

**Aktivitas Jamur *Trichoderma viride* pada Substrat Pasta Tepung Kulit  
Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*)**

***Fungi Activity of Trichoderma viride in Substrat of Rind Powder Paste of  
Rambutan ( Nephelium lappaceum)***

Rukhil Lailah<sup>1 \*)</sup>, Ahmad Syauqi, <sup>2 \*\*)</sup>, Hari Santoso<sup>3</sup>  
<sup>123</sup> Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Indonesia

**ABSTRAK**

Selulosa yang cukup tinggi didalam kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum*) sebesar 24,28%. Namun, pemanfaatan kulit buah rambutan masih jarang dilakukan dan cenderung menjadi limbah pertanian. Penelitian ini menggunakan kulit buah rambutan untuk produksi glukosa secara fermentasi dengan jamur *Trichoderma viride*. Tujuan penelitian ini untuk mempelajari pH substrat dan waktu fermentasi dalam menghasilkan nilai glukosa tertinggi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok dengan ulangan kategori waktu fermentasi; 0, 3, 6, dan 9 hari dan dua ulangan unit penelitian untuk masing masing perlakuan, diambil rata-rata sehingga berjumlah 12 unit penelitian. Data dianalisis dengan ANOVA  $\alpha = 0,95\%$  serta uji regresi polinomial. Penentuan kadar glukosa dengan metode sulfat fenol dengan teknik spektrofotometer UV-sinar tampak. Perlakuan pH tidak mempunyai pengaruh kepada aktivitas jamur dan pH substrat dengan aktivitas *Trichoderma viride* tertinggi pada pH 5. Waktu fermentasi optimum dalam menghasilkan glukosa pada jam ke 112,104 menghasilkan 38.552 mg/mL.

**Kata kunci:** Kulit buah rambutan, *Trichoderma viride*, Selulosa,

**ABSTRACT**

The rind of rambutan (*Nephelium lappaceum*) fruit there is a cellulosa high contain of 24,28%. However, the utilization of rambutan rind is still rare and tends to become agricultural waste. This research used rambutan's rind for glucose production in fermentation with *Trichoderma viride* fungi. The aim of this research is to study the pH of substrate and fermentation time in producing the highest value of glucose. This research is an experimental study with Randomized Block Design with replications of fermentation time category; 0, 3, 6, and 9 days and two replicates of research unit. Analyzed data with ANOVA  $\alpha = 0,95\%$  and polynomial regression test. Determination of glucose was used phenol sulphate method with UV-vis spectrophotometer technique. pH treatments do not have effect toward fungi activity and pH of substrate with high activity of *Trichoderma viride* is on pH 5. The optimum fermentation time in producing glucose is 112,104 hours produce 38.552 mg/mL.

**Keywords:** Rind of rambutan fruit, *Trichoderma viride*, cellulosa

---

\*) Rukhil Lailah, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144, +6285785784752 email: [lailahruchil58@gmail.com](mailto:lailahruchil58@gmail.com)

\*\*) Ir. Ahmad Syauqi, M.si, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144, +628986307836 e-mail: [syauqi.fmipa@unisma.ac.id](mailto:syauqi.fmipa@unisma.ac.id).

Diterima Tanggal 2 Agustus 2017 – Publikasi pada 5 Oktober 2017

## Pendahuluan

Rambutan merupakan tanaman asli Indonesia dari family *Spindaceae*. Buah memiliki kandungan kimia yang penting untuk tubuh seperti protein, karbohidrat, kalsium serta vitamin C [1]. Berdasarkan penelitian [2], biji rambutan mengandung zat penurun gula darah pada penderita kencing manis. Sedangkan kandungan yang dimiliki serat kulit rambutan mengandung selulosa, lignin, etanol, dan hemiselulosa,.

Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan  $\beta$ 1,4-glukosida dalam rantai lurus panjang yang terhubung oleh ikatan hydrogen dan gaya van der wals [3]. Banyak limbah pertanian yang mengandung selulosa dapat menggantikan bahan pati dalam proses fermentasi untuk menjadi sumber gula. *Trichoderma viride* adalah jamur yang menghasilkan selulase. enzim yang diperoleh dari tanaman, hewan dapat digunakan untuk hidrolisis selulosa. *Trichoderma viride* adalah golongan jamur selulolitik penghasil glukosa yang cukup baik [4]. Aktivitas enzim yang dimiliki tinggi sehingga mampu menghasilkan rendemen gula yang cukup baik. Berdasarkan penelitian [5], jamur *Trichoderma viride* menghasilkan glukosa yang cukup tinggi yaitu sebesar 0,5676 % pada proses hidrolisis selulosa batang pisang.

Dalam melakukan aktiviatsnya sebagai penghasil enzim selulase, *Trichoderma viride* dipengaruhi beberapa faktor seperti temperature, pH, nutrient, agitasi, dan waktu fermentasi. Penelitian ini dimaksudkan untuk memanfaatkan limbah kulit buah rambutan sebagai sumber selulosa yang dihidrolisis oleh *Trichoderma viride* untuk menghasilkan glukosa dengan variasi pH dan waktu fermentasi sehngga dihasilkan data pH dan waktu fermentasi optimum hidrolisis substrat pasta kulit buah rambutan oleh *Trichoderma viride*. Hasil aktivitas jamur adalah glukosa dan pengukurannya menggunakan metode sulfat fenol [6]. Tujuan penelitian ini untuk mempelajari pH substrat dan waktu fermentasi dalam menghasilkan nilai glukosa tertinggi.

## Material dan Metode

### Bahan dan Alat

Bahan serbuk PCA kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum*), isolat *Trichoderma viride*, glukosa standart,,  $H_2SO_4$ , aquades, HCL 10 %, fenol kristal, dan alkohol 70%.

Alat digunakan sebagai berikut: timbangan, pipet, gelas ukur, blender, autoclave, besek bambu, aluminium foil, plastic klip, cawan petri, gelas beaker, jarum ose, piasu, pH meter, Bunsen, spatula, incubator, mikroskop, refraktofotometer, spektrofotometer UV-sinar tampak dan asesorisnya.

### Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Variabel bebas adalah pH dan variabel tergantung kadar glukosa hasil fermentasi. Ulangan kategori waktu yaitu 0, 3, 6, dan 9 hari dan ulangan unit penelitian 2 kali untuk masing masing perlakuan diambil rata-rata sehingga berjumlah 12 unit penelitian [7]. Data dianalisis dengan metode rancangan acak kelompok (RAK) berdasarkan uji *two way ANOVA without replication* dan  $\alpha = 0,95\%$  ( $P = 0,05$ ) aplikasi Excel sistem operasi Windows dan uji regresi polinomial yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara faktor dependen (kadar glukosa) dengan faktor independen (waktu fermentasi dan nilai pH).

### Cara Kerja

**Pembuatan Media PCA dan Peremajaan Isolat *Trichoderma viride*** : Serbuk PCA ditimbang sebanyak 6,75 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer yang sudah berisi aquades 300 ml dilarutkan dan diaduk hingga homogen dengan magnetic stirrer. Campuran ditunggu hingga menjadi bening dan

tidak keruh. Kemudian dimasukkan kedalam autoclave selama kurang lebih 15 menit dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm untuk sterilisasi.

Penanaman biakan isolat murni jamur *Trichoderma viride* dilakukan dengan jarum ose aseptis kedalam media PCA dalam cawan petri dan diinkubasi selama 6 hari pada suhu ruang. Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil satu cawan biakan murni umur 6 hari kedalam media agar miring berisi PCA yang sudah disiapkan sebelumnya. Spora biakan murni *Trichoderma viride* ditumbuhkan dengan cara menggores permukaan media (1 ose pertabung) dan ditunggu sampai umur 7 hari. Peremajaan *Trichoderma viride* dilakukan dengan tujuan agar jamur yang digunakan masih aktif (hidup) dan tidak mati. Selain itu, juga dilakukan streak dengan mengambil koloni yang ada ke media PCA yang lainnya untuk mendapatkan koloni tunggal yang siap untuk diinokulasi kedalam media

