak adanya interaksi antara urea dan pH sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada akar yang diinfeksi dengan fungi *Plasmodiophore brassicae* pada pH antara 6,2 hingga 7,2 yang kelakuannya diasumsikan mempunyai kemiripan dengan peristiwa fermentasi padat [14]. Hal ini juga dikuatkan oleh penelitian RSM fermentasi terendam pada fungi yang menunjukkan tidak ada interaksi antara pH dan urea [15].

Pada pH di atas 5 kenaikan pH dan kenaikan kadar MgCl₂ mengakibatkan turunnya aktivitas enzim, sebaliknya pada pH di bawah 5 penurunan pH dan penurunan kadar MgCl₂ mengakibatkan aktivitas enzim naik sampai batas tertentu dan selanjutnya menurun. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian RSM aktivitas CMC_{ase} pada fermentasi terendam [15].

Tabel 4. Hasil statistik dengan model polinomial orde dua tanpa faktor interaksi kadar urea-pH.

Sumber	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	Prob > F
Model	0,10980	8	0,0137254	36,9025	0,000499
A	0,00168	1	0,0016830	4,52489	0,0867
B	0,01227	1	0,0122689	32,9,864	0,00224
C	0,00136	1	0,0013632	3,66516	0,114
A ²	0,00404	1	0,0040408	10,8643	0,0216
B ²	0,00089	1	0,0008903	2,39367	0,183
C ²	0,00049	1	0,0004863	1,30769	0,305
AB	0,06968	1	0,0696835	187,353	< 0,0001
BC	0,01859	1	0,0185884	49,9774	0,000876
Residual	0,00186	5	0,000372		
Lack of Fit	0,00184	4	0,000461	27,375	0,142
Pure Error	1,68E-05	1	1,68E-05		
Cor Total	0,11166	13			
Model dengan interaksi kadar urea-pH	0,10981	9	0,012201	26,3616	0,00327

Kadar urea sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Pada kadar urea 4,5 %b aktivitas enzim mencapai nilai optimum. Kecenderungan yang bisa diamati adalah aktivitas paling tinggi pada kadar urea tinggi dicapai ketika kadar MgCl₂ dan pH rendah, aktivitas paling tinggi pada kadar urea rendah dicapai pada kadar MgCl₂ dan pH tinggi. Urea merupakan satu-satunya sumber nitrogen yang ditambahkan pada penelitian ini. Nitrogen memegang peranan penting dalam pertumbuhan fungi karena nitrogen merupakan unsur pembentuk protein bagi tubuh fungi dan bagi pembentukan enzim yang juga merupakan protein.

Pada penelitian ini terjadi tekanan terhadap aktivitas enzim akibat peningkatan kadar MgCl₂ pada kadar urea tinggi, sedangkan pada kadar urea rendah kenaikan kadar MgCl₂ meningkatkan aktivitas enzim seperti dapat dilihat pada

Gambar. Pada kadar urea rendah magnesium diperkirakan membantu meningkatkan peran dalam reaksi biokimia nukleat (yang tersusun dari protein) yang melibatkan magnesium, sehingga peningkatan kadar magnesium akan menghasilkan peningkatan aktivitas selulase. Inhibisi pada kadar urea rendah disebabkan oleh tingginya kadar unsur golongan dua dan kadar sodium yang terdapat pada bagas, yang sesuai dengan penelitian Shaul ^[16].

Pada penelitian ini tidak terjadi inhibisi dari nitrogen dari urea. Hal ini disebabkan urea mampu ditransportasikan pada konsentrasi cukup tinggi yang mana urea dapat ditransportasikan dua mekanisme^[17].

Penelitian menunjukkan pH rendah menghasilkan aktivitas enzim lebih tinggi daripada pH tinggi. Hal ini disebabkan kinerja optimal dari asam-asam amino fungi terjadi pada pH rendah ^[17]. Penelitian Vu dkk ^[6] menggunakan dedak gandum menguatkan

hal ini yaitu pada pH 3,5 menghasilkan aktivitas enzim yang optimal.

