

Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Waktu Inkubasi Terhadap Produksi Enzim Selulase Dari *Trichoderma Reesei* Pada Media Sekam Padi

Jasman^{1*}, Gradiana Bete², Kasimir Sarifudin³

^{1,2,3}Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Nusa Cendana

*jasman@staf.undana.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi substrat dan lama inkubasi terhadap pembentukan enzim selulase oleh *Trichoderma reesei* pada media sekam padi. Produksi enzim selulase dari *T. reesei* dilakukan menggunakan media sekam padi yang konsentrasinya dan lama inkubasinya divariasikan. Sebelum digunakan, media sekam padi dihaluskan hingga lolos ayakan 100 mesh lalu diperlakukan dengan larutan NaOH. Sebelum digunakan, isolat *T. reesei* diremajakan pada media PDA selama tujuh hari. Ekstrak kasar enzim selulase yang terbentuk di dalam media cair dipanen dengan cara sentrifugasi dan penyaringan. Selanjutnya, filtrat yang berisi enzim diuji aktivitasnya menggunakan metode DNS dan besarnya aktivitas mengindikasikan besarnya produksi enzim. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA dua arah untuk mengetahui pengaruh kedua variabel bebas baik secara terpisah maupun pengaruh interaksi keduanya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik konsentrasi substrat, lama inkubasi, maupun interaksi keduanya memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan, dengan demikian berpengaruh juga pada produksi enzim pada media sekam padi. Data menunjukkan bahwa lama inkubasi optimal adalah 4 hari sedangkan konsentrasi substrat optimal belum tercapai karena rentang konsentrasi yang digunakan belum mencapai konsentrasi maksimum.

Kata Kunci: Sekam Padi, Enzim Selulase, Aktivitas Enzim

Abstract

This study aims to determine the effect of substrate concentration and incubation duration on the formation of cellulase enzyme by *Trichoderma reesei* on rice husk media. Cellulase enzyme production from *T. reesei* was carried out using rice husk media in which the concentration and length of incubation were varied. Before use, the rice husk media was pulverized to pass a 100 mesh sieve and then treated with NaOH solution. Before use, *T. reesei* isolates were rejuvenated on PDA media for seven days. The crude extract of cellulase enzyme formed in the liquid media was harvested by centrifugation and filtration. Furthermore, the filtrate containing the enzyme was tested for activity using the DNS method and the amount of activity indicated the amount of enzyme production. The data obtained were analyzed using two-way ANOVA to determine the effect of the two independent variables both separately and the effect of their interaction. The results showed that both substrate concentration, incubation duration, and their interaction gave a significant effect on the enzyme activity produced, thus also affecting the enzyme production on the husk media. The data showed that the optimal incubation period was 4 days while the optimal substrate concentration had not been reached because the concentration range used had not reached the maximum concentration.

Keywords: Rice Husk, Cellulase Enzyme, Enzyme Activity

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara agraris yang sebagian besar penduduknya berprofesi sebagai Petani. Salah satu penghasil pertanian adalah padi. Berdasarkan data statistik (BPS) produksi padi pada tahun 2023 adalah sebesar 53,98 juta ton gabah kering giling (GKG) [1]. Salah satu hasil dari produksi padi adalah sekam padi. Sekam padi adalah lapisan keras yang meliputi kariopsis yang terdiri dari dua bentuk daun yaitu sekam kelopak

dan sekam mahkota, Sekam tersusun dari jaringan serat-serat selulosa yang mengandung banyak silika dalam bentuk serabut-serabut yang sangat keras. Hampir seluruh sekam padi yang diproduksi di negara-negara Asia Tenggara dibuang begitu saja sehingga dapat menimbulkan pencemaran lingkungan [2].

