

PRODUKSI SELULASE OLEH *Trichoderma viride* PADA MEDIA TONGKOL JAGUNG DAN FRAKSI SELULOSANYA

Titi C. Sunarti¹ dan Nur Richana²

¹Departemen Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian,
Jl. Tentara Pelajar 12 A Bogor

email :bb_pascapanen@litbangdeptan.go.id, bb_pascapanen@cbn.net.id

Penggunaan enzim pendegradasi selulosa (selulase) untuk hidrolisis biomassa yang mengandung lignoselulosa, merupakan salah satu bagian dari proses produksi bioetanol. Penelitian ini mempelajari pemanfaatan tongkol jagung terdelignifikasi dan fraksi selulosanya sebagai substrat untuk produksi selulase oleh *Trichoderma viride* menggunakan kultivasi media padat dan media Andreotti yang dimodifikasi dari Mandels. Selulase yang dihasilkan dikarakterisasi dan digunakan untuk sakarifikasi selulosa menghasilkan gula sederhana dan selo-oligosakarida. Komposisi gula diamati melalui perubahan derajat polimerisasi dan nilai ekuivalen dekstrosa. Fraksi selo-oligosakarida yang larut air diidentifikasi dengan HPLC. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa fraksi selulosa merupakan bagian terbesar dari tongkol jagung yaitu sekitar 43%. Selulase dari tongkol jagung terdelignifikasi bekerja optimal pada pH 4,8 dan suhu 50°C, aktivitas spesifik FP-ase 2,178 U/mg dan CMC-ase 0,110 U/mg; sedangkan selulase dari fraksi selulosa tongkol jagung bekerja optimal pada pH 5,0 dan suhu 40°C, aktivitas FP-ase 0,190 U/mg dan CMC-ase 0,078 U/mg. Hasil hidrolisis sebagian besar adalah selo-oligosakarida dengan DP 14,8-62,2 atau DE 1,61-6,77. Kromatogram memperlihatkan fraksi terlarutnya sebagian besar adalah glukosa. Selulase dari tongkol jagung terlihat lebih aktif pada selulosa amorf, sedangkan selulase dari fraksi selulosa aktif pada selulosa kristalin.

Kata kunci : selulase, tongkol jagung, fraksi selulosa, *Trichoderma viride*.

ABSTRACT. Titi C. Sunarti and Nur Richana. 2007. Production of cellulases by *Trichoderma viride* from corn-cob and its cellulose fraction media. The use of cellulose degrading enzyme (cellulases) for hydrolysis of ligno-cellulosic biomass is a part of bio-ethanol production process. In this experiment the delignified corn-cob and its cellulose fraction were used as substrates for cellulase production by *Trichoderma viride* using modified Andreotti medium from Mandels and solid-state cultivation system. The crude cellulases were characterized and applied for saccharification of cellulose to produce simple sugars and cello-oligosaccharides (COS's). The compositions of sugars were monitored by measuring the changes in degree of polymerization and dextrose equivalent. The soluble fractions of COS's were identified and determined by HPLC. The results showed that cellulose was the largest fraction of corn-cob flour (43%). The cellulase from delignified corn-cob had an optimum activity at pH 4.8 and temperature 50°C, with specific activities of 2.178 U/mg of FP-ase and 0.110 U/mg of CMC-ase, while for cellulase from cellulose fraction had an optimum activity at pH 5.0 and temperature 40°C with specific activities of 0.190 IU/mg of FP-ase and 0.078 IU/mg of CMC-ase. The main hydrolyzate products were COS's with chains length of DP 14.8-62.2, and DE 1.61-6.77. The chromatograms of COS's soluble fraction mainly contained glucose. The cellulase from delignified corn-cobs was active in amorphous region of cellulose while cellulase from cellulose fraction was more active in crystalline region.

Keywords : cellulase, corn-cobs, cellulose fraction, *Trichoderma viride*.

PENDAHULUAN

Dalam perekonomian nasional subsektor tanaman pangan, jagung adalah kontributor PDB kedua setelah padi. Upaya untuk meningkatkan produksi jagung, baik melalui perluasan areal tanam maupun penggunaan benih unggul telah meningkatkan produksi jagung nasional dari 6,26 juta ton pada tahun 1991 menjadi 10,89 juta ton pada tahun 2003. Walaupun sampai saat ini belum mampu untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri, sehingga masih dibutuhkan impor, namun peluang peningkatan produksi jagung dalam negeri masih luas melalui peningkatan produktivitasnya yang sekarang masih rendah (3,3 ton/ha/tahun) dan pemanfaatan potensi lahan yang masih luas, terutama di luar Pulau Jawa.

Pemanfaatan tanaman jagung untuk keperluan pangan sementara ini hanya mengacu pada biji, sedangkan bagian tumbuhan lainnya seperti batang, tangkai, daun dan tongkol umumnya belum dimanfaatkan secara optimal.

Menurut Koswara (1991), bobot tongkol jagung sekitar 30% dari bobot total, sisanya adalah kulit dan biji jagung. Berdasarkan persentase tersebut potensi ketersediaan tongkol jagung di Indonesia pada tahun 2003 sekitar 3,27 juta ton. Potensi yang besar ini belum dimanfaatkan secara optimal. Tongkol jagung banyak mengandung selulosa. Penelitian Richana *et al.* (2004) menyatakan bahwa tongkol jagung mengandung 44,9% selulosa, 31,8% hemiselulosa (xilan), dan 23,3% lignin, serta zat-zat lainnya. Dengan komposisi kimia seperti ini maka tongkol jagung dapat digunakan sebagai sumber

energi, bahan pakan, dan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme yang mampu memanfaatkan selulosa bagi pertumbuhannya.

