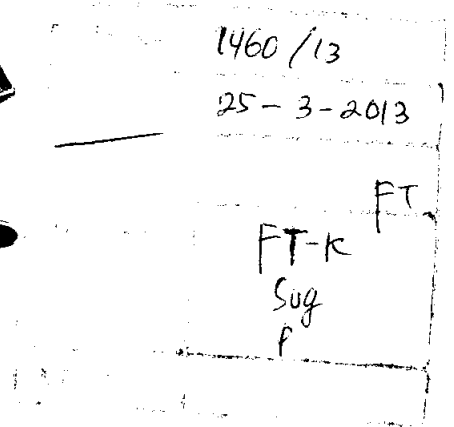


# SKRIPSI

## PEMBUATAN ENZIM SELULASE DARI TONGKOL JAGUNG MENGGUNAKAN *Trichoderma reesei*



Diajukan Oleh :

EKO SUGIARTO

NRP. 5203003015

SOE CARMELITA. M.

NRP. 5203003016

JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA  
SURABAYA  
2007

# LEMBAR PENGESAHAN

Seminar **Skripsi** bagi mahasiswa tersebut di bawah ini :

1. Nama : Eko Sugiarto            NRP : 5203003015

2. Nama : Soe Carmelita M.    NRP : 5203003016

telah diselenggarakan pada tanggal 21 Maret 2007, karenanya yang bersangkutan dapat dinyatakan telah memenuhi sebagian persyaratan kurikulum guna memperoleh gelar

**Sarjana Teknik** jurusan **Teknik Kimia**.

Surabaya, 2 April 2007

Pembimbing I

Aylianawati, ST.,MSc., PhD  
NIK. 521.96.0242

Ketua

Pembimbing II

Ery Susiany Retnoningtyas, ST., MT  
NIK. 521.98.0348

Sekretaris

Aylianawati, ST.,MSc., PhD  
NIK. 521.96.0242

Anggota

Anggota

Lydia Felycia Edi Soetaredjo, S.T., MPhil  
NIK. 521.99.0391

Antaresti, S.T., MEngSc.  
NIK. 521.99.0396

Mengetahui,

Fakultas Teknik  
Dekan

Jurusan Teknik Kimia  
Ketua

Ir. Rasional Sitepu, MEng  
NIK. 511.89.0154

Ir. Suryadi Ismadji, MT., PhD  
NIK. 521.93.0198

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini kami menyatakan bahwa laporan skripsi ini betul-betul hasil karya kami sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain, baik sebagian maupun seluruhnya kecuali dinyatakan dalam teks. Seandainya diketahui bahwa laporan skripsi ini ternyata merupakan hasil karya orang lain, maka kami sadar dan menerima konsekuensi bahwa laporan skripsi ini tidak dapat kami gunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik.

Surabaya, 2 April 2007



Eko Sugiarto  
5203003015



Soe Carmelita M.  
5203003016

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan bimbinganNya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian laboratorium yang berjudul “Pembuatan Enzim Selulase dari Tongkol Jagung Menggunakan *Trichoderma reesei*”. Laporan ini merupakan salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Kimia (S1) di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.

Penyusun menyadari bahwa laporan ini terlaksana berkat bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, penyusun mengucapkan terima kasih kepada :

1. Aylianawati, ST., MSc., PhD dan Ery Susiany Retnoningtyas, ST., MT. selaku selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II, yang telah banyak membimbing, memberi pengarahan dan masukan kepada penyusun.
2. Lydia Felycia Edi Soetaredjo, ST., MPhil, Ir. Nani Indraswati, dan Antaresti, ST., MEngSc., selaku penguji.
3. Bapak Novi, Bapak Pudjo dan Bapak Agus selaku laboran;
4. Orang tua kami yang telah memberikan bantuan materi, moral, dan juga doa;
5. Semua pihak yang telah membantu sejak awal penelitian sampai terselesaikannya laporan ini.