Diketahui sekam padi merupakan bahan berlignoselulosa yang memiliki kandungan

selulosa 36%, hemiselulosa 15%, dan lignin 19% [3]. Lignin terbentuk dari fenil propana, unit-unit fenil propana terikat satu dengan lainnya dengan ikatan ester (C-O-C) maupun ikatan karbon-karbon [4]. Lignin bersifat hidrofobik dan melindungi selulosa sehingga strukturnya bersifat kaku (rigid). Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida sedangkan selulosa merupakan homopolisakarida. Selulosa adalah polimer tak bercabang dari glukosa yang dihubungkan melalui ikatan $\beta(1,4)$ atau 1,4 beta glukosida. Molekul lurus dengan unit glukosa rata-rata sebanyak 5000 ini beragregasi membentuk fibril yang terikat melalui ikatan hidrogen di antara gugus hidroksil pada rantai di sebelahnya. Serat selulosa yang mempunyai kekuatan fisik yang tinggi terbentuk dari fibril-fibril ini, tergulung seperti spiral dengan arah-arah yang berlawanan menurut satu sumbu. Selulosa cenderung membentuk mikrofibril melalui ikatan inter dan intra molekuler sehingga memberikan struktur yang kuat. Mikrofibril selulosa terdiri dari 2 tipe, yaitu kristalin dan amorf. Salah satu jenis jamur *Trichoderma* yang dapat mendegradasi selulosa adalah *Trichoderma reesei* [5].

T.reesei adalah jamur mesofilik yang termasuk dalam jenis jamur berbentuk filamen. *T.reesei* merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk mendegradasi lignin. *T.reesei* memiliki kemampuan mensekresikan sejumlah besar enzim selulolitik, seperti selulase dan hemiselulase. Komponen utama dari sistem selulase *T.reesei* adalah kedua jenis enzim selobiohidrolasenya, yaitu CBHI dan CBHII, yang berjumlah total 80 % dari total protein selulase yang dihasilkan [5]. *T.reesei* dapat ditemui hampir semua jenis tanah dan pada berbagai habitat. Jamur ini dapat berkembang biak dengan cepat pada daerah perakaran. *T.reesei* tumbuh pada kisaran suhu optimal 25-32 °C dengan pH 4-5,5. *T.reesei* merupakan kelompok jamur tanah sebagai penghasil selulase yang paling efisien. Selulase adalah nama bagi semua enzim yang memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 di dalam selulosa, sedodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya [6].

Enzim selulase sangat berperan penting dalam industri seperti industri tekstil, industri deterjen, industri makanan dan minuman. Kendala yang terjadi adalah harga enzim selulase di pasaran mahal sehingga tidak efektif jika digunakan untuk skala besar. Selain itu, enzim selulase yang dijual dipasaran memiliki karakteristik yang tidak seragam, yaitu hanya dapat memutus di salah satu bagian rantai saja pada selulosa, sehingga kerja

enzim tidak optimal. Untuk mendapatkan enzim selulase yang dapat meghidrolisis selulosa secara optimal, maka dilakukan produksi enzim selulase yang dimodifikasi [7].

Produksi enzim selulase dipengaruhi oleh beberapa factor diantaranya kandungan karbohidrat bahan baku, waktu, pH, suhu, katalisator, dan konsentrasi substrat. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kontak enzim-substrat yaitu enzim substrat mempunyai spesifitas yang tinggi. Apabila substrat cocok dengan enzim, maka kinerja enzim juga akan optimal. Pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim hanya akan menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang akan bergabung dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim yaitu pada suhu rendah aktivitas enzim kecil karena tumbukan antar partikel rendah kenaikan suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim. Namun, jika suhu melebihi batas optimum enzim dapat mengalami denaturasi atau kerusakan [8]. Suhu optimum untuk menghasilkan enzim selulase dari *Trichoderma sp.* adalah berkisar dari 40- 50 °C namun tidak menutup kemungkinan tetap memiliki aktivitas pada suhu 20-50 °C, karena enzim selulolitik yang dihasilkan *Trichoderma sp.* tergolong dalam golongan mesozim pembentukan glukosa semakin berkurang pula [9].