Trichoderma viride adalah kapang yang mampu menghasilkan enzim selulolitik yang sangat efisien, terutama enzim yang mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis kristal selulosa (Kosaric *et al.*, 1980). Enzim yang mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis selulosa disebut selulase. Kemampuan selulase ini akan membuka jalan untuk pemanfaatan limbah-limbah pertanian yang mengandung selulosa, terutama dalam upaya untuk meningkatkan nilai tambah dari limbah tersebut. Selulosa dapat dikonversi menjadi produk bernilai ekonomi yang lebih tinggi seperti selo-oligosakarida, glukosa, etanol dan pakan dengan jalan menghidrolisis selulosa dengan bantuan selulase sebagai biokatalisator.

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan tongkol jagung dan fraksi selulosanya sebagai sumber karbon untuk produksi selulase oleh *T. viride*, dan mengkaji kemampuan selulase yang dihasilkan dalam menghidrolisis fraksi selulosa tongkol jagung.

BAHANDAN METODE

A. Bahan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri Departemen Teknologi Industri Pertanian Fateta-IPB dan di Laboratorium Pascapanen, Balai Besar Litbang Pascapanen pada kisaran waktu bulan April 2006 – Agustus 2006. Tongkol jagung yang digunakan adalah Varietas Unggul Nasional Bisma diperoleh dari Kebun Percobaan Cikemeuh, dan kultur *Trichoderma viride* merupakan koleksi dari Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik, Bogor.

B. Metode

1. Persiapan Bahan

a. Delignifikasi.

Tongkol jagung yang digunakan berupa tepung yang lolos saringan 40 mesh. Sebanyak satu kg tepung tongkol diaduk dan direndam dalam 10 l NaOCl 1% selama 5 jam pada suhu kamar. Sampel kemudian dibilas secara berulang dengan akuades, dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C (Richana *et al.*, 2004)

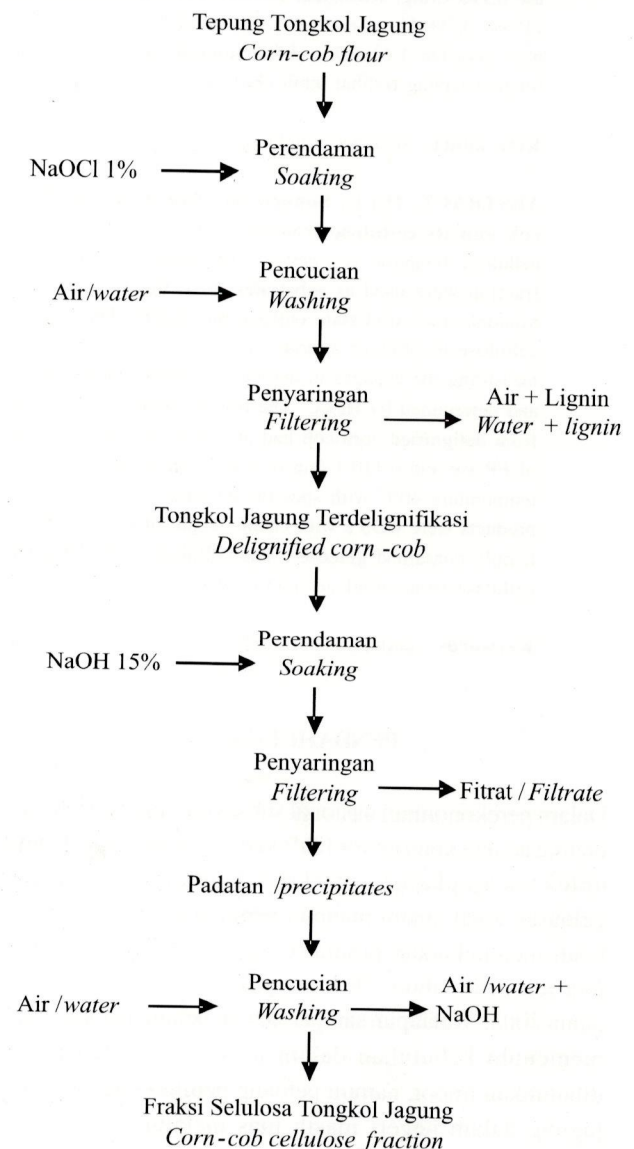
b. Isolasi Selulosa

Sebanyak satu kg tepung tongkol yang telah didelignifikasi direndam dalam 3 l larutan NaOH 15% selama 24 jam pada suhu 28°C, kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain. Filtrat berupa cairan adalah xilan, sedangkan ampas (padatan) adalah fraksi selulosa. Ampas kemudian dicuci berulang-ulang dengan akuades,