Tabel 5. Hasil perhitungan statistik dari model polinomial orde dua tanpa interaksi urea-pH.

Parameter	Model polinomial orde dua tanpa interaksi urea-pH
<i>Std. Dev.</i>	0,0193
<i>Mean</i>	0,4028
<i>C.V.</i>	4,7879
<i>PRESS</i>	0,0221
<i>R-Squared</i>	0,9834
<i>Adj R-Squared</i>	0,9567
<i>Pred R-Squared</i>	0,8023
<i>Adeq Precision</i>	22,1367

Kondisi Optimal Fermentasi Padat

Persamaan model aktivitas sebagai fungsi tiga faktor yaitu kadar urea, $MgCl_2$ dan pH digunakan untuk mencari titik optimum dari proses fermentasi padat. Perhitungan nilai optimum lokal menghasilkan nilai yang bukan nilai maksimum yaitu aktivitas sebesar 0,425 unit/gram pada kondisi kadar urea, $MgCl_2$ dan pH berturut-turut 3,167 %b, 2,597 mM, dan 5,2. Hasil percobaan pada kondisi yang lain dapat mencapai aktivitas lebih tinggi, serta bentuk kurva berupa *berl-saddle*, maka dapat disimpulkan bahwa titik tersebut adalah titik belok, bukan

merupakan titik maksimum. Nilai maksimum aktivitas enzim selulase pada persamaan model dicapai pada kadar urea 4,5%b, kadar $MgCl_2$ 1 mM, dan pH 3,5, dengan aktivitas sebesar 0,630 unit/gram.

Verifikasi Model

Kesesuaian model dengan kenyataan ini diuji untuk mengetahui kebenaran model. Uji model dilakukan pada satu kondisi optimum puncak, dan dua kondisi pada range penelitian. Hasil uji model dituliskan pada Tabel 6. Hasil uji model masih mempunyai selisih yang cukup berbeda dengan model. Hal ini dapat disebabkan perbedaan umur inokulum yang digunakan, walaupun telah disimpan di dalam kulkas, dapat mengalami penuaan. Selain itu hal tersebut juga dapat disebabkan oleh kurangnya *repeatability* dari metode DNS dengan substrat kertas saring [18]. Walaupun hasil verifikasi cukup berbeda dengan model, tetapi aktivitas enzim tertinggi model masih menunjukkan korelasi dengan kondisi maksimum uji model. Aktivitas enzim pada nilai optimum tersebut cukup rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Vu dkk [6]. Perbedaan ini dapat disebabkan perbedaan kadar air, proses *pretreatment* dan substrat. Metode-metode perbaikan diperlukan untuk menghasilkan data yang mempunyai *repeatability* yang baik, seperti penggunaan metode standarisasi inokulum dengan penghitungan spora.

Tabel 6. Uji model

Urea (% b)	$MgCl_2$ (mili molar)	pH	Aktivitas (unit per gram)	Aktivitas model (unit per gram)	error terhadap model
4,50	1,00	3,5	0,511	0,630	-18,95%

ISBN :978-602-73159-0-7

SEMINAR NASIONAL
KIMIA DAN PENDIDIKAN
KIMIA VII



4,50	1,00	5,3	0,414	0,535	-22,63%
1,50	4,00	4,5	0,318	0,480	-33,80%

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Bagas yang dijadikan sumber substrat pada penelitian ini cukup layak digunakan sebagai media fermentasi.
2. Persamaan aktivitas pada fermentasi padat dengan range kadar urea antara 1,5-4,5 %b, kadar $MgCl_2$ antara 1-4 %, dan pH antara 3,5-4,5 adalah :

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas} = & 0,124 + 0,251 * [\text{urea}] - 0,0917 * \\ & [\text{MgCl}_2] + 0,0104 * \text{pH} - 0,0158 * [\text{urea}]^2 + \\ & 0,00741 * [\text{MgCl}_2]^2 - 0,0123 * \text{pH}^2 - 0,0587 * \\ & [\text{urea}] * [\text{MgCl}_2] + 0,0454 * [\text{MgCl}_2] * \text{pH} \end{aligned}$$

3. Nilai optimum aktivitas pada fermentasi padat dicapai pada kadar urea 4,5 %b, kadar $MgCl_2$ 1 mM, dan pH 3,5, dengan aktivitas sebesar 0,630 unit/gram.