Penelitian sebelumnya belum melakukan penelitian Pengaruh Konsentrasi Substrat dan suhu terhadap produksi enzim selulase Oleh karena itu, akan dilakukan suatu kajian untuk mengetahui Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Suhu Terhadap Pembentukan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* pada media sekam padi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, alat penggilingan, toples kaca, tabung reaksi, gelas kimia, kertas saring *whatman*, *magnetic stirrer*, bunsen, kawat *ose*, spektrofotometer UV-Vis, lemari pendingin, inkubator, *sentrifuge*, *laminar air flow*, neraca analitik, *autoclave*, *hot plate*, *oven*, pipet tetes, botol kimia 100 mL dan peralatan gelas (gelas kimia dan erlenmeyer).

b. Bahan Penelitian

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *sekam padi*, *aquadest*, *isolat T. reesei*, yeast extract, H₂SO₄, KH₂PO₄, NaOH,

(NH₄)₂SO₄, MgSO₄.7H₂O, FeSO₄.7H₂O, PDA, larutan CMC (*carboxy methyl cellulose*) 1 %, reagen DNS (*dinitro salisilic acid*), Na-K tartrat, Na-metabisulfit, buffer sitrat, *bacteriological peptone*, glukosa p.a dan fenol.

Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu waktu inkubasi dengan variasi 1; 2; 3; 4; dan 5 hari dan konsentrasi substrat dengan variasi 10; 15; 20; dan 25% b/v. Desain tersebut dibuat dalam bentuk tabel seperti pada Tabel 1

Tabel 1. Desain penelitian

Waktu (a)	Konsentrasi Substrat (% b/v) (b)			
	10	15	20	25
1 hari	a1b1	a1b2	a1b3	a1b4
2 hari	a2b1	a2b2	a2b3	a2b4
3 hari	a3b1	a3b2	a3b3	a3b4
4 hari	a4b1	a4b2	a4b3	a4b4
5 hari	a5b1	a5b2	a5b3	a5b4

Prosedur Penelitian

a. Pre-treatment Bahan Baku

1. Penggilingan (*milling*)

Sekam padi yang bersih dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1 hari (dipastikan benar-benar kering). Setelah itu dihancurkan menggunakan alat penggiling dedak dan hasilnya diayak pada ayakan berukuran 100 mesh.

2. Perlakuan Kimia (Basa)

Sekam yang telah dihaluskan selanjutnya direndam dengan NaOH 6 % perbandingan 1 :10 selama 12 jam disaring dan dicuci berulang kali hingga pH netral setelah itu dikeringkan.

b. Persiapan Jamur *T. reesei*

1. Peremajaan

Jamur diambil dengan menggunakan kawat ose yang telah dipijarkan dengan api dengan cara dikerik. Lalu jamur yang telah diambil dengan ose tersebut ditanam dengan cara menggores secara zig-zag pada permukaan media PDA. Jamur diinkubasi pada suhu 37 °C selama 7 hari. Selama pengerjaan dilakukan di *Laminar Air Flow* dalam kondisi aseptis.

b. Penyiapan Inokulum

Larutan nutrisi dibuat dengan mencampurkan 1 L larutan buffer sitrat pH 3,5 dengan 1,0 g ekstrak ragi (*yeast extract*), 1,5 g *bacteriological pepton*; 1,4 g (NH₄)₂SO₄; 2,0 g KH₂PO₄; 0,005 g FeSO₄.7H₂O dan 5 mL. Larutan kemudian diaduk hingga homogen. Dimasukan kedalam autoclave untuk disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah dingin, ke dalam larutan nutrisi

dimasukkan satu jarum ose isolat *T.reesei* kemudian diinkubasi selama tujuh hari.