**Pembuatan Sampel Kulit Rambutan:** Limbah kulit rambutan dimasukkan oven pada suhu 40 °C hingga kering, digiling dengan blender kopi hingga menghasilkan tepung, diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Masing masing perlakuan diambil 3 gram, ditambah aquades yang sudah diatur nilai pHnya (pH 4, 5, dan 6) sebanyak 7 mL sampai menjadi pasta. Kemudian ditambahkan *Trichoderma viride* yang sudah disuspensikan kedalam 5 mL aquades steril hingga menjadi pasta

**Fermentasi Kulit Rambutan:** Sampel yang sudah diatur nilai pHnya difermentasi pada suhu ruang selama 0, 3, 6, dan 9 hari pada plastik klip yang digunting ujungnya dan diletakkan dalam besek bambu. Setelah difermentasi sesuai waktu yang telah ditentukan, besek bambu dibuka diambil sampelnya dan dianalisis.

**Analisa Glukosa dengan Metode Sulfat Fenol:** Sampel hasil fermentasi didalam plastik klip ditimbang sebanyak 1 gram diencerkan dalam 99 mL aquades, diaduk dan dibiarkan mengendap. Diambil 1 mL dan dilarutkan kembali dalam 99 mL aquades, 1 mL larutan diambil dan diletakkan dalam tabung rekasi, ditambahkan dengan ditambahkan 1 mL fenol 0,05 g/mL dan 5 mL asam sulfat pekat (98%). Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-vis panjang gelombang 470 nm pada masing masing tabung reaksi. Penentuan kadar glukosa didapatkan dari nilai absorbansi yang diperoleh dengan menggunakan glukosa standar.

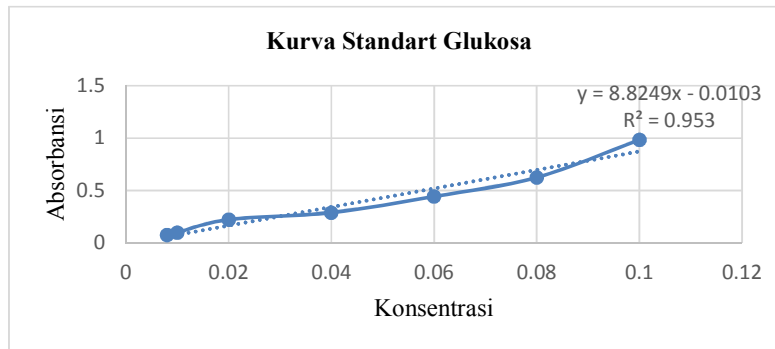
## Hasil dan Diskusi

Pengujian glukosa menggunakan metode sulfat fenol memiliki prinsip bahwa gula sederhana dan oligosakarida yang bereaksi dengan fenol menghasilkan warna jingga kekuningan. didalam asam sulfat pekat. Penentuan kadar glukosa dengan membuat kurva standar glukosa berfungsi untuk mengetahui konsentrasi larutan beserta absorbansinya. Glukosa merupakan salah satu jenis karbohidrat penting yang termasuk dalam golongan gula pereduksi dan merupakan bahan bakar bagi sel tubuh manusia [8].

Grafik gambar 1. pengukuran glukosa standar yang sesuai dengan hukum *Lambert Beer* dengan rumus  $A = bc$ . Nilai absorbansi yang didapatkan sebanding lurus dengan konsentrasi glukosa yang diperiksa. Warna larutan standar glukosa berubah dari tidak berwarna menjadi berwarna kecoklatan. Hal ini dikarenakan asam sulfat pekat ketika direaksikan dengan fenol dan glukosa akan menghasilkan panas yang menyebabkan glukosa terhidrasi menjadi senyawa hidrosimetil furfural. Nilai absorbansi suatu larutan dipengaruhi oleh konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasi larutan, semakin tinggi pula nilai absorbansinya.