DAFTAR RUJUKAN

- [1]. Kazi, F. K. et al., 2010, *Technoeconomic Comparison of Process Technologies for Biochemical Ethanol Production from Corn Stover*. National Renewable Energy Laboratory.
- [2]. Zhang, Y. H. P., Himmel, M. E. & Mielenz, J. R., 2006, *Biotech. Adv.***24**, 452–481.
- [3]. Mulyadi, M., Toharisman, A. & Mirzawan. 2009, Identifikasi Potensi Lahan Untuk Mendukung Pengembangan Agribisnis Tebu Di Wilayah Timur Indonesia. *P3GI, 2009* .at <sugarresearch.org/wp-content/uploads/2009/08/potensi-intim.pdf>
- [4]. Swift, L. M. ,2008, Enzymatic Degradation of Cellulosic Wastes.
- [5]. Abu Bakar, N. K., Abd-Aziz, S., Hassan, M. A. & Ghazali, F. M., 2010, , *Biotechnology***9**, 73–78.
- [6]. Vu, V. H., Pham, T. A. & Kim, K. , 2011, *Mycobiology***39**, 20–25.
- [7]. Poojary, H. & Mugeraya, G., 2012, *J. Microbiol. Biotechnol. Res.***2**, 46–56
- [8]. Shahravy, A., Mizani, M., Zamanizadeh, H.R, Bambai, B. & Tabandeh, F., 2012, *Chem. Ind. Chem. Eng. Quarterly***18**, 273–282 .
- [9]. Chesson, A., 1981, *J. Sci. Food Agric.***32**, 745–748.
- [10] Omojasola, P. F., Jilani, O. P. & Ibiyemi, S. A., 2008, *Nature and Science***6**, 64–79.
- [11] Ghose, T. K., 1987, . *Pure & Appl. Chem.***59**, 257–268.
- [12] Paturau, J., 1982, *By-Products of Sugar Cane Industry.*, Elsevier.
- [13] Rezende, C. et al., 2011, *Biotechn. for Biofuels***4**.
- [14] Myers, D. F. & Campbell, R. N., 1985, *Phytopathology***75**, 670–673.
- [15] Mohan, P. R., Kumar, P. V. & Reddy, S. S., 2013, *Turkish Journal of Biochemistry***38**.
- [16] Shaul, O., 2002, Magnesium Transport and Functions in Plants: The Tip of Iceberg. *BioMetals***15**.
- [17] Kavanagh, K., 2011, *Fungi Biology and Applications.*, Wiley-Blackwell.
- [18] Dashtban, M., Mak, M., Leung, K. T., Mao, C. & Qin, W., 2010, *Critical Reviews in Biotechnology***Early Online**, 1–8.

ISBN :978-602-73159-0-7

TANYA JAWAB

PENANYA : Sri Mulyani

Pertanyaan :

- a) Mengapa $MgCl_2$ menurunkan aktivitas selulosa?

Jawaban :

- a) Setiap mineral mempunyai sifat inhibisi pada kadar tinggi terhadap fermentasi. Inhibisi oleh $MgCl_2$ pada kadar $MgCl_2$ tidak terlalu tinggi dapat disebabkan oleh adanya NaCl dalam jumlah yang besar dari sisa proses *pretreatment* yang tidak tercuci. Sehingga penambahan $MgCl_2$ justru menurunkan aktivitas enzim.