Penyusun menyadari bahwa laporan ini masih kurang, oleh karena itu penyusun menerima kritik dan saran yang bersifat membangun guna memperbaiki laporan ini. Akhirnya penyusun berharap agar laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 30 Maret 2007

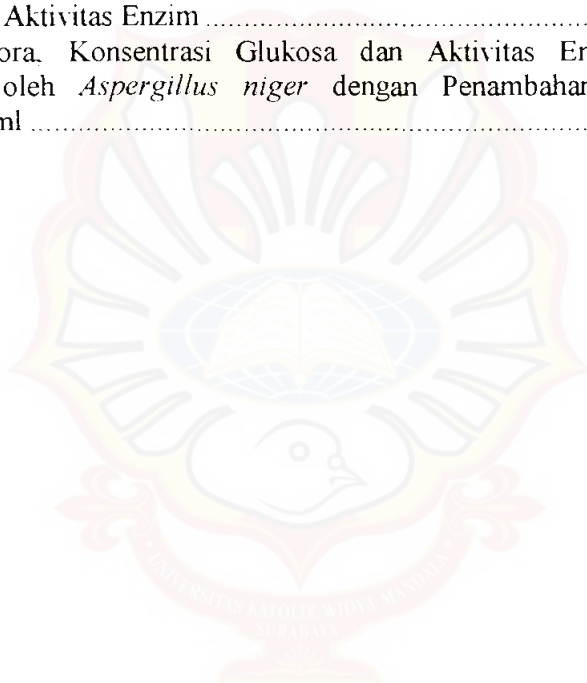
Penyusun

**DAFTAR ISI**

Lembar Judul .....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Lembar Pernyataan .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
Daftar Isi .....	v
Daftar Tabel .....	viii
Daftar Gambar .....	xi
Abstract .....	xiii
Intisari .....	xiv
Bab I. Pendahuluan .....	I-1
I.1. Latar Belakang .....	I-1
I.2. Rumusan Masalah .....	I-2
I.3. Tujuan Penelitian .....	I-2
I.4. Batasan Masalah .....	I-3
Bab II. Tinjauan Pustaka .....	II-1
II.1. Jagung .....	II-1
II.2. <i>Trichoderma reesei</i> .....	II-4
II.3. Enzim .....	II-8
II.3.1. Enzim Selulase .....	II-10
II.3.2. Aktivitas Enzim .....	II-12
II.4. Selulosa .....	II-12
II.5. CMC ( <i>Carboxymethyl cellulose</i> ) dan <i>Filter Paper</i> (FP) .....	II-14
II.6. Glukosa .....	II-15
II.7. <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) .....	II-15
II.8. Sumber Nutrien Sel .....	II-17
II.8.1. Makronutrien .....	II-17
II.8.2. Mikronutrien .....	II-18
II.9. Penelitian tentang Enzim Selulase .....	II-19
Bab III. Metodologi Penelitian .....	III-1
III.1. Rancangan Penelitian .....	III-1
III.2. Bahan .....	III-3
III.3. Alat .....	III-4
III.4. Prosedur Penelitian .....	III-5

III.4.1. Pembibitan <i>Trichoderma reesei</i> .....	III-5
III.4.2. Pembuatan Serbuk Tongkol Jagung ( <i>untreated</i> ).....	III-5
III.4.3. <i>Pretreatment</i> Tongkol Jagung.....	III-6
III.4.4. Fermentasi Enzim Selulase Menggunakan <i>Trichoderma reesei</i> ....	III-7
III.4.5. Ekstraksi Enzim.....	III-8
III.5. Analisa Hasil Fermentasi.....	III-8
III.5.1. Perhitungan Jumlah Spora dengan Hemasitometer.....	III-8
III.5.2. Penentuan Aktivitas <i>Crude Enzim</i> Selulase.....	III-9
Bab IV. Hasil Penelitian dan Pembahasan.....	IV-1
IV.1. Pengaruh <i>Pretreatment</i> dan Penambahan Volume Nutrien terhadap Jumlah Spora.....	IV-1
IV.2. Pengaruh <i>Pretreatment</i> dan Penambahan Volume Nutrien terhadap Konsentrasi Glukosa Setelah Hidrolisa.....	IV-4
IV.3. Pengaruh <i>Pretreatment</i> dan Penambahan Volume Nutrien terhadap Aktivitas Enzim.....	IV-8
IV.4. Perbandingan Jumlah Spora, Konsentrasi Glukosa, dan Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan oleh <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i> .....	IV-11
Bab V. Kesimpulan dan Saran.....	V-1
V.1. Kesimpulan.....	V-1
V.2. Saran.....	V-1
Daftar Pustaka.....	P-1
Lampiran A. Pembuatan Larutan.....	A-1
A.1. Pembuatan Larutan DNS 1% untuk metode CMC-ase.....	A-1
A.2. Pembuatan Larutan Kalium Natrium Tartrat 40%.....	A-1
A.3. Pembuatan Nutrien.....	A-1
A.4. Pembuatan Larutan Tween 80 0,01%.....	A-2
A.5. Pembuatan Larutan Buffer Asetat dengan pH 4,8.....	A-2
A.6. Pembuatan Larutan CMC 1%.....	A-3
A.7. Pembuatan Larutan NaOH 0,25 N.....	A-3
A.8. Pembuatan Larutan HCl 0,1 N.....	A-3
A.9. Pembuatan Larutan H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ± 0,2561 N.....	A-3
A.10. Pembuatan Larutan NaOH 0,313 N.....	A-4
A.11. Pembuatan Larutan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,255 N.....	A-4
A.12. Pembuatan Larutan K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%.....	A-4
Lampiran B. Analisa Bahan Baku.....	B-1
B.1. Analisa Kadar Air.....	B-1
B.2. Analisa Kadar Abu.....	B-1
B.3. Analisa Kadar Protein ( Metode Kjeldahl ).....	B-2
B.4. Analisa Kadar Lemak.....	B-4
B.4.1. Persiapan sampel.....	B-4
B.4.2. Prosedur analisa.....	B-5
B.5. Analisa Kadar Selulosa.....	B-6