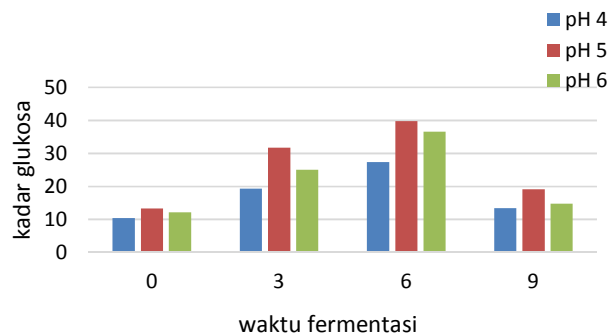
Pada proses pretreatment, kulit buah rambutan dijadikan serbuk dengan tujuan untuk memecah matriks karbohidrat penyusun dinding sel. Proses hidrolisis dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah ukuran partikel [9]. Pemisahan selulosa dan lignin serta perluasan permukaan dapat dilakukan dengan cara menghancurkan struktur substrat sehingga terjadi kontak langsung antara enzim yang dihasilkan *Trichoderma viride* dengan substrat [10]. Penghancuran struktur substrat dapat

memisahkan selulosa dan lignin serta memperluas permukaan, sehingga selulosa dan lignin akan terpisah dan kontak langsung dengan enzim yang dihasilkan *Trichoderma viride* [10]. Karena jamur itu mudah mendegradasi kandungan selulosa yang tidak berikatan dengan lignin [11]. Selain itu, kadar glukosa yang tinggi pada awal fermentasi disebabkan karena adanya glukosa hasil dari preparasi secara mekanik, yaitu *dry milling* yang mana penghancuran sampel terjadi dalam keadaan kering [12].



Gambar 1. Grafik Absorbansi Glukosa Standart

Gambar 2. Menunjukkan bahwa kadar glukosa pada hari ke-0 sampai hari ke-6 terus mengalami kenaikan dan pada hari ke-9 mengalami penurunan. Dari semua perlakuan hari, kadar glukosa terendah diperoleh pada hari ke-0 dan kadar glukosa tertinggi diperoleh pada hari ke-6. Hal ini sesuai dengan penelitian, menyatakan bahwa kadar gula pereduksi tertinggi pada waktu inkubasi 6 hari dengan menggunakan substrat CMC 5% [13]. Selulosa pada pasta kulit rambutan merupakan substrat utama yang dibutuhkan sebagai sumber karbon untuk memperoleh energi, untuk pertumbuhan dan membentuk enzim selulase, selain itu juga untuk mensintesis gugus glukosa sebagai hasil dari produk metabolit. Adanya aktivitas enzim selulase menyebabkan penambahan kadar glukosa dalam media fermentasi. Pada awal fermentasi, glukosa pada substrat digunakan oleh *Trichoderma viride* untuk pertumbuhannya dan belum memulai proses pendegradasian karena glukosa yang dibutuhkan masih tersedia didalam substrat.

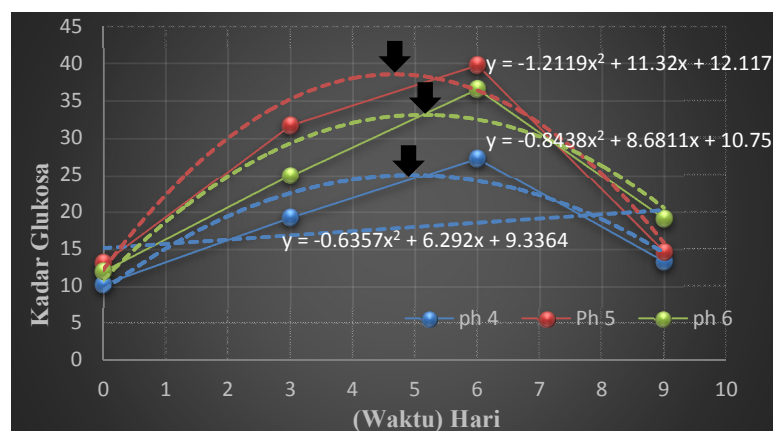


Gambar 2. Grafik hubungan rerata kadar glukosa dan waktu fermentasi pada beberapa perlakuan pH