Produksi Enzim Selulase

a. Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase

Produksi enzim selulase dimulai dengan dicampurkan variasi substrat 10, 15, 20, dan 25, gram per 100 mL campuran substrat dan inokulum bubuk sekam dengan 130 mL larutan nutrisi ke dalam erlenmeyer 250 mL kemudian ditutup dengan kapas steril dan dilapisi aluminium foil, kertas, dan diikat dengan benang. Campuran substrat dan media kemudian disterilkan menggunakan autoclave pada temperatur 121 °C selama 15 menit. Media kemudian didinginkan hingga suhu ruang sebelum proses inokulasi mikroba secara aseptik dilakukan. Spora yang tumbuh di dalam satu tabung reaksi disuspensikan kedalam 1 mL larutan 0,1 % tween 80 kemudian diinokulasikan secara aseptik ke dalam media. Hasil dari proses tersebut kemudian diinkubasi menurut pola Rancangan Acak Lengkap (RAL).

b. Pemanenan Enzim

Enzim dipanen dengan cara disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 4500 rpm pada suhu 4 °C kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring agar terpisah dengan residu padatan [10].

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Penentuan aktivitas enzim selulase dilakukan dengan metode DNS. Sebanyak 1 mL CMC 1 % yang dicampur dengan 0,8 mL buffer natrium sitrat (50mM; pH 5), ditambahkan dengan 0,2 mL ekstrak kasar enzim selulase kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi. Sampel diinkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan reagen 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ke dalam tabung reaksi. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 550 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis [11].

Nilai aktivasi selulase ditentukan berdasarkan persamaan (1).

$$AE = \frac{C}{180.t} \times \frac{H}{E} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

- AE : Aktivitas Enzim (Unit/mL)
- C : Konsentrasi glukosa
- 180 : Massa molekul relatif glukosa
- t : Waktu inkubasi (menit)
- H : Volume substrat (mL)
- E : Volume larutan enzim (mL) [12].

HASIL DAN DISKUSI

Persiapan dan Pretreatment Substrat

Sekam padi diperoleh dari tempat penggilingan padi di Tarus Kabupaten Kupang sebanyak 5 kg. Sekam dibersihkan dari pengotor lalu dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1 hari (dipastikan benar-benar kering) kemudian digiling.



Gambar 1. Sekam yang telah dikeringkan (kiri) dan sekam yang telah dihaluskan (kanan).

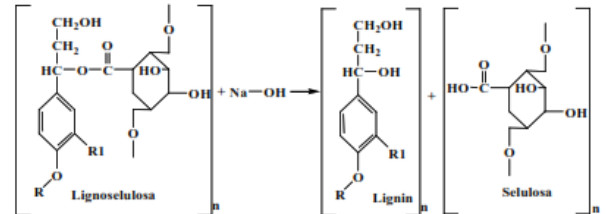
Pretreatment untuk menghilangkan kandungan lignin dilakukan melalui dua cara yaitu perlakuan penggilingan dan perlakuan kimia basa. Lignin perlu dihilangkan karena senyawa ini mengikat selulosa dan hemiselulosa membentuk polimer kristalin yang sulit diurai dan dihidrolisis. Hasil dari perlakuan penggilingan yaitu serbuk sekam dengan ukuran 100 mesh. Tujuan mengecilkan ukuran partikel adalah untuk meningkatkan luas permukaan dan mengurangi kristalinitas selulosa. Pengurangan kristalinitas selulosa berguna untuk memutuskan rantai polimer yang panjang menjadi rantai-rantai polimer yang pendek, meningkatkan aksesibilitas enzim ke permukaan biomassa sehingga reaksi hidrolisis dapat berlangsung lebih efektif dan lebih cepat serta lebih banyak menghasilkan gula.

Hasil dari perlakuan basa adalah setelah serbuk sekam direndam dalam larutan NaOH 6M selama 12 jam maka terjadi perubahan warna serbuk sekam yaitu dari kuning kecoklatan menjadi lebih coklat kehitaman, perubahan warna larutan NaOH dari bening menjadi coklat kehitaman, serta pengurangan massa serbuk sekam.