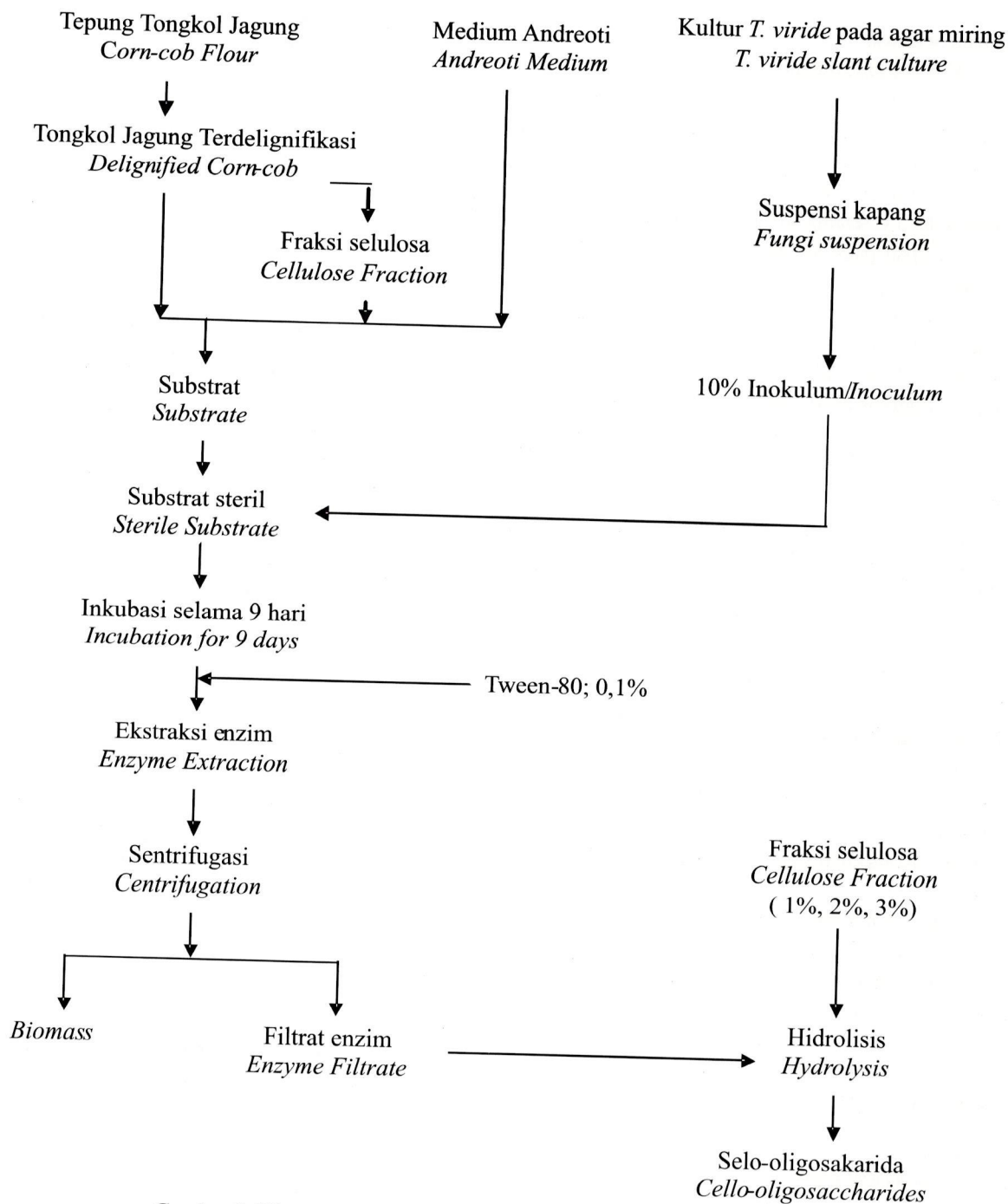
dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C hingga kadar air sekitar 10%. Bagan alir penyiapan fraksi selulosa tongkol jagung disajikan pada Gambar 1. Komposisi kimia bahan dianalisis komponen lignin (AOAC, 1995), NDF, ADF dan hemiselulosa (Van Soest, 1963) dan selulosa.

2. Produksi Selulase

Kultur *T. viride* disegarkan kembali pada PDA dan diinkubasikan pada suhu 28°C selama 7 hari. Media yang digunakan untuk memproduksi selulase adalah media Andreotti (Mandels *et al.*, 1981) yang dimodifikasi dengan penambahan 1% laktosa dan 2% pepton untuk sistem kultivasi media padat. Komposisi media padat (media Andreotti) dalam 1 l terdiri atas 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3 g KH_2PO_4 , 0,3 g urea, 0,3 g CaCl_2 , 0,3 g MgSO_4 , dan satu ml stok mineral, kemudian ditera sampai 1 l dengan penambahan akuades. Komposisi stok mineral adalah 495



Gambar 1. Diagram alir penyiapan fraksi selulosa tongkol jagung
Figure 1. Flowchart of the preparation of corn-cob cellulose fraction



Gambar 2. Diagram alir proses produksi selulase dan hidrolisis selulosa
Figure 2. Flowchart of cellulase production and cellulose hydrolysis

ml akuades digunakan untuk melarutkan 5 ml HCl pekat, 2,5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,83 g ZnCl_2 dan 1 g CoCl_2 .

Sumber selulosa yang digunakan ada dua yaitu S1 (tepung tongkol jagung terdelignifikasi) dan S2 (tepung fraksi selulosa tongkol jagung). Media padat dibuat dengan perbandingan antara selulosa dan media cair adalah 1: 2. Media tersebut disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit.

Spora biakan *T. viride* yang berumur 7 hari disuspensikan dengan 10 ml air suling steril. Suspensi spora sebanyak 10% (v/b) diinokulasikan pada media steril,

kemudian diinkubasikan pada suhu 28°C selama 9 hari. Ekstraksi enzim dilakukan dengan penambahan Tween 80 0,1 %, kemudian dipisahkan dengan filtrasi dan sentrifugasi. Karakterisasi enzim kasar meliputi kondisi pH dan suhu optimum untuk aktivitas *Carboxyl methyl cellulase* (CMC-ase) dan *Filter paper* (FP-ase) (Resee *et al.*, 1950) serta protein terlarut (Bradford, 1976).