Lampiran C. Kurva Standar Glukosa (Metode DNS).....	C-1
Lampiran D. Kurva Pertumbuhan dari <i>Trichoderma reesei</i> pada <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB).....	D-1
D.1. Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB).....	D-1
D.2. Pembuatan Kurva Pertumbuhan <i>Trichoderma reesei</i> .....	D-1
Lampiran E. Data Penelitian .....	E-1
E.1. Perhitungan Jumlah Spora dengan Hemasitometer .....	E-1
E.2. Absorbansi untuk Pengukuran Konsentrasi Glukosa Sebelum dan Setelah Aktivitas Enzim (Metode CMC-ase).....	E-2
E.3. Absorbansi untuk Pengukuran Konsentrasi Glukosa Sebelum dan Setelah Aktivitas Enzim (Metode FP-ase) .....	E-4
Lampiran F. Analisa Data.....	F-1
F.1. Perhitungan Jumlah Spora.....	F-1
F.2. Perhitungan Konsentrasi Glukosa.....	F-2
F.3. Perhitungan Aktivitas Enzim .....	F-4
F.4. Jumlah Spora, Konsentrasi Glukosa dan Aktivitas Enzim yang Dihasilkan oleh <i>Aspergillus niger</i> dengan Penambahan Volume Nutrien 15 ml .....	F-6



**DAFTAR TABEL**

Tabel II.1.	Komposisi jagung (dalam 100 gram) .....	II-4
Tabel II.2.	Aplikasi enzim dalam industri kimia.....	II-10
Tabel II.3.	Sifat fisika dan kimia dari glukosa .....	II-15
Tabel II.4.	Penelitian tentang enzim selulase.....	II-20
Tabel III.1	Komponen tongkol jagung masmadu .....	III-3
Tabel IV.1.	Aktivitas maksimum antara <i>T.reesei</i> dan <i>A.niger</i> .....	IV-12
Tabel IV.2.	Komponen enzim selulase hasil fermentasi dengan <i>T.reesei</i> dan <i>A.niger</i> .....	IV-13
Tabel B.1.	Kadar air dari berbagai macam <i>pretreatment</i> .....	B-1
Tabel B.2.	Kadar abu dari berbagai macam <i>pretreatment</i> .....	B-2
Tabel B.3.	Volume larutan NaOH untuk pembakuan larutan standar $H_2C_2O_4$ .....	B-3
Tabel B.4.	Volume larutan NaOH 0,25 N untuk menitrasi sampel dalam penentuan kadar protein.....	B-4
Tabel B.5.	Kadar protein dari berbagai macam <i>pretreatment</i> .....	B-4
Tabel B.6.	Kadar lemak dari berbagai macam <i>pretreatment</i> .....	B-5
Tabel B.7.	Kadar selulosa dari berbagai macam <i>pretreatment</i> .....	B-7
Tabel C.1.	Hasil pengukuran absobansi glukosa pada berbagai panjang gelombang .....	C-3
Tabel C.2.	Absorbansi glukosa pada panjang gelombang 517 nm dengan metode DNS .....	C-4
Tabel D.1.	Hubungan antara waktu pertumbuhan dan jumlah spora.....	D-1
Tabel E.1.	Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk <i>untreated</i> tongkol jagung .....	E-1
Tabel E.2.	Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk <i>pretreatment</i> tongkol jagung secara fisika ( <i>steam explosion</i> ) .....	E-1
Tabel E.3.	Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk <i>pretreatment</i> tongkol jagung secara kimia (larutan HCl 2 N) .....	E-1