Gambar 2. Serbuk sekam yang direndam dengan larutan NaOH

Perubahan warna terjadi karena lignin yang terekstraksi keluar memberi warna baik pada larutan maupun pada serbuk sekam. Hal ini membuktikan bahwa lignin yang awalnya bersatu dengan selulosa dan hemiselulosa, setelah direaksikan dengan NaOH berhasil dilepaskan.



Gambar 3. Reaksi lignoselulosa dengan NaOH [12].

Pengurangan massa serbuk sekam setelah diperlakukan dengan NaOH juga diduga karena sebagian komponen ligninnya sudah hilang.

Persiapan *Trichoderma Reesei* dan Produksi Enzim Selulase

Pertumbuhan jamur *T. reesei* pada media PDA ditunjukkan oleh munculnya bercak berwarna putih kehijauan sepanjang bekas goresan jarum ose pada permukaan media.



Gambar 4. Pertumbuhan inokulum *T. reesei* pada media PDA (kiri) dan Pertumbuhan *T. reesei* dalam larutan substrat (kanan).

Berdasarkan pengamatan setelah inkubasi selama 7 hari terdapat biakan jamur berwarna putih agak kehijauan pada bekas goresan jarum ose. Biakan jamur yang tumbuh pada media PDA merupakan biakan jamur *T. reesei* yang sudah tumbuh dengan baik. Secara makroskopis, morfologi jamur *T. reesei* mengalami perkembangan warna koloni dari hari pertama sampai hari ketujuh. Perkembangan warna koloni diawali dengan warna putih, putih agak kehijauan, hijau muda, hijau dan hijau tua [13].



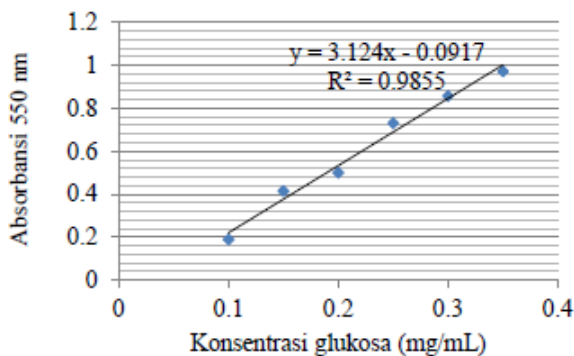
Gambar 5. Larutan ekstrak kasar enzim selulase.

Produksi enzim selulase dilakukan dengan menumbuhkan inokulum *T. Reesei* di dalam campuran antara substrat dan larutan nutrisi. Setelah masa inkubasi, enzim selulase dipanen dan diperoleh ekstrak kasar enzim selulase. Disebut ekstrak kasar karena belum melalui proses pemurnian sehingga tentunya masih bercampur dengan garam-garam dan senyawa lain hasil metabolisme *T. reesei*.

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Untuk menentukan aktivitas enzim, sebelumnya harus ditentukan konsentrasi glukosa hasil hidrolisis selulosa yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Untuk menentukan konsentrasi glukosa dengan metode DNS, diperlukan kurva standar glukosa. Dari kurva standar tersebut, diperoleh persamaan regresi yang nanti akan digunakan untuk menghitung kadar glukosa hasil hidrolisis. Caranya adalah dengan membuat satu seri larutan glukosa standar yang konsentrasinya ditetapkan lalu setiap larutan tersebut direaksikan dengan larutan DNS. Perubahan warna yang terjadi setelah reaksi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Berdasarkan data yang diperoleh, kemudian dibuat persamaan regresi yang nantinya digunakan untuk menghitung konsentrasi glukosa hasil hidrolisis.

Dalam penelitian ini, kurva standar yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kurva standar plot konsentrasi terhadap absorbansi pada 550 nm.