Satu unit selulase didefinisikan sebagai jumlah gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa oleh selulase per menit per ml filtrat enzim.

3. Hidrolisis Selulosa

Sebanyak 5 FPU selulase ditambahkan pada 1-3% selulosa yang disuspensikan pada buffer, kemudian diinkubasikan pada kondisi yang sesuai hasil karakterisasi selama 48 jam. Pengamatan dilakukan setiap 6 jam.

Pemisahan fitrat dilakukan dengan sentrifugasi pada 10.000 rpm, suhu 5°C selama 10 menit. Filtrat diinaktifkan dengan pencelupan pada air mendidih selama 5 menit. Untuk memonitor proses hidrolisis selulosa dilakukan penentuan penurunan derajat polimerisasi (DP) selulosa melalui pengujian kadar gula-gula sederhana, sebagai gula pereduksi metode DNS (Miller, 1959) dan total gula metode Fenol-H₂SO₄ (Dubois *et al.*, 1956), dan nilai Ekuivalen Dekstrosa (DE). Diagram alir proses produksi selulase dan hidrolisis selulase disajikan pada Gambar 2.

Fraksi terlarut dari produk hidrolisat dianalisis dengan HPLC dengan kolom karbohidrat Waters 551 dan detektor RI menggunakan fase gerak 80% metanol dengan kecepatan aliran 1 ml/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Bahan Baku

Tongkol jagung yang digunakan telah mengalami pengeringan dan pengecilan ukuran hingga lolos saringan 40 mesh, sehingga dapat memperluas permukaan pada saat delignifikasi. Komposisi kimia tongkol jagung disajikan pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa kandungan serat kasar tongkol jagung yang tinggi. Serat kasar adalah residu dari bahan hasil pertanian setelah diperlakukan asam/alkali mendidih, yang terdiri atas selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Pengecilan ukuran dan delignifikasi menyebabkan terputusnya rantai polimer yang panjang menjadi rantai

Tabel 1. Komposisi kimia tongkol jagung
Table 1. Chemical composition of corn-cobs

Komponen/ Components	Jumlah/ Amount
Air (%) / Moisture(%)	5,39
Abu (% bk) / Ash (% db)	1,62
Lemak (% bk) / Lipid (% db)	3,02
Protein (% bk) / Crude protein (% db)	2,41
Serat Kasar (% bk) / Crude fiber (% db)	38,07
Karbohidrat (% bk) / Carbohydrate (by difference)(% db)	54,73

polimer yang lebih pendek, meningkatkan daerah amorf atau menurunkan derajat kristalinitas dan memisahkan bagian lignin dari selulosa.

Perendaman dalam larutan NaOCl mampu memecah ikatan karbon dan struktur lignin sehingga dapat menurunkan kandungan lignin hingga 19%. Delignifikasi akan meningkatkan efektivitas hidrolisis selulosa, yang akhirnya akan meningkatkan produktivitas mikroorganisme dalam memproduksi selulase. Ekstraksi xilan (sebagai komponen utama hemiselulosa) dilakukan dengan penambahan NaOH 15%, yang mampu mengembangkan intrafibril selulosa sehingga meningkatkan luas permukaan spesifik dan larutnya hemiselulosa dalam NaOH. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Grethlein (1984) yang menyatakan bahwa faktor utama yang menentukan metode perlakuan pendahuluan adalah parameter distribusi ukuran pori dari substrat dalam keadaan basah, dan luas area substrat yang akan berasosiasi dengan selulase.

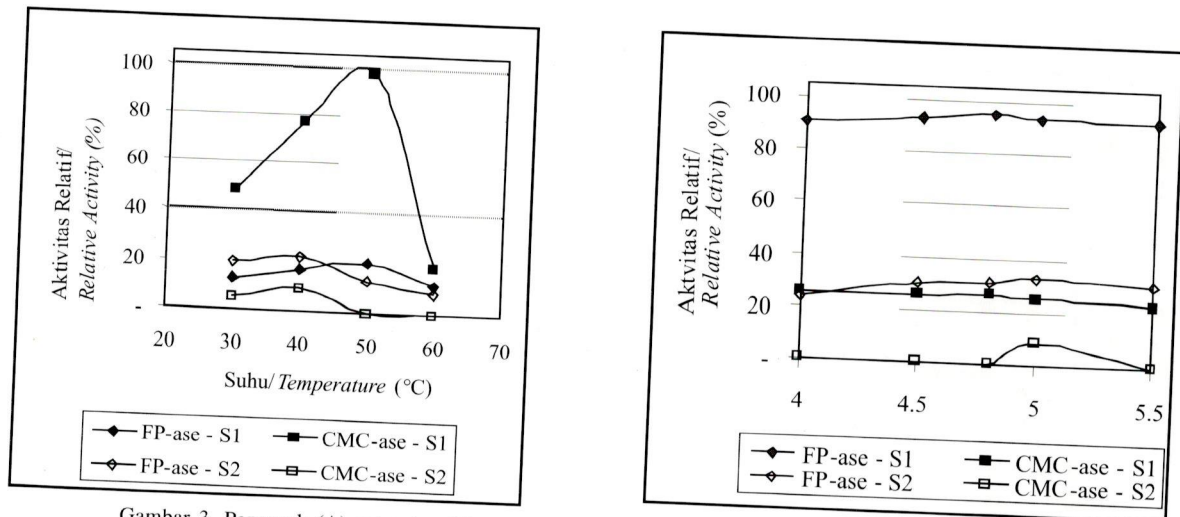
Proses delignifikasi dan penghilangan hemiselulosa secara nyata mengubah komposisi dari produk. Tongkol jagung (100%) setelah didelignifikasi menghasilkan 89,7%.