*Trichoderma viride* memiliki sistem enzim selulolitik yang terdiri dari tiga kelompok yaitu endoglukanase, eksoglukanase,  $\beta$ -glukosidase. Enzim-enzim tersebut bekerja secara sinergis dalam proses hidrolisis glukosa dari selulosa [11]. Selain sebagai penghasil selulosa yang lengkap, *Trichoderma viride* juga sebagai penghasil enzim xyloglukanolitik [14]. Keberadaan enzim ini akan mempermudah dalam pemecahan selulosa oleh enzim selulolitik. Penurunan kadar glukosa ini disebabkan oleh fase stasioner yang dialami oleh *Trichoderma viride*. Fase stasioner terjadi apabila pembelahan diri sel berhenti, atau bila sel hidup dan sel mati keseimbangannya telah tercapai [15]. Meskipun pertumbuhan telah berhenti, proses metabolisme kemungkinan masih terjadi dan produk masih mengalami penimbunan. Hal ini yang menyebabkan kadar gula yang terukur mengalami penurunan selain juga karena ketersediaan substrat selulosa yang semakin berkurang.

Perlakuan pH yang paling optimal untuk aktivitas menghidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah pH 5, kespesifikan suatu enzim dipengaruhi oleh pH (gambar 2), karena aktivitas paling tinggi dari suatu enzim terjadi pada lingkungan dengan nilai pH tertentu [16]. Hal ini dimungkinkan bahwa pada pH tersebut mikroba selulolitik menggunakan glukosa untuk pertumbuhannya sehingga pembentukan glukosa berlangsung dengan cepat. Jamur penghasil selulase memiliki pH optimum yang umumnya bersifat asam yaitu berkisar antara 4.5 - 6.5 [17]. Enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah (asam) maupun pH yang terlalu tinggi (basa). Pada saat enzim berada pada pH yang terlalu asam atau basa, enzim akan terdenaturasi yang menyebabkan sisi aktif enzim terganggu [2].

Perbedaan pH tidak menunjukkan pengaruh nyata pada kadar glukosa. Sedangkan untuk perlakuan hari memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar glukosa ( $\alpha=0,05$ ). Hasil analisis ragam menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa antara perlakuan pH dan waktu fermentasi tidak ada interaksi. Penggunaan derajat keasaman yang berbeda ternyata masih dapat mempertahankan pH media untuk kelangsungan proses fermentasi. Perlakuan pH 4, pH 5, dan pH 6 adalah kisaran pH optimum untuk aktivitas jamur penghasil selulase. Enzim selulase dalam *Trichoderma viride* seperti endoglukanase maupun eksoglukanase memiliki komponen asam amino yang sifat asamnya paling dominan. Asam amino asam glutamat dan aspartat yang terkandung didalam endoglukanase dan eksoglukanase masing-masing sekitar 19.6 % dan 20.9% [17]. Oleh karenanya jamur lebih stabil bekerja pada rentang pH asam karena pengaruh komposisi enzim dan asam aminonya.



Gambar 3. Persamaan regresi polinomial terhadap kadar glukosa

Pada Gambar 3 dapat diketahui bahwa pada saat pH 4 waktu yang dibutuhkan *Trichoderma viride* untuk menghasilkan glukosa maksimum adalah 4,949 hari (118,776 jam) dengan perolehan glukosa sebesar 24,905 mg/mL. Untuk perlakuan pH 5 waktu fermentasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan glukosa selama 4,671 (112,104 jam) sebesar 38,552 mg/mL. Dan pada perlakuan pH 6 waktu fermentasi yang dibutuhkan adalah 5,134 sebanyak 33,048 mg/mL. Pengaruh pH yang terlalu asam yaitu pada perlakuan pH 4 dalam mereduksi gula sangat rendah, karena keadaan yang terlalu asam membuat *Trichoderma viride* tidak mampu menghidrolisis glukosa secara optimal selama proses fermentasi. Sampel dengan pH 5 menghidrolisis glukosa sangat tinggi. [18], menyatakan bahwa aktifitas selulase yang diperoleh khusus untuk *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* menunjukkan aktivitas optimum pada pH 4,5-5,5. Pada perlakuan pH 6 waktu yang dibutuhkan lebih lama dari perlakuan pH yang lain, karena substrat sudah sedikit dan enzim mempunyai aktivitas yang lebih tinggi pada pH asam bila dibandingkan pH netral, dan pH 6 adalah pH yang paling mendekati netral.