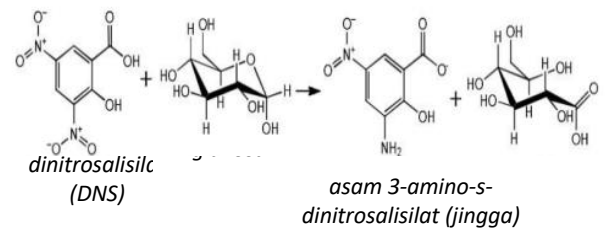
Persamaan regresi yang diperoleh dari kurva standar pada Gambar 6 adalah $Y=3,124X-0,0917$ dengan Y menunjukkan absorbansi (serapan) dan X menunjukkan konsentrasi glukosa (gula reduksi). Oleh karena itu maka dalam penentuan konsentrasi glukosa hasil hidrolisis nanti, konsentrasi glukosa yang dicari dihitung dengan mensubstitusi Y dengan nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran.

Pengukuran kadar glukosa (gula pereduksi) hasil hidrolisis substrat dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase yang diperoleh dari *T. Reesei* pada substrat sekam padi dengan konsentrasi dan waktu inkubasi bervariasi.

Waktu (hari)	Konsentrasi substrat (% b/v)			
	10	15	20	25
1	0,110	0,119	0,127	0,136
2	0,116	0,135	0,164	0,198
3	0,190	0,220	0,248	0,263
4	0,246	0,267	0,313	0,383
5	0,239	0,258	0,296	0,335

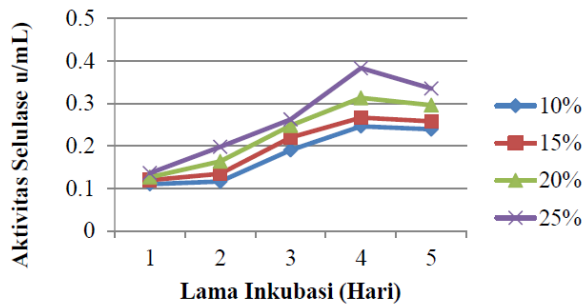
Dalam penentuan aktivitas tersebut, terjadi reaksi antara reagen DNS dengan glukosa menghasilkan senyawa asam 3-amino-s-dinitrosalisilat yang berwarna jingga dan dapat diukur serapannya pada $\lambda = 550$ nm. Makin tinggi konsentrasi senyawa tersebut, makin pekat warna jingga yang dihasilkan dan makin tinggi serapannya terhadap cahaya.



Gambar 7. Reaksi reagen DNS dengan glukosa (gula pereduksi) [14].

Berdasarkan persamaan reaksi tersebut (Gambar 7) dapat diketahui bahwa makin tinggi serapan (absorbansi) yang diperoleh, makin tinggi konsentrasi glukosa di dalam larutan. Tingginya konsentrasi glukosa menunjukkan tingginya aktivitas enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa. Tingginya aktivitas enzim selulase sejalan dengan tingginya konsentrasi enzim selulase yang diproduksi oleh *T. Reesei* pada media sekam padi.

Data Tabel 6 dalam bentuk grafik, dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik aktivitas enzim selulase pada konsentrasi substrat dan lama inkubasi *T. Reesei* bervariasi

Dari Tabel 2 dan Gambar 8, tampak bahwa aktivitas enzim tertinggi dicapai pada konsentrasi substrat 25% dan lama inkubasi 4 hari. Berdasarkan analisis data menggunakan ANOVA dua arah, dipastikan bahwa ada pengaruh signifikan baik dari variabel lama inkubasi maupun dari variabel konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan. Didapatkan pula bahwa ada pengaruh interaksi kedua variabel bebas tersebut terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan.