Tabel 2. Komposisi serat kasar tongkol jagung dan produk turunannya.
Table 2. Composition of Corn-cob Fibers and its derivatives

Produk Products	Rendemen Yield (%)	Komponen Serat (%) Fiber components (%)		
		Selulosa Cellulose	Hemiselulosa Hemicellulose	Lignin Lignin
Tongkol Jagung Corn-cobs	-	65,96	10,82	23,74
Tongkol Jagung (S1) Setelah delignifikasi Delignified corn-cobs	89,7*	44,36	30,38	19,21
Fraksi Selulosa (S2) Cellulose fraction	43,4**	67,68	11,65	-

*) Rendemen tongkol jagung terdelignifikasi dari tongkol jagung /Yield of delignified corncob from corncob

**) Rendemen selulosa dari tongkol jagung / Yield of cellulose fraction from corn-cob



Gambar 3. Pengaruh (A) suhu dan (B) pH terhadap aktivitas relatif selulase
Figure 3. Effects of (A) incubation temperature and (B) pH on the relative activity of cellulases

Selanjutnya dengan proses penghilangan hemiselulosa tersisa fraksi selulosa sebanyak 43,4%. Tabel 2 menyajikan komposisi serat kasar tongkol jagung sebelum dan setelah delignifikasi dan dalam bentuk fraksi selulosa.

B. Karakterisasi Selulase

Filtrat enzim kasar yang dihasilkan mempunyai warna kehijauan yang disebabkan oleh pigmen spora dari *T. viride* yang terdifusi ke dalam ekstrak enzim. Enzim kasar kemudian disaring untuk menghilangkan sel kapang.

Selulase merupakan enzim kompleks yang bekerja secara sinergis satu sama lain, yaitu endoglukanase, selobiohidrolase dan β -glukosidase (Miyamoto, 1997). Substrat yang biasa digunakan untuk penentuan aktivitas selulase secara umum adalah kertas saring sehingga disebut *Filter paperase* (FP-ase), sedangkan aktivitas *Carboxyl methyl cellulase* (CMC-ase) dapat mencerminkan aktivitas endoglukanase yang menyerang selulosa yang telah diregangkan struktur seratnya atau selulosa amorf.

Laju reaksi enzim dipengaruhi oleh pH dan suhu lingkungan. Selain kondisi optimum, sisi aktif enzim juga berkurang akibat menurunnya afinitas dan stabilitas enzim. Gambar 3 dan Tabel 3 menyajikan aktivitas relatif enzim terhadap perubahan suhu dan pH buffer yang digunakan.

Aktivitas maksimal untuk semua enzim berada pada suhu 40-50°C. Aktivitas maksimal FP-ase dan CMC-ase untuk substrat S1 (tongkol jagung terdelignifikasi) pada suhu 50°C, sedangkan untuk substrat fraksi selulosa optimal pada suhu 40°C.

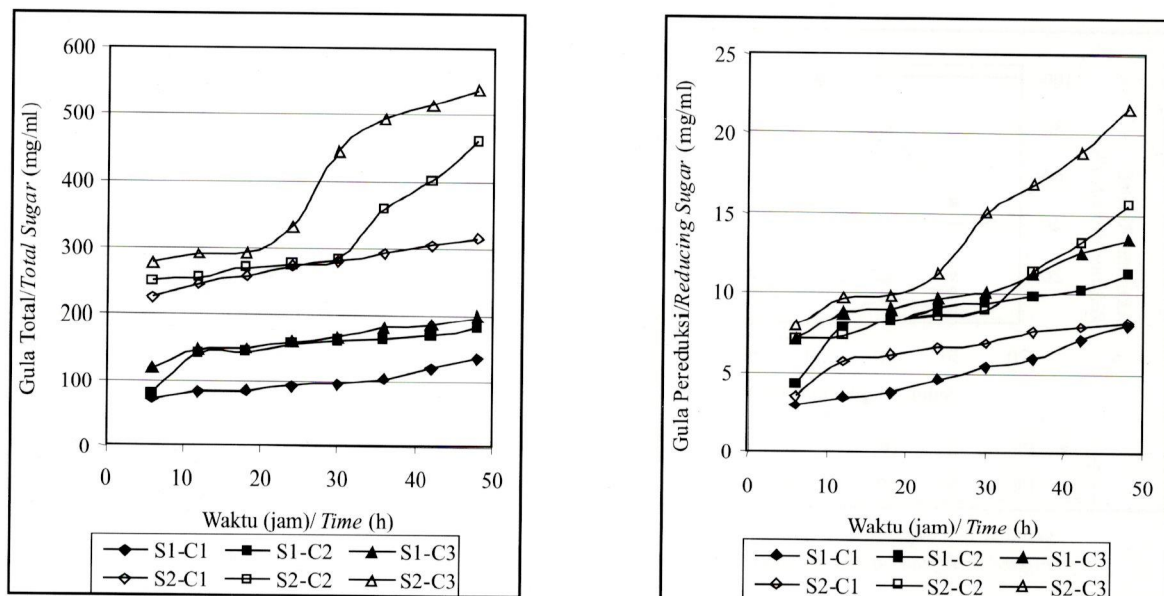
Turunnya aktivitas pada suhu di bawah suhu optimum, diduga karena rendahnya afinitas antara enzim dan substrat atau rendahnya kecepatan awal pemutusan kompleks enzim-substrat, sedangkan turunnya aktivitas di atas suhu optimum akibat menurunnya stabilitas enzim akibat panas.