Tabel E.4.	Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer yang dihasilkan oleh <i>Aspergillus niger</i> dengan volume nutrisi 15 ml dengan cara fisika.....	E-2
Tabel E.5.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk <i>untreated</i> tongkol jagung...	E-2
Tabel E.6.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara fisika.....	E-2
Tabel E.7.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara kimia .....	E-3
Tabel E.8.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara kimia.....	E-3
Tabel E.9.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk <i>untreated</i> tongkol jagung.....	E-4
Tabel E.10.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara fisika.....	E-4
Tabel E.11.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara kimia .....	E-5
Tabel E.12.	Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami <i>pretreatment</i> secara kimia.....	E-5
Tabel F.1.	Hubungan antara waktu fermentasi dan jumlah spora untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat .....	F-2
Tabel F.2.	Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode CMC-ase.....	F-3
Tabel F.3.	Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode FP-ase.....	F-4
Tabel F.4.	Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas enzim untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode CMC-ase .....	F-5

- Tabel F.5. Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas enzim untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode FP-ase .....F-5
- Tabel F.6. Hubungan antara waktu fermentasi dengan jumlah spora, konsentrasi glukosa dan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* .....F-6



## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1.	Tanaman jagung.....	II-2
Gambar II.2.	<i>Trichoderma reesei</i> .....	II-5
Gambar II.3.	Daur hidup <i>Trichoderma reesei</i> .....	II-6
Gambar II.4.	Mekanisme pembentukan enzim selulase di dalam sel <i>T.reesei</i> .....	II-8
Gambar II.5.	Mekanisme aktivitas enzim.....	II-9
Gambar II.6.	Mekanisme hidrolisa selulosa.....	II-11
Gambar II.7.	Grafik hubungan antara aktivitas enzim dan konsentrasi substrat....	II-12
Gambar II.8.	Struktur parsial dari molekul selulosa.....	II-13
Gambar II.9.	Struktur molekul <i>carboxymethyl cellulose</i> .....	II-14
Gambar IV.1.	Hubungan antara waktu fermentasi dan jumlah spora untuk penambahan nutrisi sebanyak: (a) 10 mL, (b) 15 mL, dan (c) 20 mL pada fermentasi 5 gram substrat tongkol jagung.....	IV-2
Gambar IV.2.	Hubungan antara waktu fermentasi dan jumlah spora untuk substrat tongkol jagung yang mengalami: (a) <i>untreatment</i> , (b) <i>pretreatment</i> fisika ( <i>steam explosion</i> ), dan (c) <i>pretreatment</i> kimia (larutan HCl 2 N).....	IV-3
Gambar IV.3.	Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk penambahan nutrisi sebanyak: (a) 10 mL, (b) 15 mL, dan (c) 20 mL pada fermentasi 5 gram substrat tongkol jagung.....	IV-5
Gambar IV.4.	Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk substrat tongkol jagung yang mengalami: (a) <i>untreatment</i> , (b) <i>pretreatment</i> fisika ( <i>steam explosion</i> ), dan (c) <i>pretreatment</i> kimia (larutan HCl 2 N).....	IV-7
Gambar IV.5.	Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas enzim untuk penambahan nutrisi sebanyak: (a) 10 mL, (b) 15 mL, dan (c) 20 mL pada fermentasi 5 gram substrat tongkol jagung.....	IV-8
Gambar IV.6.	Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas untuk substrat tongkol jagung yang mengalami: (a) <i>untreatment</i> , (b) <i>pretreatment</i> fisika ( <i>steam explosion</i> ), dan (c) <i>pretreatment</i> kimia (larutan HCl 2 N).....	IV-9
Gambar IV.7.	Perbandingan jumlah spora antara <i>A.niger</i> dan <i>T.reesei</i> .....	IV-11

- Gambar IV.8. Perbandingan Aktivitas Enzim antara *A.niger* dan *T.reesei* .....IV-12
- Gambar C.1. Hubungan antara panjang gelombang (nm) dan absorbansi dari analisa glukosa dengan metode DNS .....C-4
- Gambar C.2. Kurva standar glukosa ( $\lambda= 517$  nm) .....C-5
- Gambar D.1. Kurva pertumbuhan dari *Trichoderma reesei* pada *Potato Dextrose Broth* (PDB).....D-2



## ABSTRACT

Corn is one of the agricultural plant in the world, beside rice and wheat. Generally, only its seed is used as vegetable, sometimes it is also used as a substitute of rice. Other parts of corn, i.e. silk, husk and cob can not be utilized and they are usually discarded as wastes. Corn cob contains lignocellulose, which consist of lignin, cellulose and hemicellulose. Especially for cellulose, it can be fermented into cellulase.