## Kesimpulan

Substrat pasta tepung kuli buah rambutan dapat digunakan sebagai sumber karbon dalam media fermentasi *Trichoderma viride* serta aktivitas tertinggi *Trichoderma viride* dalam menghidrolisis selulosa dari kulit buah rambutan pada pH 5 dan waktu optimum fermentasi menghasilkan glukosa pada hari ke-4,671 (112,104 jam) sebesar 38,552 mg/mL

## Daftar Pustaka

- [1] Dalimartha, S. 2005. *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Puspa Swara. Jakarta.
- [2] Safaria S., Idiawati, N., dan Marlissa, T. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari *Aspergillus Niger* dan *Trichoderma Reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, **2** (1): 46-51.
- [3] Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose.
- [4] Pelczar, J. Michael dan Chan E.C.S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- [5] Kamara, D.S., Rachman, S.D., dan Gaffar, S. 2006. Degradasi Enzimatis Selulosa dari Batang Pohon Pisang Untuk Produksi Enzim Selulase dari Kapang *Trichoderma viride*, Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjajaran. Bandung.
- [6] Syauqi, A. 2008. Membetuk Konsorsium Jamur *Aspergillus niger*, *Trichoderma sp*, *Hansenula sp*, *Candida sp*, *Saccharomyces cerevisiae* Untuk Produksi Alkohol dari Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz). Laporan Penelitian DITJEN DIKTI. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang. Malang.
- [7] \_\_\_\_\_. 2015. *Biostatistika Kuantifikasi Parameter Statistika*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Islam Malang (UNISMA). Malang.
- [8] Marks. Dawn B, Marks, A.D. And Smith, C.M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis* (Alih Bahasa: Brahm U, P; Editor edisi bahasa Indonesia, Joko Suyono, Vivi Sadikin, Lydia I, Mandera). EGC. Jakarta.
- [9] Widowati, S. 2001. *Prospek Tepung Sukun Untuk Berbagai Produk Makanan Olahan dalam Upaya Menunjang Diversifikasi Pangan*. BB Pascapanen. Bogor.
- [10] Taherzadeh, M. J. dan Karimi, K. 2008. Perlakuan awal of Lignocellulosic to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *Int. J. Mol. Sci* **9**:1621-1651.

- 
- [11] Murni, A, Supardjo, dan Ginting. 2008. *Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah Untuk Pakan, Laboratorium Makanan Ternak*. Fakultas Peternakan. Universitas Jambi. Jambi.
- [12] Chaplin, M. 2006. Starch. Tanggal Akses 12 juli 2017. URL:<http://www.lsbu.ac.uk/starch.htm>
- [13] Aulani'am, B.C.Warsito, A.P. dan Mahdi, C. 1997. Optimasi medium shake flask culture untuk produksi enzim selulase *T.viride* bebas & amobil. *Journal penelitian ilmu teknik*. **9**:25 – 34.
- [14] Tribak, M., Ocampo, J.A. dan Garcia-Romera, I. 2002. Production of Xyloglucanolytic Enzymes By *Trichoderma viride*, *Paecilomyces Farinosus*, *Wardomyces Inflatus*, and *Pleurotus Ostreatus*, *Mycoologia*. **3**:404-410.
- [15] Yudoamijoyo, M., Darwis, A.A. dan. Sa'id, E. G. 1992. Teknologi Fermentasi. Penerbit Rajawali Press Dengan Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institute Pertanian Bogor. Jakarta.
- [16] Sadikin.M. 2002. *Biokimia Darah*. Wydia Medika. Jakarta.
- [17] Hakansson, U., Fagerstam, L.G., Pettersson, L.G. & Andersson, L. 1979. A 1,4- $\beta$ - glucan glucanohydrolase from the cellulolytic fungus *Trichoderma viride* QM 9414. *J. Eur. Biochem*. **179**:141-149.
- [18] Kulp, K. 1975. Carbohydrase dalam G. Reed (ed.). *Enzyme in Food Processing*. Academic Press, New York.