Jenis mikroorganisme juga mempengaruhi komposisi dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Lutzen *et al.* (1983) telah menguji selulase komersial (*Cellulast*) dari *T. reesei*

Tabel 3. pH dan suhu optimum serta aktivitas selulase
Table 3. Optimum pH and temperature for cellulases and its activity

	S1		S2	
	Fp-ase	CMC-ase	Fp-ase	CMC-ase
pH optimum/ Optimum pH	4,8	4,8	5,0	5,0
Suhu optimum (°C) Optimum temperature	50	50	40	40
Aktivitas Maksimum (U/ml) Maximum activity	0,510	2,614	0,567	0,232
Aktivitas Spesifik (U/mg protein) / Specific activity	2,178	0,190	0,110	0,078

Keterangan/Remarks: S1 (tepung tongkol jagung terdelignifikasi/ Delignified corn-cobs flour)
S2 (tepung fraksi selulosa tongkol jagung / Cellulose fraction flour).



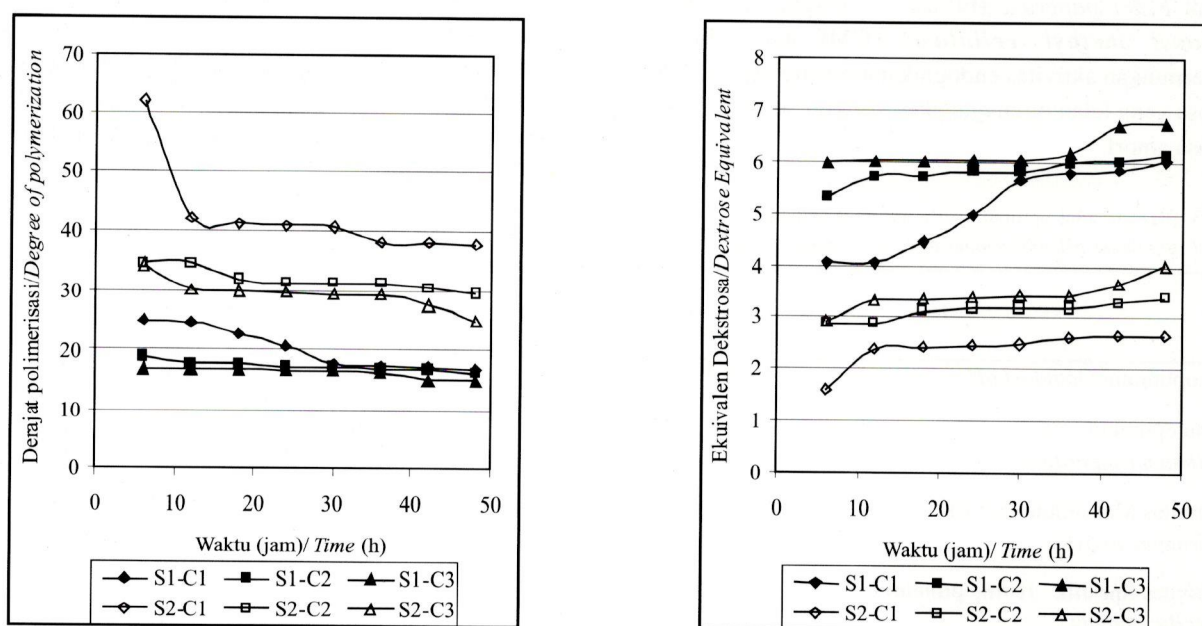
Gambar 4. Perubahan kandungan (A) total gula dan (B) gula pereduksi selama sakarifikasi
Figure 4. Changes of (A) total sugars and (B) reducing sugars contents during saccharification.

pada substrat mikrokristalin selulosa dibandingkan dengan sumber mikroorganisme lain. Kompleks selulase dari *Trichoderma* tidaklah terlalu berbeda dibandingkan dari sumber lain, namun galur *Aspergillus* memproduksi kompleks enzim lebih efektif.

Penggunaan kapang aerobik seperti *Trichoderma* telah lama digunakan dalam aplikasi industri. Hasil penelitian Esterburner *et al.* (1991) *T. reesei* bahkan dapat menghasilkan perolehan enzim yang tinggi hingga mencapai 0,33 g protein per g karbohidrat yang digunakan Xia dan Shen (2004) menggunakan *T. reesei* ZU-02, substrat residu tongkol jagung dan sistem fermentasi

tercelup mampu menghasilkan selulase dengan aktivitas 5,25 IU/ml yang lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian.

Sistem selulase menunjukkan aktivitas kolektif yang lebih tinggi dibandingkan aktivitas enzim individu, yang disebut sebagai fenomena sinergis. Din *et al.* (1994) melaporkan empat bentuk sinergis (i) endo-ekso sinergi antara endoglukanase dan eksoglukanase, (ii) endo-ekso sinergi antara eksoglukanase yang memotong rantai selulosa pada gugus pereduksi dan gugus akhir non-pereduksi, (iii) sinergi antara eksoglukanase dan α -glukosidase yang memotong selobiose (dan selodekstrin) sebagai produk akhir dari dua system enzim sebelumnya,



Gambar 5. Perubahan (A) derajat polimerisasi dan (B) ekuivalen dekstrosa selama sakarifikasi
Figure 5. Changes of (A) degree of polymerization and (B) dextrose equivalent during saccharification.

dan (iv) sinergi intramolekular antara domain katalitik dan CBMs (*Carbohydrate-binding modules*). Aktivitas enzim yang terukur juga merupakan akumulasi dari kerja kapang selama proses fermentasi. Lynd *et al.* (2002) menduga bahwa peningkatan pertumbuhan sel secara nyata meningkatkan pembentukan produk selodekstrin. Bentuk selodekstrin, adalah intermediat kunci yang menjadi metabolit primer yang digunakan oleh sel kapang jika menggunakan selulosa sebagai media tumbuh. Bentuk oligomer yang larut dalam air kemudian akan dihidrolisis secara cepat menjadi selobiosa oleh selodektrinase dan selobiose pada hidrolisis sekunder.