Corn cob was initially cut into small pieces and then dried. Their sizes were then further reduced using grinder and hammer mill into 12/16 mesh. Some of the corn cobs were pretreated physically using a steam explosion and some were pretreated chemically using hydrochloric acid (HCl) solution of 2 N. Five grams of corn cob powder was put into erlenmeyer and then was sterilized. Afterward, the sterile nutrient was added for a certain volume (10 ml, 15 ml, 20 ml). Substance in the erlenmeyer was fermented using *Trichoderma reesei* for 120 hours. Every 24 hours, the enzyme filtrate was taken for analyzing the spore number, the glucose concentration, and the enzyme activity using filter paper-ase method (FP-ase) and carboximethyl cellulose method (CMC-ase).

The result shows that the physically (steam explosion) pretreated corn cob will produce cellulases with higher activity compared to the untreated and chemical (acid hydrolysis) pretreated corn cobs. The addition of nutrient also affected the cellulase activity. The addition of 15 mL nutrient to the corn cob will produce cellulases with higher activity, compared to the 10 mL and 20 mL nutrient addition.

It can be concluded that the highest cellulase activity (0.3611 IU/ml) was found when 15 ml nutrient was added into 5 grams of physical pretreated substrate and the fermentation by *T.reesei* was carried out for 48 hours.

## INTISARI

Jagung merupakan salah satu tanaman pangan dunia yang terpenting selain gandum dan padi. Secara umum, yang banyak dimanfaatkan adalah bagian biji sebagai sayur dan juga sebagai pengganti beras. Bagian lain dari tanaman jagung seperti rambut, kulit dan tongkol biasanya kurang dimanfaatkan dan dibuang sebagai limbah. Tongkol jagung mengandung lignoselulosa, yang terdiri dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Selulosa yang terdapat pada tongkol jagung dapat difermentasikan menjadi enzim selulase.

Tongkol jagung mula-mula dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan. Lalu tongkol jagung dikecilkan lagi ukurannya dengan menggunakan *grinder* dan *hammer mill* sehingga didapatkan serbuk tongkol jagung dengan ukuran 12/16 mesh. Tongkol jagung yang sudah dikecilkan ukurannya ada yang mengalami *pretreatment* dan ada yang tidak mengalami *pretreatment*. Yang mengalami *pretreatment* ada yang direndam dengan menggunakan larutan HCl 2 N selama 24 jam dan ada yang dipanaskan dengan menggunakan *autoclave* selama 1 jam. Lima gram serbuk tongkol jagung dimasukkan dalam erlenmeyer dan di *autoclave* untuk disterilkan. Kemudian, ke dalam erlenmeyer tersebut ditambahkan nutrisi steril (variasi volume nutrisi: 10 ml, 15 ml, 20 ml). Setelah itu, difermentasikan dengan *Trichoderma reesei* selama 120 jam. Setiap selang waktu 24 jam, dilakukan ekstraksi terhadap enzim selulase yang telah dihasilkan untuk menghitung jumlah spora dengan hemasitometer dan uji aktivitas enzim dengan menggunakan metode *filter paper-ase* (FP-ase) dan metode *carboxymethyl cellulose* (CMC-ase).

Dari hasil percobaan, untuk volume nutrisi yang sama *pretreatment* secara fisika (*steam explosion*) menghasilkan jumlah spora *T.reesei* dan aktivitas enzim selulase tertinggi. Selain itu, untuk *pretreatment* yang sama penambahan nutrisi sebanyak 15 ml juga menghasilkan jumlah spora *T.reesei* dan aktivitas enzim selulase tertinggi.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *T.reesei* yang diinokulasikan pada 5 gram tongkol jagung yang telah mengalami *pretreatment* fisika, dapat memproduksi enzim selulase dengan aktivitas enzim yang tertinggi yaitu 0,3611 IU/mL, setelah fermentasi berlangsung selama 48 jam dengan penambahan nutrisi sebanyak 15 mL.