Dalam rentang konsentrasi substrat yang digunakan, makin tinggi konsentrasi substrat makin tinggi pula aktivitas enzim. Ini menunjukkan bahwa konsentrasi substrat belum jenuh, artinya molekul enzim masih tersedia untuk menghidrolisis substrat yang ditambahkan. Pada konsentrasi substrat 10%, enzim yang dihasilkan masih sangat sedikit sehingga aktivitasnya pun masih rendah. Makin tinggi konsentrasi substrat yang digunakan, makin banyak juga enzim yang dihasilkan sehingga aktivitasnya pun makin meningkat. Gejala ini sesuai dengan hasil penelitian tentang produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* menggunakan sekam padi dan ampas tebu sebagai inducer [15] dan penelitian tentang pengaruh konsentrasi substrat dan suhu terhadap pembentukan enzim selulase dari trichoderma reesei pada media jerami padi [16] yang menunjukkan bahwa kenaikan aktivitas enzim yang dihasilkan sejalan dengan kenaikan jumlah substrat yang digunakan. Pada produksi enzim seperti dalam penelitian ini, kenaikan substrat berarti kenaikan jumlah media pertumbuhan bagi *T. Reesei*. Meningkatnya ketersediaan media pertumbuhan akan meningkatkan juga jumlah sel *T. Reesei* yang selanjutnya akan meningkatkan produksi enzim selulase.

Dari sisi waktu inkubasi, waktu maksimal tercapai pada hari ke-4. Penambahan waktu inkubasi satu hari dan seterusnya menyebabkan aktivitas enzim menurun. Hasil ini hampir sama

dengan yang diperoleh dalam penelitian tentang produksi enzim selulase dari jamur filamen *T. reesei* dan *A. awamori* pada fermentasi terendam dengan jerami padi [17], yaitu produksi maksimal terdapat pada hari ke-4 sampai ke-5 sedangkan hari ke-6 ke atas, produksi enzim sudah menurun. Hasil yang mirip juga ditunjukkan pada produksi enzim selulase dari *A. niger* pada beberapa jenis substrat padat [18]. Sedikit perbedaan pada waktu maksimal dapat disebabkan oleh jenis substrat, jenis jamur, konsentrasi inokulum, dan faktor teknis lainnya. Secara umum, kenaikan produksi enzim yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas berlangsung seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi, tetapi kecenderungan tersebut mencapai puncak pada waktu tertentu. Bila waktu inkubasi ditambah maka produksi enzim tidak bertambah lagi melainkan malah berkurang. Pengurangan ini antara lain dapat disebabkan karena jamur *T. reesei* sudah memasuki fase kematian oleh berkurangnya nutrisi di dalam media, dan atau bertambahnya senyawa inhibitor dari hasil metabolismenya sendiri [19].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa lama inkubasi dan konsentrasi substrat sekam padi berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase yang mengindikasikan produksi enzim selulase oleh *T. reesei*. Lama inkubasi yang optimal dalam penelitian ini adalah 4 hari, sedangkan konsentrasi substrat optimal belum tercapai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada para mahasiswa serta teknisi Laboratorium Pendidikan Kimia dan Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP Universitas Nusa Cendana yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Badan Pusat Statistik, "Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2023 (Angka Tetap)," 2024.
- [2] I. Listiani, R. Bursan, R. Widyastuti, A. Rahmat, and H. Jimad, "Pemanfaatan Limbah Sekam Padi Dalam Pembuatan Arang Sekam di Pekon Bulurejo Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu," *Interv. Komunitas J. Pengabd. Masy.*, vol. 3, no. 1, 2021.
- [3] E. D. Octora, "Pengaruh Lama Inkubasi