C. Sakarifikasi Selulosa Tongkol Jagung

Sakarifikasi selulosa dilakukan pada kondisi optimum untuk substrat S1 (pH 4,8 dan suhu 50°C) dan S2 (pH 5,0 dan suhu 40°C). Efektivitas penambahan enzim tergantung faktor-faktor aktivitas spesifik, struktur substrat, penghambatan produk dan adanya inaktivasi enzim (Srinivas dan Panda, 1998). Mekanisme kerja enzim dapat dimonitor dengan perubahan komposisi karbohidrat seperti peningkatan kandungan gula pereduksi dan total gula (Gambar 4), yang merefleksikan meningkatnya nilai ekuivalen dekstrosa (DE) dan turunnya derajat polimerisasi (DP) produk seperti tersaji pada Gambar 5.

Kandungan gula pereduksi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat, dan jenis enzim. Selulase dari S2 memotong ikatan β -1,4 glikosidik lebih banyak dibandingkan selulase S1, karena S1 merupakan selulosa dengan kandungan struktur kristalin yang tinggi. Kandungan gula total yang terukur juga cenderung meningkat dengan semakin lamanya waktu hidrolisis. Meskipun fraksi selulosa merupakan material yang tidak larut dalam air, namun setelah hidrolisis menjadi fraksi yang sederhana dan mudah terlarut (Hayashida *et al.*, 1998).

Pembentukan selo-oligosakarida merubah bentuk selulosa tak larut menjadi bentuk gel atau semi-larut air. Gupta dan Lee (2007) menyatakan bahwa selo-oligosakarida dikategorikan menjadi dua fraksi, yaitu COS

dengan DP rendah (DP 2-7) yang terdeteksi dengan HPLC, dan COS dengan DP tinggi yang dapat dideteksi setelah melalui proses hidrolisis sekunder. Hasil penelitian menunjukkan setelah 48 jam waktu hidrolisis, total gula yang terbentuk berkisar 72,1-537,6 mg/ml, dan tertinggi dihasilkan dari hidrolisis 3% fraksi selulosa oleh enzim S2. Peningkatan konsentrasi substrat dan konsentrasi enzim diharapkan dapat meningkatkan fraksi COS yang larut. Xia dan Shen (2004) bahkan dapat menghidrolisis 90,4% selulosanya dalam substrat berkonsentrasi 10% (b/v) dengan dosis 20 IU/g substrat.

Derajat polimerisasi atau DP menyatakan jumlah unit monomer dari molekul. Gambar 5(A) memperlihatkan perubahan nilai DP selama hidrolisis selulosa oleh selulase kasar, menghasilkan produk dengan DP 14,8-62. Karena selo-oligosakarida adalah turunan selulosa dengan DP 5-37, maka oligosakarida dihasilkan dari hasil hidrolisis S1 sedangkan produk S2 mempunyai DP 25,0-62,2.

Perubahan nilai DE juga memperlihatkan pembentukan gula-gula sederhana yang semakin meningkat (Gambar 5(B)), namun dengan nilai yang masih rendah seperti terlihat dari nilai DE untuk seluruh produk hidrolisat selulosa berkisar DE 1,6-6,8. Tidak semua selulosa yang dihidrolisis berubah menjadi gula pereduksi dalam bentuk monomer, tetapi masih dalam bentuk selo-oligosakarida. Komposisi gula dari fraksi terlarut produk hidrolisat untuk konsentrasi selulosa 1% untuk semua selulase telah dianalisis dengan HPLC, seperti tersaji pada Tabel 4.

Oligosakarida yang merupakan produk utama dari hidrolisis selulosa tidak terdeteksi dari kromatogram. Hal ini karena sebagian besar selo-oligosakarida yang dihasilkan merupakan produk hidrolisis yang tidak larut dalam air (Hayashida *et al.*, 1998; Gupta dan Lee, 2007). Dan jumlah fraksi yang terlarut juga hanya sekitar 4% seperti terlihat pada Tabel 4.

Kanda *et al.* (1989) menguji spesifitas substrat ekso- dan endo- selulasenya. Terlihat bahwa endo-selulase mampu menyerang ikatan intramolekular dari α -glukan manapun, sedangkan ekso-selulase memerlukan adanya residu selobiosil untuk memutus ikatan α -(1 $\rightarrow$ 3) D-glukosil residu.

Keragaman substrat karena fraksi selulosa tongkol jagung masih mengandung hemiselulosa dalam jumlah tinggi, akan menginduksi pembentukan enzim hemiselulase. Karena itu beberapa produk lain dari hemiselulosa seperti xilosa (monomer dari xilan, unit dari α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-xilopiranosil) dan arabinosa yang merupakan rantai samping unit xilosil yang terikat pada posisi 3 juga ikut terhidrolisis.

Tabel 4. Komposisi gula dari fraksi terlarut produk sakarifikasi.
Table 4. Sugar composition of soluble fraction of saccharification products.