- terhadap Degradasi Lignoselulosa pada Jerami dan Sekam Padi Menggunakan Jamur White Rot (*Phanerochaete chrysosporium* & *Schizophyllum commune*),” Universitas Brawijaya, 2016. [Online]. Available: <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/151280>
- [4] G. Luo and L. Xie, “Evaluation of pretreatment methods on mixed inoculum for both batch and continuous thermophilic biohydrogen production from cassava stillage,” vol. 101, no. 3, pp. 2006–2008, 2010.
- [5] D. Paula *et al.*, “Biotechnology for Biofuels Extracellular vesicles carry cellulases in the industrial fungus *Trichoderma reesei*,” *Biotechnol. Biofuels*, pp. 1–14, 2019, doi: 10.1186/s13068-019-1487-7.
- [6] L. R. Lynd, P. J. Weimer, W. H. Van Zyl, and I. S. Pretorius, “Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology,” vol. 66, no. 3, pp. 506–577, 2002, doi: 10.1128/MMBR.66.3.506.
- [7] F. Z. Lini, “Studi teknik produksi etanol dari limbah kulit buah kopi (parchment hull /endocarp) study of ethanol production from coffee pulp (Parchment Hull/Endocarp),” 2015.
- [8] I. Melati, Mulyasari, M. T. D. Sunarno, M. Bintang, and T. Kurniasih, “Produksi enzim selulase dari bakteri ts2b yang diisolasi dari rumput laut dan pemanfaatannya dalam menghidrolisis kulit ubi kayu dan daun ubi kayu sebagai bahan baku pakan ikan,” *Ris. akuakultur*, vol. 9, no. 2, pp. 263–270, 2014.
- [9] B. Seiboth, C. Ivanova, and V. Seidl-seiboth, “*Trichoderma reesei*: A Fungal Enzyme Producer for Cellulosic *Trichoderma reesei*: A Fungal Enzyme Producer for Cellulosic Biofuels,” no. September 2011, 2014, doi: 10.5772/16848.
- [10] P. Wahyuningtyas, B. D. Argo, and W. A. Nugroho, “Studi Pembuatan Enzim Selulase Dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik Pada Produksi Bioetanol,” *J. Bioproses Komod. Trop.*, vol. 1, no. 1, pp. 21–25, 2013.
- [11] S. Kumar and A. K. Pandey, “Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview,” vol. 2013, 2013.
- [12] K. L. Budi, Wijanarka, and E. Kusdiyantini, “Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri *Serratia marcescens* pada substrat jerami,” *J. Biol.*, vol. 7, no. 1, pp. 3–8, 2018.
- [13] A. Purwanto, “Isolasi Jamur Selulolitik *Trichoderma* pada Beberapa Limbah Organik,” vol. 21, no. 15, pp. 42–47, 2020.
- [14] N. E. Wardani, W. A. Subaidah, and H. Muliastari, “Ekstraksi dan Penetapan Kadar Glukomanan dari Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) Menggunakan Metode DNS,” *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 3, no. 3, pp. 383–391, 2021.
- [15] Purkan, H. Purnama, D, and S. Sumarsih, “Cellulase Enzyme Production from *Aspergillus niger* Using Rice Husk and Sugar Cane Bagasses as Inducers,” *J. Ilmu Dasar*, vol. 16, no. 2, pp. 95–102, 2015.
- [16] M. M. Milenium, J. Jasman, and K. Sarifudin, “Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Suhu Terhadap Pembentukan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reesei* pada Media Jerami Padi,” in *Seminar Nasional Pendidikan Dan Sains Kimia*, Kupang, 2023, pp. 126–133.
- [17] L. Naher *et al.*, “Cellulase Enzyme Production from Filamentous Fungi *Trichoderma reesei* and *Aspergillus awamori* in Submerged Fermentation with Rice Straw,” *J. Fungi*, vol. 868, no. 7, pp. 1–11, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/jof7100868>.
- [18] S. B. Ariyani, Asmawit, and P. P. Utomo, “Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat,” *Biopropal Ind.*, vol. 5, no. 2, pp. 61–67, 2014.
- [19] T. A. Prayitno and N. Hidayati, *Pengantar Mikrobiologi*, 1st ed., no. October. Media Nusa Creative, 2019.