Komponen/ Components	Konsentrasi (%) / Concentration (%)	
	S1-C1	S2-C1
Xilosa / Xylose	0,08	0,84
Glukosa / Glucose	4,04	2,91
Cellobiose / Cellobiose	0,12	0,37
Arabinosa / Arabinose	0	0,39
Total	4,24	4,51

KESIMPULAN

1. Tongkol jagung mempunyai kandungan fraksi selulosa yang cukup besar yaitu sekitar 43% sehingga potensial dapat dimanfaatkan sebagai substrat bagi pertumbuhan kapang selulolitik dan sebagai substrat untuk memproduksi selo-oligosakarida.
2. Selulase dari *Trichoderma viride* pada media tongkol jagung yang terdelignifikasi lebih aktif menghidrolisis selulosa dalam bentuk amorf, sedangkan selulase dari *Trichoderma viride* pada media fraksi selulosa tongkol jagung lebih aktif pada selulosa kristalin. Ketidakmurnian substrat juga menginduksi pembentukan enzim lain diantaranya hemiselulase.
3. Selulase dari *Trichoderma viride* pada media tongkol jagung terdelignifikasi maupun fraksi selulosanya mampu menghidrolisis 1-3% selulosa menghasilkan selo-oligosakarida yang tidak larut air dalam jumlah besar, dan selobiosa dan glukosa yang larut air.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1995. Official Methods Analysis the Association of Official Analytical Chemist. AOAC, Inc. Arlington, Virginia.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Din, N., H.G. Durmude, N.R. Gilkes, R.C. Miller, R.A.J. Warren, and D.G. Killburn. 1994. C₂-C₆ revisited: intramolecular synergism in a cellulose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:1363-1387.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28(3): 350-356.
- Esterburner, H., W. Steiner, I. Labudova, A. Hermano, and M. Hayn. 1991. Production of *Trichoderma* cellulose in laboratory and pilot scale. *Biores. Technol.* 3651-3665.
- Grethlein, H.R. 1984. The Effect of pore size distribution on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulosic substrate. *Bio/ Technol.* 2:155-160.
- Gupta, R. and Y.Y. Lee. 2007. Cello-Oligosaccharides : A Reaction Intermediate to Understand the Cellulase Reaction Mechanism. *Di dalam Proceeding of AIChE Annual Meeting, Salt Lake City, USA.* 4-9 November 2007.
- Hayashida, S., K. Mo and A. Hosoda. 1998. Production and characteristics of avicel-digesting and non-avicel digesting cellobiohydrolases from *aspergillus ficum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (6) : 1523-1529.
- Kanda, T., H. Yatomi, S.Makishima, Y Amano, and K. Nisizawa. 1989. Substrate specificity of exo- and endo-type cellulases in hydrolysis of α -(1-3) and α -(1-4) mixed D-glucans. *J. Biochem Vol* 105(1): 127-132.
- Kosaric, N., D.C.M. Ng, I. Russel and G.S Stewart. 1980. Ethanol Production by Fermentation : An Alternative Liquid Fuel. *Di dalam D. Perlman (ed.). Advance in Microbiology.* Academic Press, New York.
- Koswara, J. 1991. Budidaya Jagung. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lynd, L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl, and I.S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulase Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 66(3): 506-577.
- Lutzen, N.W., M.H. Nielsen, and K.M. Oxenboell. 1983. Cellulases and their application in the conversion of lignocellulose to fermentable sugars. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B300:* 283-291.
- Mandels, M., J.E. Medeiros, R.E. Andreotti, and F.H. Bisset. 1981. Enzymatic hydrolysis of cellulose: evaluation of cellulase culture filtrates under use condition. *Biotechnol. Bioeng.* 23: 2009-2026.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- Miyamoto, K. 1997. Renewable Biological System For Alternative Sustainable Senergy Production. *FAO Agricultural Services Bulletin* 128.
- Reese, E.T., R.G.H., Siu and H.S. Levinson. 1950. The Biological degradation of soluble celluloses derivative and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *J. Bacteriol.* 59: 485-486.
- Richana, N., P. Lestina, dan T. T. Irawadi. 2004. Karakterisasi lignoselulosa dari limbah tanaman pangan dan pemanfaatannya untuk pertumbuhan bakteri RXA III-5 penghasil Xilanase. *J. Penel. Pert. Tan. Pangan* 23(3) : 171-176.
- Srinivas, R and T. Panda. 1998. pH and thermal stability studies of carboxymethyl cellulase from intergeneric fusants of *Trichoderma reesei/Saccharomyces cerevisiae*. *J. of Industrial Microbiol. Biotechnol.* 21 : 178-183.
- Van Soest, P.J. 1963. Use of Detergent in Analysis of Fibrous Feeds III. *Di dalam M.L. Dreher (ed.). The Handbook of Dietary Fiber.* New York, USA.
- Xia, L. and X Shen. 2004. High-yield cellulase production by *Trichoderma reesei* ZU-02 on corncob residue. *Process Biochem.* 39(11): 1363-1367.

UCAPAN TERIMA KASIH

Publikasi ini merupakan bagian dari penelitian 'Bioethanol production from corn-cobs by two successive fermentations', yang terselenggara atas dana yang disediakan oleh Osaka Gas Foundation of International Cultural Exchange (OGFICE) Research Grant FY 2005/2006 melalui Pusat Penelitian Lingkungan Hidup, Institut Pertanian Bogor. Terima kasih yang tak terhingga juga kami sampaikan untuk Eka Tridasma Resita, STP atas bantuan teknis di laboratorium.